

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

TOM 7
№ 3
2022



ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 7
№ 3
2022

Главный редактор

Колесников С.И., академик РАН (РФ, Иркутск – Москва)

Зам. главного редактора

Рычкова Л.В., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)

Сорокиных В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Щуко А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Ответственный секретарь

Жовкля Н.А. (РФ, Иркутск)

Редакционная коллегия

Балахонов С.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Григорьев Е.Г., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)

Колесникова Л.И., академик РАН (РФ, Иркутск)

Мадаева И.М., д.м.н. (РФ, Иркутск)

Малов И.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Муамар Аль-Джефут, доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)

Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания, Оксфорд)

Нямдаваа П., академик Монгольской академии медицинских наук (Монголия, Улан-Батор)

Савилов Е.Д., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио)

Шпрах В.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Юрлова Т.Н., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Янагихара Р., доктор наук, профессор (США, Гавайи)

Редакционный совет

Агаджанян В.В., д.м.н., профессор (РФ, Ленинск-Кузнецкий); Айзман Р.И., д.б.н. (РФ, Новосибирск); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белов А.М., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Белокриницкая Т.Е., д.м.н., профессор (РФ, Чита); Бохан Н.А., академик РАН (РФ, Томск); Данчинова Г.А., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дзятковская Е.Н., д.б.н., профессор (РФ, Москва); Дубровина В.И., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дыгай А.М., академик РАН (РФ, Томск); Колосов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Кожевников В.В., д.м.н., профессор (РФ, Улан-Удэ); Кривошапкин А.Л., член-корр. РАН (РФ, Москва); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (Япония, Чита); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Манчук В.Т., член-корр. РАН (РФ, Красноярск); Огарков О.Б., д.м.н. (РФ, Иркутск); Осипова Е.В., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Петрова А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Плеханов А.Н., д.м.н. (РФ, Улан-Удэ); Погодина А.В., д.м.н. (РФ, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Прохоренко В.М., д.м.н., профессор (РФ, Новосибирск); Савченков М.Ф., академик РАН (РФ, Иркутск); Салаяев Р.К., член корр. РАН (РФ, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио); Уварова Е.В., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Хохлов А.Л., член-корр. РАН (РФ, Ярославль); Эпштейн О.И., член-корр. РАН (РФ, Москва); Янг Йонхонг, иностранный член РАН (Китай, Пекин).

Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведённых фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений, а также за то, что в материалах не содержится данных, не подлежащих открытой публикации.

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

Адрес издателя и редакции: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Тел.: (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru>

E-mail: journalirk@gmail.com

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР). Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС 77–69383 от 06 апреля 2017 г.

До апреля 2017 г. журнал имел название «Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук» (Бюллетень ВСНЦ СО РАМН). Основан в 1993 году.

Соучредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Фёдорова» Минздрава России) (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А).

Журнал включён в Реферативный журнал и базу данных ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory». Журнал индексируется в таких базах данных, как РИНЦ, Scopus, DOAJ и др.

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук».

Подписной индекс 243447. Свободная цена.

ISSN 2541–9420 (Print)

ISSN 2587–9596 (Online)

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 7
N 3
2022

Chief Editor

Kolesnikov S.I., Member of RAS (Russia, Irkutsk – Moscow)

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Sorokovikov V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Shchuko A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Zhovklaya N.A. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Balakhonov S.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Grigoryev E.G., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Kolesnikova L.I., cof RAS (Russia, Irkutsk)

Madaeva I.M., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk)

Malov I.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Moamar Al-Jefout, MD, Professor (Jordan, Karak)

Nikitenko L.L., Dr. Sc. (Biol.) (UK, Oxford)

Nyamdavaa P., Member of Mongolian Academy of Sciences (Mongolia, Ulaanbaatar)

Savilov E.D., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Takakura K., MD, Professor (Japan, Tokyo)

Shprakh V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Iureva T.N., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Yanagihara R., MD, Professor (USA, Hawaii)

Editorial Council

Agadzhanian V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Leninsk-Kuznetskiy); Aizman R.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Novosibirsk); Atshabar B.B., Dr. Sc. (Med.), Professor (Kazakhstan, Almaty); Belov A.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Chita); Bokhan N.A., Member of RAS (Russia, Tomsk); Danchinova G.A., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dzyatkovskaya E.N., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Moscow); Dubrovina V.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dygai A.M., Member of RAS (Russia, Tomsk); Kolosov V.P., Member of RAS (Russia, Blagoveshchensk); Konstantinov Yu.M., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Kozhevnikov V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Ulan-Ude); Krivoshepin A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Mazutsava T., MD, Professor (Japan, Chiba); Makarov L.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Malyshev V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (Russia, Krasnoyarsk); Ogarkov O.B., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Osipova E.V., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Petrova A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Plekhanov A.N., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Ulan-Ude); Pogodina A.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Protopopova N.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Prokhorenko V.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Novosibirsk); Savchenkov M.F., Member of RAS (Russia, Irkutsk); Salyajev R.K., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk); Suturina L.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Sergelen O., Dr. Sc. (Med.), Professor (Mongolia, Ulaanbaatar); Takakura K., MD, Professor (Japan, Tokyo); Uvarova E.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Khokhlov A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Yaroslavl); Epshtein O.I., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Yang Yonghong, Foreign Member of the RAS (China, Beijing).

The authors of the published articles account for choice and accuracy of the presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

Authors and the Editorial Board's opinions may not coincide.

Address of publisher and editorial board: SC FHHRP. 16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

Tel. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru> E-mail: journalirk@gmail.com

Acta Biomedica Scientifica is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media (ROSKOMNADZOR). Certificate of Mass Media Registration – PI No FS 77-69383 from 06 April 2017.

Previous title changed after April 2017 – “Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences”.

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

Co-founders – Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003), Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (1 Bortsov Revolyutsii str., Irkutsk, Russia, 664003), S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (59A Beskudnikovskiy blvd, Moscow, 127486).

Acta Biomedica Scientifica is in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about our journal is published in Ulrich's Periodicals Directory. The journal is indexed in Russian Science Citation Index (Russian platform), Scopus, DOAJ, etc.

Acta Biomedica Scientifica is included in «List of Russian reviewed scientific periodicals where main scientific results of dissertations for a degree of Candidate and Doctor of Science should be published».

Subscription index is 24347 in Russia. Open price.

ISSN (Print) 2541-9420

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 3 (2022)

**Рычкова
Любовь Владимировна**

**д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН**

Уважаемые читатели!
Вашему вниманию представляется очередной номер нашего журнала.

Его открывает передовая статья из Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск). О.Н. Бердиной и соавт. представлены результаты пилотного исследования, в котором авторами проведена сравнительная оценка уровней бета-амилоида 42 в плазме крови подростков в зависимости от наличия или отсутствия синдрома обструктивного апноэ/гипопноэ сна (СОАС) и ожирения. Несомненно, изучение ранних маркеров когнитивных нарушений и нейродегенеративных заболеваний при СОАС является важной задачей современной медицины.

В первой части журнала опубликованы статьи в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания». Интересна статья Е.А. Зацаринной, Н.В. Колупаевой и Л.В. Колупаевой об антибиотикоустойчивости энтеробактерий, выделенных из поверхностных водных объектов разных климатических зон. Н.М. Кашеварова и соавт. из Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (Пермь) в своей работе раскрыли роль алармона (p)rrpGrr в регуляции образования индола клетками *Escherichia coli* в зависимости от содержания глюкозы в питательной среде.

Несомненно, вызывает интерес статья авторов из г. Санкт-Петербурга (Пономаревой Е.С. и соавт.), в которой при проведении NGS-секвенирования было изучено в общей сложности 223 768 последовательностей гена 16S рРНК микробиома рубца северных оленей. Результаты реконструкции и прогнозирования функционального содержания метабенома с применением биоинформатического анализа PICRUSt2 позволили авторам выявить 328 потенциальных метаболических путей. Очень актуальна работа из Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (Иркутск) Р.К. Салая и Н.И. Рекославской, в которой авторы изучали действие «ранних» белков E2, E6 и E7 папилломавируса высококанцерогенного типа ВПЧ16 на раковые клетки HeLa, вызывающие опухолевые разрастания в легких у мышей. Исследование перспективно для разработки пероральной терапевтической вакцины на основе растительной экспрессионной системы (томаты) с антигенным белком ВПЧ16 E2 против рака лёгких, рака шейки матки и других типов рака.

Ряд статей посвящён вопросам демографии. В условиях пандемии актуализирован вопрос о сохранении и развитии здоровья молодых поколений, которое осваивает новые практики здоровьесбережения. Н.Л. Антонова и А.П. Мальцева из ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» (Екатеринбург) на основе опросных данных провели анализ практик здоровьесбережения молодёжи крупного промышленного города.

Актуальным направлением сейчас являются поиск средств, повышающих эффективность вакцины *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, и снижение вызванных ею побочных патологических проявлений. Так, группа учёных из Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора (Дубровина В.И. и соавт.) в своей работе оценила действие селенорганического соединения 974zh на структурную перестройку органов экспериментальных животных в динамике вакцинального процесса, вызванного *Y. pestis* EV.

Е.Н. Щуровой и соавт. из ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (Курган) был проведён анализ температурно-болевого чувствительности у пациентов с последствиями травмы шейного отдела спинного мозга. Авторами установлено, что инструментально регистрируемый уровень нарушения температурно-болевого чувствительности не соответствует клинически определяемой локализации сенсорных нарушений.

Исследования в онкологии по-прежнему не теряют своей актуальности. А.Н. Сумин и соавт. из ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (Кемерово) в своей работе изучили изменения показателей диастолической функции левого желудочка на фоне терапии антрациклинами у больных раком молочной железы. Авторы отмечают, что у женщин, прошедших курс противоопухолевого лечения по поводу рака молочной железы с применением антрациклинов, установлено ухудшение диастолической функции левого желудочка по сравнению с контрольной группой. А.С. Стоюхина и Ю.Н. Юсеф из ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней» (Москва) в своём исследовании выявили диагностические признаки «малых» метастазов в хориоидею. Всем пациентам с отягощённым онкологическим анамнезом, помимо тщательного осмотра глазного дна обоих глаз, авторы рекомендуют проводить исследование глазного дна в режимах MultiColor и коротковолновой аутофлуоресценции с последующим проведением ОКТ в зонах наличия изменений.

Ряд работ посвящён здоровью детей и подростков. На основе анализа клинико-лабораторных и молекулярно-генетических параметров авторы из ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (Бочкарева Л.С. и соавт.) выявили прогностические критерии тяжёлого острого вирусного бронхита у детей. На основании комплексной оценки установленных факторов риска авторами разработан метод, позволяющий рассчитать вероятность развития тяжёлого острого вирусного бронхита. Авторы из ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования» (Москва) (Догодкина С.Б. и соавт.) в своей работе проводили оценку характера вегетативной, сердечно-сосудистой и гормональной реактивности при когнитивной нагрузке разного вида у детей школьного возраста.

Выражаем благодарность всем рецензентам нового номера и ждём от авторов новых интересных статей!

Для цитирования: Рычкова Л.В. Предисловие заместителя главного редактора к № 3 (2022). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.1

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 3, 2022

Lyubov V. Rychkova

**Dr. Sc. (Med.), Professor,
Corresponding Member of RAS**

Dear readers!

We present to your attention the next issue of our journal.

It opens with an editorial from the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk). O.N. Berdina et al. present the results of a pilot study in which the authors carried out a comparative assessment of the levels of beta-amyloid 42 in the blood plasma of adolescents, depending on the presence or absence of obstructive sleep apnea (OSA) syndrome and obesity. Undoubtedly, the study of early markers of cognitive impairment and neurodegenerative diseases in OSA is an important task of modern medicine.

In the first part of the journal, articles were published within the framework of the Second All-Russian Scientific Conference "Mechanisms of adaptation of microorganisms to various environmental conditions". An interesting article on the antibiotic resistance of enterobacteria isolated from surface water bodies of different climatic zones is presented by E.A. Zatsarinnaya, N.V. Kolupaeva and L.V. Kolupaeva. N.M. Kashevarova et al. from the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Perm) in their work revealed the role of (p)ppGpp alarmone in the regulation of indole formation by *Escherichia coli* cells depending on the glucose content in the nutrient medium.

Undoubtedly, the article of the authors from Saint Petersburg (Ponomareva E.S. et al.) is of interest, in which a total of 223 768 sequences of the 16S gene rRNA of the reindeer's rumen microbiome were studied during NGS sequencing. The results of the reconstruction and prediction of the functional content of the metagenome using the PICRUSt2 bioinformatic analysis allowed the authors to identify 328 potential metabolic pathways. A very relevant work of R.K. Salyaev and N.I. Rekoslavskaya from Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (Irkutsk), in which the authors studied the effect of the "early" proteins E2, E6 and E7 of papillomavirus of high-risk carcinogenic type HPV16 on HeLa cells that cause tumor growths in the lungs of mice. The study is promising for the development of an oral therapeutic vaccine based on a plant expression system (tomatoes) with the HPV16 E2 antigenic protein against lung cancer, cervical cancer and other types of cancer.

A number of articles are devoted to demographic issues. In the context of the pandemic, the issue of maintaining and developing health by the younger generation, which is mastering new health-saving practices, has been updated. N.L. Antonova and A.P. Maltseva from the Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin (Yekaterinburg), based on survey data, conducted an analysis of the health-saving practices of young people in a large industrial city.

The actual direction now is the search for agents that increase the effectiveness of the *Yersinia pestis* EV NIEG vaccine and reduce the side pathological manifestations caused by it. Thus, a group of scientists from the Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (Dubrovina V.I. et al.) in their work evaluated the effect of the organoselenium compound 974zh on the structural rearrangement of the organs of experimental animals in the dynamics of the vaccine process caused by *Y. pestis* EV.

E.N. Shchurova et al. from the National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics (Kurgan) carried out an analysis of temperature and pain sensitivity in patients with the consequences of trauma to the cer-

vical spinal cord. The authors found that the instrumentally registered level of temperature-pain sensitivity disorder does not correspond to the clinically determined localization of sensory disorders.

Research in oncology still does not lose its relevance. A.N. Sumin et al. from the Kuzbass Cardiology Center (Kemerovo) in their work studied changes in the indicators of diastolic function of the left ventricle during anthracycline therapy in patients with breast cancer. The authors note that in women who underwent antitumor treatment for breast cancer with the use of anthracyclines, a deterioration in diastolic function of the left ventricle was found compared to the control group. A.S. Stoyukhina and Yu.N. Yusef from the Research Institute of Eye Diseases (Moscow) in their study identified diagnostic signs of "small" choroidal metastases. For all patients with a burdened oncological history, in addition to a thorough examination of the fundus of both eyes, the authors recommend conducting an examination of the fundus in the MultiColor and short-wave autofluorescence modes, followed by OCT in the zones of changes.

A number of works are devoted to the health of children and adolescents. Based on the analysis of clinical, laboratory and molecular genetic parameters, the authors from the Chita State Medical Academy (Bochkareva L.S. et al.) identified prognostic criteria for severe acute viral bronchiolitis in children. Based on a comprehensive assessment of established risk factors, the authors developed a method to calculate the likelihood of developing severe acute viral bronchiolitis. The authors from the Institute of Developmental Physiology of the Russian Academy of Education (Moscow) (Dogadkina S.B. et al.) in their work assessed the nature of vegetative, cardiovascular and hormonal reactivity in various types of cognitive load in school-age children.

We express our gratitude to all the reviewers of the new issue and look forward to new interesting articles from the authors!

For citation: Rychkova L.V. Deputy editor-in-chief's preface to Issue 3, 2022. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.1

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие заместителя главного редактора к № 3 (2022). Рычкова Л.В.

5

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Синдром обструктивного апноэ сна и бета-амилоид 42 у подростков: результаты пилотного исследования. Бердина О.Н., Мадаева И.М., Большакова С.Е., Шолохов Л.Ф., Рычкова Л.В.

12

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Роль акушерского pessaria и микронизированного прогестерона в снижении частоты ранних преждевременных родов у беременных с многоплодием. Белинина А.А., Баринов С.В., Кадцина Т.В., Кольядо О.В., Молчанова И.В.

22

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Сравнение состава и метаболического потенциала микробиома рубца северных оленей в Ямало-Ненецком и Ненецком автономных округах Российской Арктики. Пономарева Е.С., Йылдырым Е.А., Филиппова В.А., Ильина Л.А., Дубровин А.В., Липтев Г.Ю., Калиткина К.А., Дунашев Т.П., Тюрина Д.Г.

30

ГИГИЕНА

Влияние анавидина на *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D в зависимости от источника углерода в среде культивирования. Маркова Ю.А., Беловежец Л.А., Мориц А.С.

38

ДЕМОГРАФИЯ

Глобальные социальные трансформации в контексте демографических изменений и урбанизации. Смакотина Н.Л.

47

Здоровьесберегающие практики молодёжи в условиях пандемии: пилотное исследование. Антонова Н.Л., Мальцева А.П.

57

Просоциальные практики трактовки смертности: расово-антропологический и социокультурный аспекты. Левченко И.Е., Полюшкевич О.А.

64

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Анализ чувствительности к антибиотикам клинических изолятов коагулазонегативных стафилококков. Кононова Л.И., Лемкина Л.М., Коробов В.П.

75

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Deputy editor-in-chief's preface to Issue 3, 2022. Rychkova L.V.

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

Obstructive sleep apnea and amyloid- β 42 in adolescents: The results of a pilot study. Berdina O.N., Madaeva I.M., Bolshakova S.E., Sholokhov L.F., Rychkova L.V.

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

The role of obstetric pessary and micronized progesterone in early preterm birth prevention in patients with multiple pregnancy. Belinina A.A., Barinov S.V., Kadtsyna T.V., Kolyado O.V., Molchanova I.V.

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Comparison of the composition and metabolic potential of the reindeer's rumen microbiome in the Yamal-Nenets and Nenets Autonomous district of the Russian Arctic. Ponomareva E.S., Yildirim E.A., Filippova V.A., Iliina L.A., Dubrowin A.V., Liptev G.Yu., Kalitkina K.A., Dunyashev T.P., Tiurina D.G.

HYGIENE

The effect of Anavidin on *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D depending on the carbon source in the cultivation medium. Markova Yu.A., Belovezhets L.A., Morits A.S.

DEMOGRAPHY

Global social transformations in the context of demographic change and urbanization. Smakotina N.L.

Health-saving practices of young people under pandemic conditions: A pilot study. Antonova N.L., Maltseva A.P.

Prosocial practices of mortality interpretation: racial-anthropological and sociocultural aspects. Levchenko I.E., Polyushkevich O.A.

INFECTIOUS DISEASES

Antibiotic sensitivity analysis of clinical coagulase-negative staphylococci. Kononova L.I., Lemkina L.M., Korobov V.P.

- Выявление причин эпизоотической вспышки, вызвавшей массовую гибель тупиков-носорогов на побережье Японского моря в южной части Приморского края (июль 2021 г.). Дунаева М.Н., Панкратов Д.В., Суровый А.Л., Цыганков В.Ю., Беланов М.А., Фоменко П.В., Щелканов М.Ю. 90
- Reconstruction of epizootic outbreak provoked the large-scale death of Rhinoceros auklet on the coast of the Japan Sea in the Southern part of Primorsky Krai (July, 2021). Dunaeva M.N., Pankratov D.V., Surovyi A.L., Tsygankov V.Yu., Belanov M.A., Fomenko P.V., Shchelkanov M.Yu.
- Прогнозирование тяжести вирусного бронхиолита у детей. Бочкарева Л.С., Мироманова Н.А., Мироманов А.М. 98
- Predicting the severity of viral bronchiolitis in children. Bockhareva L.S., Miromanova N.A., Miromanov A.M.
- Структурная перестройка органов белых мышей, вакцинированных *Yersinia pestis* EV в сочетании с селеноорганическим соединением 974zh. Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Юрьева О.В., Витязева С.А., Пятидесятникова А.Б., Иванова Т.А., Корытов К.М., Мухтургин Г.Б., Балахонов С.В. 110
- Structural rearrangement of organs of white mice vaccinated with *Yersinia pestis* EV in combination with organoselenium compound 974zh. Dubrovina V.I., Starovoitova T.P., Yurieva O.V., Vityazeva S.A., Pyatidesyatnikova A.B., Ivanova T.A., Korytov K.M., Mukhturgin G.B., Balakhonov S.V.

КАРДИОЛОГИЯ

- Оценка диастолической дисфункции левого желудочка при лечении больных раком молочной железы антрациклинами. Сумин А.Н., Щеглова А.В., Слепынина Ю.С., Иванова А.В., Поликутина О.М. 121
- Assessment of left ventricular diastolic dysfunction following anthracycline-based chemotherapy in breast cancer patients. Sumin A.N., Shcheglova A.V., Slepynina Yu.S., Ivanova A.V., Polikutina O.M.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

- Антибактериальная и антибиоплёночная активность полифункциональных производных бензимидазола. Зайцева Ю.В., Егоров Д.О., Бегунов Р.С., Хлопотинин А.И. 134
- Antibacterial and antibiofilm activity of polyfunctional benzimidazole derivatives. Zaitseva Yu.V., Egorov D.O., Begunov R.S., Khlopotinin A.I.
- Антибиотикоустойчивость энтеробактерий, выделенных из поверхностных водных объектов разных природно-климатических зон. Зацаринная Е.А., Колупаева Н.В., Колупаева Л.В. 142
- Antibiotic resistance of enterobacteria isolated from freshwater bodies of different climatic zones. Zatsarinna E.A., Kolupaeva N.V., Kolupaeva L.V.
- Регуляторный эффект полиаминов и индола на экспрессию генов адаптации к стрессу у *Escherichia coli*. Хаова Е.А., Кашеварова Н.М., Ткаченко А.Г. 150
- Regulatory effect of polyamines and indole on expression of stress adaptation genes in *Escherichia coli*. Khaova E.A., Kashevarova N.M., Tkachenko A.G.
- Роль алармона (p)ppGpp в регуляции образования индола клетками *Escherichia coli* в зависимости от содержания глюкозы. Кашеварова Н.М., Ахова А.В., Хаова Е.А., Ткаченко А.Г. 162
- Role of alarmone (p)ppGpp in the regulation of indole formation depending on glucose content in *Escherichia coli*. Kashevarova N.M., Akhova A.V., Khaova E.A., Tkachenko A.G.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

- Вариабельность сердечного ритма и уровень кортизола у детей школьного возраста при разной когнитивной нагрузке. Догадкина С.Б., Ермакова И.В., Адамовская О.Н., Кмит Г.В., Рублева Л.В., Шаранов А.Н. 169
- Heart rate variability and cortisol levels in school-age children with different cognitive tests. Dogadkina S.B., Ermakova I.V., Adamovskaya O.N., Kmit G.V., Rubleva L.V., Sharapov A.N.
- Экспрессия генов у сельскохозяйственной птицы под влиянием Т-2 токсина и применения биопрепаратов. Йылдырым Е.А., Грозина А.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Лантев Г.Ю., Пономарева Е.С., Дубровин А.В., Калиткина К.А., Молотков В.В., Ахматчин Д.А., Тюрина Д.Г. 180
- Gene expression in farm poultry under the influence of T-2 toxin and the use of biological preparations. Yildirim E.A., Grozina A.A., Ilyina L.A., Filippova V.A., Laptev G.Y., Ponomareva E.S., Dubrowin A.V., Kalitkina K.A., Molotkov V.V., Ahmatchin D.A., Tiurina D.G.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

Анализ температурно-болевого чувствительности у пациентов с последствиями травмы шейного отдела спинного мозга. Щурова Е.Н., Прудникова О.Г., Качесова А.А.

190

Analysis of temperature-pain sensitivity in patients with consequences of the cervical spinal cord injury. Shchurova E.N., Prudnikova O.G., Kachesova A.A.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

OPHTHALMOLOGY

Возможности диагностики «малых» метастазов в хориоидею. Стояхина А.С., Юсеф Ю.Н.

203

Diagnostic of small choroidal metastasis. Stoyukhina A.S., Yusef Yu.N.

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

Опыт переживания женщинами ситуации развода. Тихомирова Е.В., Самохвалова А.Г., Хазова С.А., Сапоровская М.В., Чичерина Д.А.

216

Women's experience of divorce. Tikhomirova E.V., Samokhvalova A.G., Khazova S.A., Saporovskaia M.V., Chicherina D.A.

Особенности динамики идентичности у женщин с синдромом поликистозных яичников и их социально-демографические детерминанты. Кузьмин М.Ю., Марьян А.Ю., Сутурина Л.В.

229

Features of dynamics of identity in women with polycystic ovarian syndrome and their socio-demographic determinants. Kuzmin M.Yu., Marianian A.Yu., Sutura L.V.

ТРАВМАТОЛОГИЯ

TRAUMATOLOGY

Морфо-функциональная реорганизация подошвенного апоневроза при экспериментальном моделировании фасциопатии синтетическим аналогом простагландина E1. Силантьев В.Н., Дзюба Г.Г., Маркелова М.В., Ерофеев С.А., Турушев М.А., Чернигова С.В.

242

Morphofunctional reorganization of plantar aponeurosis in experimental modeling of fasciopathy by synthetic analogue of prostaglandin E1. Silantyev V.N., Dzyuba G.G., Markelova M.V., Erofeev S.A., Turushev M.A., Chernigova S.V.

ХИРУРГИЯ

SURGERY

Дооперационный способ оценки поражения желчного пузыря при остром холецистите. Яшинов А.А., Лобанов С.Л., Коновалова О.Г., Бурцева М.А., Ханина Ю.С.

253

Preoperative method of assessment of gallbladder lesion in acute cholecystitis. Yashnov A.A., Lobanov S.L., Konovalova O.G., Burtseva M.A., Hanina Yu.S.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL RESEARCHES

Действие «ранних» белков E2, E6 и E7 папилломавируса высококанцерогенного типа ВПЧ16 на раковые клетки HeLa, вызывающие опухолевые разрастания в лёгких у мышей. Салаяев Р.К., Рекославская Н.И.

260

The effect of "early" proteins E2, E6 and E7 of papillomavirus of high-risk cancerogenous type HPV16 on cancer HeLa cells, inducing tumour growths in mice lungs. Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I.

Распространение дирофиляриоза в Омской области. Рязанова Т.С., Свердлов А.В., Старостина О.Ю., Никитин А.А., Григорова Н.Ю., Кочетков Ю.В.

277

Distribution of dirofilariasis in Omsk region. Ryazanova T.S., Sverdlova A.V., Starostina O.Yu., Nikitin A.A., Grigorova N.Yu., Kochetkov Yu.V.

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

СИНДРОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА И БЕТА-АМИЛОИД 42 У ПОДРОСТКОВ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Бердина О.Н.,
Мадаева И.М.,
Большакова С.Е.,
Шолохов Л.Ф.,
Рычкова Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бердина Ольга Николаевна,
e-mail: goodnight_84@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна (СОАС) является серьёзной медико-социальной проблемой среди всех возрастных групп, и его влияние на здоровье и деятельность человека хорошо известно. Однако изучение ранних маркеров когнитивных нарушений и нейродегенеративных заболеваний при данной патологии остаётся важной задачей современной медицины.

Цель исследования. Сравнительная оценка уровней бета-амилоида 42 в плазме крови подростков в зависимости от наличия или отсутствия СОАС и ожирения.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 74 мальчика-подростка 15–17 лет с нормальной массой тела и ожирением. Методы исследования: общий осмотр с антропометрией; полисомнография; определение уровня бета-амилоида 42 в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа; обработка данных с помощью методов параметрической и непараметрической статистики.

Результаты. По результатам полисомнографии выделили 4 группы участников: с ожирением и СОАС (1-я группа; $n = 28$); с ожирением без СОАС (2-я группа; $n = 20$); с нормальной массой тела и СОАС (3-я группа; $n = 11$); с нормальной массой тела без СОАС (4-я группа – контроль; $n = 15$). Сравнительный анализ уровней бета-амилоида 42 показал статистически значимые различия у подростков разных групп ($p = 0,0002$). Наиболее высокое его содержание обнаружено у пациентов с СОАС и ожирением ($p = 0,007$, $p = 0,047$ и $p = 0,0002$ относительно 2-й, 3-й и 4-й групп соответственно). Пациенты с изолированным ожирением были сходны по уровню изучаемого белка с нормовесными подростками. Участники без ожирения с СОАС также показали значимое превышение уровня амилоида относительно контроля ($p = 0,004$).

Заключение. Таким образом, нарушения дыхания во время сна у подростков, сопровождаемые интермиттирующей ночной гипоксией, вызывают значительное повышение уровня циркулирующего амилоидного белка, имеющего основную роль в патогенезе болезни Альцгеймера. Наличие ожирения как сопутствующей, но не изолированной патологии оказывает негативное влияние на изменение исследуемого показателя.

Ключевые слова: синдром обструктивного апноэ сна, интермиттирующая гипоксия, бета-амилоид 42, ожирение, подростки

Для цитирования: Бердина О.Н., Мадаева И.М., Большакова С.Е., Шолохов Л.Ф., Рычкова Л.В. Синдром обструктивного апноэ сна и бета-амилоид 42 у подростков: результаты пилотного исследования. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.2

Статья поступила: 19.04.2022
Статья принята: 12.05.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA AND AMYLOID- β 42 IN ADOLESCENTS: THE RESULTS OF A PILOT STUDY

Berdina O.N.,
Madaeva I.M.,
Bolshakova S.E.,
Sholokhov L.F.,
Rychkova L.V.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Tymiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Olga N. Berdina,
e-mail: goodnight_84@mail.ru

ABSTRACT

Background. Obstructive sleep apnea (OSA) is a chronic condition characterized by repetitive collapse of the upper airway during sleep leading to intermittent hypoxia, excessive arousals and disrupt of sleep homeostasis. OSA is associated with obesity as well as pathological dynamics of cerebral beta-amyloid and dementia.

The aim. Comparative assessment of the plasma beta-amyloid 42 levels in adolescents, depending on the presence or absence of OSA and obesity.

Materials and methods. Seventy-four obese and non-obese male adolescents were included in the study. All participants underwent polysomnography to verify OSA and measure sleep parameters, and venipuncture for the assessment of beta-amyloid 42 by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results. After polysomnography all adolescents have been divided into four study groups: OSA obese (group 1; $n = 28$); non-OSA obese (group 2; $n = 20$); OSA non-obese (group 3; $n = 11$), and non-OSA non-obese (group 4 – control; $n = 15$). OSA obese adolescents had significant elevations in beta-amyloid 42 plasma levels compared with participants from three other groups ($p = 0.007$, $p = 0.047$ u $p = 0.0002$, correspondingly). Compared to both OSA non-obese adolescents and the control group, non-OSA obese patients had similar beta-amyloid 42 blood concentrations ($p = 0.167$ and $p = 0.155$, correspondingly). However, patients from the group 3 showed significantly higher beta-amyloid 42 plasma levels than controls ($p = 0.004$).

Conclusions. Thus, OSA, accompanied by intermittent nocturnal hypoxia, and particularly OSA and obesity comorbidity, in adolescents is associated with increased beta-amyloid 42 circulating concentrations, which has a major role in pathogenesis of dementia. Beta-amyloid 42 plasma level may be recommended for use as early biomarker of cognitive impairment and neurodegenerative diseases, but future researches are needed.

Key words: obstructive sleep apnea, nocturnal intermittent hypoxia, beta-amyloid 42, obesity, adolescents

Received: 19.04.2022
Accepted: 12.05.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Berdina O.N., Madaeva I.M., Bolshakova S.E., Sholokhov L.F., Rychkova L.V. Obstructive sleep apnea and amyloid- β 42 in adolescents: The results of a pilot study. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.2

ОБОСНОВАНИЕ

Синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) представляет собой хроническое патологическое состояние, характеризующееся повторяющимся коллапсом верхних дыхательных путей во время сна, что приводит к перемежающейся ночной гипоксемии, избыточным «микробиопробуждениям» и нарушению гомеостаза сна [1]. Заболевание преобладает среди мужчин среднего и старшего возраста в гендерном соотношении 2–6 : 1 [2]. СОАС в детско-подростковой популяции также не является редким заболеванием. Следует отметить, что распространённость СОАС у детей допубертатного возраста составляет 2–4 %, у подростков – не менее 2 %, а при наличии ожирения увеличивается до 45 % [3]. СОАС представляет собой гетерогенное расстройство сна с мультифакторной этиологией [4]. При этом наиболее частой причиной СОАС у детей признано наличие гипертрофированных миндалин и/или аденоидов [5], тогда как в подростковом возрасте на первый план выходит ожирение, развитие которого может быть связано как с генетической предрасположенностью и образом жизни, так и с хроническим стрессом и нарушением адаптации к условиям окружающей среды [6, 7]. «Золотым стандартом» диагностики СОАС является полисомнография [8]. Основным диагностическим показателем и критерием тяжести СОАС, влияющим на степень ночной гипоксии, является индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ), который рассчитывается как общее количество эпизодов апноэ и гипопноэ за 1 час сна. Диагноз СОАС выставляют при ИАГ ≥ 5 событий/час для взрослых [9] ≥ 1 или 2 событий/час для детей и подростков соответственно [10].

Известно, что СОАС может повышать риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2-го типа, метаболического синдрома, мозгового инсульта и нейрокогнитивных нарушений [11]. рядом исследований были выявлены некоторые патофизиологические ассоциации между СОАС и болезнью Альцгеймера (БА) [12, 13]. Механизмы, с помощью которых нарушения сна, в том числе СОАС, могут влиять на развитие когнитивного дефицита, ещё до конца не ясны. Хорошо известно, что патогенез БА связан с церебральной атрофией и специфическим белком бета-амилоидом 42 (А β 42) [14]. Недавно была описана глимфатическая система головного мозга, с помощью которой из него выводятся вредные вещества и токсины (в том числе А β 42), накопленные в период бодрствования [15–17], и было доказано, что данная функция активна только в состоянии сна, а именно во время медленноволнового сна [18, 19]. В дополнение к этому выявлено, что интермиттирующая ночная гипоксемия при СОАС связана с повышенной продукцией и сниженным клиренсом амилоидного белка [20]. В исследованиях на взрослых было доказано, что СОАС средней и тяжёлой степени связан со снижением уровня А β 42 в плазме крови [21]. Несмотря на то, что существуют доказательства присутствия А β 42 в организме человека с раннего возраста [22, 23], в доступной литера-

туре было найдено только одно исследование, посвящённое изучению биомаркеров при СОАС, в том числе А β 42, у детей допубертатного возраста [24]. Однако проведение подобного рода исследований в подростковом возрасте как одним из критических периодов онтогенеза также не менее актуально.

Основываясь на вышеупомянутой информации, нами была сформулирована следующая **гипотеза**: у подростков, страдающих СОАС, сопровождаемым интермиттирующей гипоксией, содержание А β 42 в плазме крови будет выше, чем у их сверстников без нарушений дыхания во время сна, при этом коморбидное течение ожирения может способствовать его большему увеличению.

Это и определило **цель** нашего пилотного **исследования**, заключающуюся в сравнительной оценке уровня А β 42 в плазме крови подростков в зависимости от наличия или отсутствия синдрома обструктивного апноэ сна и ожирения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании, проведённом с мая 2018 г. по март 2021 г., приняли участие подростки из числа пациентов Клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск), удовлетворяющих критериям включения.

Дизайн исследования: проспективное, нерандомизированное исследование с последовательным включением пациентов.

Критерии включения: мужской пол; возраст обследуемых – от 15 лет 0 месяцев до 17 лет 11 месяцев; SDS индекса массы тела (ИМТ) – от -2 до $+1$ или > 2 ; подписанное информированное согласие об участии в исследовании.

Критерии исключения: сопутствующие психические и неврологические заболевания, черепно-лицевые аномалии; лечение СОАС в анамнезе и/или проводимая терапия постоянным положительным давлением в верхних дыхательных путях (CPAP-терапия) на момент включения в исследование; избыточная или недостаточная масса тела; нежелание подростка участвовать в исследовании.

Всем участникам, включённым в исследование, было проведено, стандартное общее клиническое обследование, включающее осмотр и антропометрические измерения, а также исследование с использованием инструментальных (полисомнография) и лабораторных (определение уровня белка бета-амилоид 42) методов.

Антропометрические параметры оценивали однократно при включении подростка в исследование. Линейный рост (длину тела) в положении стоя измеряли с точностью до 0,1 см с помощью ростомера. Массу тела измеряли с точностью до 0,1 кг с помощью медицинских весов. ИМТ рассчитывали как отношение массы тела в килограммах к длине тела в метрах квадратных (кг/м²). Далее проводили определение числа стандартных отклонений (SD), отличающих значе-

ние ИМТ участников от медианы возрастно-половой шкалы (SDS ИМТ), и выделяли следующие варианты нутритивного статуса: дефицит массы тела при < -2 SDS; нормальная масса тела (НМТ) – от -2 до $+1$ SDS; избыточная масса тела – от $+1$ до $+2$ SDS; ожирение – при $> +2$ SDS [25]. Все расчёты проводили по стандартам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) с использованием автоматической программы WHO AnthroPlus (антропометрический калькулятор для детей от 5 до 19 лет).

На следующем этапе исследования всем подросткам было проведено полное полисомнографическое исследование (ПСГ) с использованием системы для амбулаторной регистрации полисомнограмм «Нейрон-Спектр-СМ» («Нейрософт», Иваново) в течение 7–8 ч ночного сна для диагностики СОАС. ПСГ включало: запись 4-канальной энцефалограммы в стандартном референтном ушном монтаже (С3-А1, С4-А2, О1-А1, О2-А2); электроокулограммы; электромиограммы с подбородочных и передних большеберцовых мышц; электрокардиограммы; регистрацию ороназального воздушного потока дыхания, грудного и брюшного дыхательных усилий; храпа, пульсоксиметрию. Процедура ПСГ и оценка показателей осуществлялись по стандартной методике [8]. Каждая эпоха анализа составляла 30 секунд. Обструктивное апноэ определялось как уменьшение потока вдыхаемого воздуха не менее чем на 90 %, а гипопноэ – как снижение не менее чем на 30 %, связанное с реакцией «микроробуждений» или снижением насыщения крови кислородом (десатурацией) на 3 %, продолжительностью не менее 10 секунд. СОАС был верифицирован при наличии ИАГ ≥ 2 эпизодов в час сна [10].

После ПСГ всем участникам исследования был проведён забор крови для последующего определения концентрации нейроспецифического белка Аβ42. Образцы крови брали утром натощак путём венепункции локтевой вены в пробирки с ЭДТА, центрифугировали в течение 10 мин при 1500 г при 4 °C; получившуюся плазму хранили при –80 °C до момента анализа. Содержание Аβ42 определяли методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческого набора «Amyloid-beta (1-42) High Sensitive» (IBL International GmbH, Германия) на анализаторе ELx808™ Absorbance Microplate Reader (BioTek Instruments Inc., США). Единицы измерения – пг/мл.

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Ввод данных исследования осуществлялся в электронные таблицы Excel (Microsoft Corp., США) с последующим экспортом в специализированный пакет прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и BioStat (AnalystSoft Inc., США). Тест Шапиро – Уилка (W) использовался для проверки нормальности распределения исследуемых показателей. В случае нормального распределения данные были представлены в виде среднего арифметического \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$); если распределение отличалось от нормального (W-критерий $< 0,05$), данные пред-

ставляли в виде медиана (Me) [25-й; 75-й процентиля]. Для сравнения всех групп исследования по определённому показателю применялся однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и непараметрический критерий Крускала – Уоллиса (K-W H-тест). При анализе межгрупповых различий использовали параметрический t-критерий Стьюдента и непараметрический критерий Манна – Уитни (M-W U-тест). Критический уровень статистической значимости принимался за 5 % (0,05).

Данное исследование было проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации (1964 г., редакция 2013 г.), протокол исследования был одобрен локальным Комитетом по биомедицинской этике (Протокол № 2 от 22.02.2018). Каждый подросток подписал информированное согласие на участие в проводимом исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в исследование было включено 89 подростков мужского пола, подписавших информированное согласие, 74 из них завершили все процедуры исследования. Из исследования выбыли 15 человек, имеющие иные, чем СОАС, нарушения сна (привычный храп, инсомния, синдром беспокойных ног, сомнамбулизм и/или сомнилокия, ночные страхи или ночные кошмары), верифицированные при проведении ПСГ. 35 участников имели нормальные параметры сна, 39 подростков – признаки СОАС. Было сформировано четыре группы пациентов: с ожирением и СОАС (1-я группа; $n = 28$); с ожирением без СОАС (2-я группа; $n = 20$); с НМТ и СОАС (3-я группа; $n = 11$); с НМТ без СОАС (4-я группа; $n = 15$). Их демографические, клинические и полисомнографические характеристики представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы, группы пациентов статистически значимо различались между собой по абсолютному большинству показателей, кроме возраста участников ($H = 3,972$; $p = 0,264$) и параметра ПСГ – общее время сна ($H = 4,434$; $p = 0,296$). Группирующие параметры – ИМТ и SDS ИМТ были статистически значимо выше у подростков с ожирением (соответственно $H = 42,097$ и $H = 41,431$; $p < 0,0001$ для обоих показателей). При описании межгрупповых различий необходимо отметить, что данные показатели в группах подростков с ожирением (1-я и 2-я) и участников с НМТ (3-я и 4-я) были сходными. Однако наблюдалась тенденция к более высокому ИМТ у участников с СОАС (1-я и 3-я группы) по сравнению со сверстниками без нарушений дыхания во время сна (2-я и 4-я группы) (соответственно $Z = 1,609$, $p = 0,108$ и $Z = 0,830$, $p = 0,406$). Также не было обнаружено статистически значимых различий между большинством параметров ПСГ в группах без СОАС с разным статусом веса. Тем не менее, наблюдалась тенденция к повышению ИАГ и снижению уровня насыщения крови кислородом у пациентов с изолированным ожирением. В группе подростков с СОАС (1-я группа), стра-

ТАБЛИЦА 1

КЛИНИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
И СОАС-АССОЦИИРОВАННЫЕ ДАННЫЕ
ПОЛИСОМНОГРАФИИ УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

TABLE 1

CLINICAL AND DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS
AND OSA-RELATED POLYSOMNOGRAPHIC DATA
OF THE STUDIED PARTICIPANTS

Показатели	1-я группа (n = 28)	2-я группа (n = 20)	3-я группа (n = 11)	4-я группа (n = 15)	p	p		
						1–2/3–4	1–3/2–4	1–4/2–3
Возраст, годы*; #	16 [16; 17]	16 [16; 17]	16 [15; 16]	16 [15; 17]	0,264	0,291/ 0,716	0,405/ 0,153	0,664/ 0,081
ИМТ*; #	33,7 [31,3; 35,1]	31,9 [30,8; 33,2]	20,9 [19,1; 21,1]	19,1 [18,4; 19,9]	< 0,0001	0,108/ 0,406	< 0,0001/ < 0,0001	< 0,0001/ < 0,0001
SDS ИМТ*; #	2,5 [2,4; 2,6]	2,4 [2,2; 2,8]	–0,1 [–0,4; 0,3]	–0,08 [–0,07; 0,1]	< 0,0001	0,330/ 0,659	< 0,0001/ < 0,0001	< 0,0001/ < 0,0001
ИАГ, событий/час*; #	13,2 [9,3; 16,1]	1,2 [1; 1,3]	7,9 [5,5; 10]	1 [0,8; 1,1]	< 0,0001	< 0,0001/ < 0,0001	< 0,0001/ 0,095	< 0,0001/ < 0,0001
Мин. SaO ₂ , %*; #	82,6 [81; 85,5]	95 [94,6; 95,7]	87,6 [86; 88,8]	95,6 [95; 96,2]	< 0,0001	< 0,0001/ < 0,0001	< 0,0001/ 0,537	< 0,0001/ < 0,0001

Примечание. Данные представлены в виде Ме [25-й; 75-й процентиля]; SaO₂ – уровень насыщения крови кислородом в течение ночи; * – сравнение 4 групп по H-критерию Крускала – Уоллиса (K-W H); # – попарное сравнение групп по U-критерию Манна – Уитни (M-W U).

дающих ожирением, отмечались самые высокие значения ИАГ и значительная десатурация в течение ночи по сравнению с другими группами пациентов, в том числе включающими участников с НМТ и СОАС (4-я группа): $Z > 4$; $p < 0,0001$ по всем группам исследования относительно 1-й группы.

Далее нами был проведён сравнительный анализ уровней Аβ42 в образцах крови подростков разных группах. На рисунке 1 представлены диаграммы размаха диапазонов содержания Аβ42 в плазме крови обследуемых пациентов. В целом продемонстрированы статистически значимые различия по уровню данного специфического белка у подростков разных групп ($H = 19,594$; $p = 0,0002$), однако не во всех парах. При попарном сравнении групп исследования нами были получены следующие результаты. Так, в группе пациентов с ожирением и СОАС (1-я группа) уровень Аβ42 был статистически значимо выше, чем у подростков с изолированным ожирением (2-я группа): 4,8 [3,9; 7,3] и 2,3 [1,4; 3,5] пг/мл соответственно ($Z = 2,683$; $p = 0,007$), а также у пациентов с НМТ вне зависимости от наличия или отсутствия СОАС (3-я и 4-я группы, соответственно): 4,8 [3,9; 7,3] против 3,4 [2,3; 3,8] пг/мл ($Z = 1,898$; $p = 0,047$) и 1,5 [1,3; 1,7] пг/мл ($Z = 3,818$; $p = 0,0002$) соответственно. В то же время пациенты 2-й группы исследования имели сходные уровни Аβ42 с подростками 3-й и 4-й групп: 2,3 [1,4; 3,5] против 3,4 [2,3; 3,8] пг/мл ($Z = 1,380$; $p = 0,167$) и 1,5 [1,3; 1,7] пг/мл ($Z = 1,396$; $p = 0,155$) соответственно; однако наблюдалась тенденция к несколько более высоким его уровням среди пациентов с ожирением без СОАС. При этом группы пациентов с НМТ без нарушений дыхания во время сна и их сверстников с НМТ и СОАС различались по уровню данного белка в плазме крови с высокой степенью статистической значимости ($Z = 2,823$; $p = 0,004$).

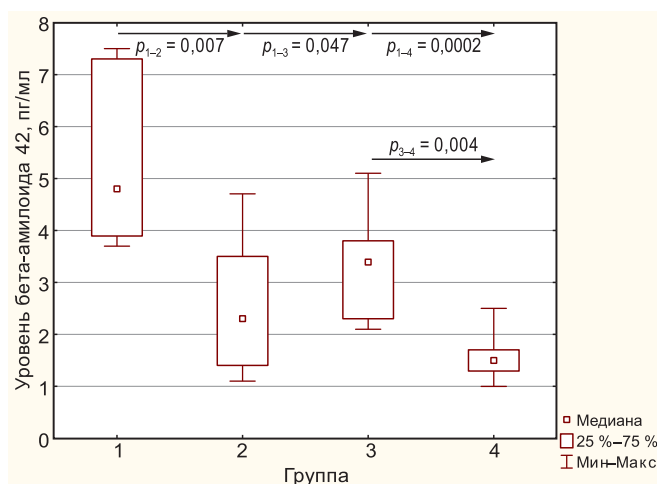


РИС. 1.

Сравнительный анализ уровней бета-амилоида 42 в плазме крови подростков с СОАС и ожирением (1), с ожирением без СОАС (2), с СОАС без ожирения (3) и группы контроля без СОАС и ожирения (4)

FIG. 1.

Comparative analysis of the levels of beta-amyloid 42 in the blood plasma of adolescents with OSAS and obesity (1), with obesity without OSAS (2), with OSAS without obesity (3) and the control group without OSAS and obesity (4)

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведённого исследования предложенная нами гипотеза подтвердилась. Действительно, уровень специфического протеина Аβ42 в плазме крови подростков с СОАС был статистически значимо выше, чем у их сверстников без СОАС. При этом изменение данного показателя у пациентов без лишнего веса было

менее значительным, чем у тех, кто страдал ожирением. Тем не менее, различия имели высокую степень статистической значимости в обоих случаях. Можно констатировать тот факт, что обструктивные нарушения дыхания во время сна у пациентов старшего подросткового возраста, сопровождаемые интермиттирующей ночной гипоксемией, вероятнее, чем ожирение, как изолированная патология приводят к повышению концентрации данного белка в плазме крови. Однако следует отметить, что каскад патофизиологических процессов, запускаемый при ожирении (например, окислительный стресс, нейровоспаление, повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, инсулинорезистентность) [26, 27], тоже играет определённую роль в изменении уровня циркулирующего амилоида посредством усиления транспорта Аβ42 в головной мозг, нарушения экспрессии мозговых пептидов и т. д., учитывая выраженную тенденцию к его увеличению в группе подростков, имеющих лишний вес. Учёными была описана связь между ожирением и нейродегенеративными заболеваниями, в том числе БА [28]. Y.H. Lee и соавт. (2009) также было доказано, что постоянно повышенный уровень Аβ42у в плазме крови лиц с ожирением может быть связан с усилением экспрессии гена белка-предшественника амилоида в адипоцитах [29]. Несмотря на то, что указанные сведения касаются только лиц старшего и пожилого возраста, исследования, проведённые в педиатрической популяции, также встречаются в доступной литературе, однако их количество крайне мало. Так, в 2015 году R. Luciano и соавт. (2015) [30] в своей работе показали, что подростки с ожирением имеют статистически значимо более высокий уровень циркулирующего Аβ42, чем их сверстники с избыточной и нормальной массой тела, что положительно коррелирует с ИМТ и индексом инсулинорезистентности. Это исследование доказывает роль ожирения как потенциального фактора риска формирования когнитивных расстройств и БА в более старшем возрасте. При этом в нашей работе была также обнаружена тенденция к повышению уровня Аβ42 в плазме крови подростков с ожирением без нарушений дыхания во время сна по сравнению с участниками с нормальной массой тела. Годом позже в исследовании, проведённом L. Kheirandish-Gozal и соавт. среди младших школьников [24], не обнаружили статистически значимого изменения содержания амилоидного белка в крови участников с ожирением по сравнению с детьми с нормальным ИМТ. Однако в указанной работе авторы выявили, что концентрация Аβ42 и других периферических биомаркеров болезни Альцгеймера (пре-синелина-1) может резко увеличиваться при коморбидном течении ожирения и СОАС, а также практически достигать уровня контроля после адентонзиллэктомии. Так, была доказана роль нарушений дыхания во время сна, но не ожирения, в изменении содержания специфических протеинов в организме младших школьников. Это было единственное найденное нами в доступной литературе исследование указанных белков, проведённое среди педиатрических пациентов с СОАС. Тем не менее, проблема расстройств сна, а также обструктивных нару-

шений во время сна как факторов риска нейрокогнитивных расстройств и болезни Альцгеймера остаётся крайне актуальной в различных возрастных группах. Известно, что в целом хроническое недосыпание (прежде всего, дефицит глубоких стадий сна) является одной из ведущих причин образования амилоидных бляшек в тканях головного мозга [31]. Это прежде всего связано со снижением активности глимфатической и лимфатической мозговых систем и эффективности процессов «очистки» от Аβ42 [15, 16, 32]. Учитывая, что патогномичным признаком СОАС является «неполноценный» фрагментированный сон с недостатком глубоких стадий в условиях интермиттирующей ночной гипоксемии и окислительного стресса [33, 34], у таких пациентов с расстройствами дыхания во время сна наблюдается «сладжинг» Аβ42 в тканях головного мозга, что служит неотъемлемой частью патогенеза когнитивных нарушений [35]. В работах различных авторов [36–39] было доказано повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) при гипоксических (в том числе при СОАС) и нейродегенеративных состояниях, что может объяснять факт увеличения концентрации амилоидного белка в периферической крови за счёт его усиленной диффузии из периваскулярного пространства в кровеносные сосуды, обнаруженный в ходе нашего исследования. Однако ранее И.М. Мадаева и соавт. [21] показали снижение уровня Аβ42 у мужчин с СОАС и достижение им контрольных цифр после устранения хронической интермиттирующей гипоксии методом CPAP-терапии. Мы считаем, что расхождение наших результатов с ранее полученными во взрослой популяции можно объяснить следующим образом: на ранней стадии СОАС возникает увеличение производства и снижение клиренса Аβ42, что приводит к увеличению его уровня. По мере прогрессирования СОАС большое количество Аβ42 расходуется на формирование амилоидных бляшек, что приводит к снижению его уровня в организме.

Несмотря на полученные статистически значимые различия в содержании специфического белка Аβ42 в периферической крови подростков с разным статусом веса в зависимости от наличия или отсутствия СОАС, наше исследование являлось пилотным в данной возрастной и имеет ряд ограничений. К ним можно отнести малый размер выборки, включение в исследование только подростков старшего возраста и мужского пола, а также отсутствие учёта степени тяжести СОАС. Присутствие указанных лимитирующих факторов ограничивает распространение полученных результатов на общую популяцию подростков и требует проведения дополнительных научных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в своём исследовании мы показали, что СОАС у подростков вызывает статистически значимое повышение циркулирующего амилоидного белка Аβ42, имеющего основную роль в формировании когнитивных нарушений. Кроме того, содержание этого мар-

кера в крови пациентов увеличивается при сопутствующем ожирении. При этом наличие изолированного ожирения не оказывает статистически значимого влияния на изменение уровня Аβ42. Однако вопрос о влиянии ожирения и метаболического синдрома как независимых кофакторов, не только усугубляющих течение СОАС, но и оказывающих потенциальный синергический эффект на изменение содержания нейроспецифических белков в организме и развитие когнитивной дисфункции, является дискуссионным. Только проведение дальнейших научных исследований позволит обнаружить новые ранние маркеры нейродегенеративных заболеваний, установить их дополнительные потенциальные связи с СОАС и ожирением, а также оценить эффект от лечебных мероприятий уже в детском и подростковом возрасте, что позволит патогенетически обосновать подходы к ранней диагностике и прогнозированию и оптимизировать принципы терапии как при изолированном, так и при коморбидном с эндокринными расстройствами течении нарушений дыхания во время сна в педиатрической популяции.

Исследование выполнялось с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tietjens JR, Claman D, Kezirian EJ, De Marco T, Mirzayan A, Sadroonri B, et al. Obstructive sleep apnea in cardiovascular disease: A review of the literature and proposed multidisciplinary clinical management strategy. *J Am Heart Assoc.* 2019; 8(1): e010440. doi: 10.1161/JAHA.118.010440
2. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol.* 2013; 177(9): 1006-1014. doi: 10.1093/aje/kws342
3. Bitners AC, Arens R. Evaluation and management of children with obstructive sleep apnea syndrome. *Lung.* 2020; 198(2): 257-270. doi: 10.1007/s00408-020-00342-5
4. Шамшева Д.С. Синдром обструктивного апноэ сна: современное состояние проблемы. *Лечебное дело.* 2014; 1: 4-16.
5. Kang K-T, Chou C-H, Weng W-C, Lee P-L, Hsu W-Ch. Associations between adenotonsillar hypertrophy, age, and obesity in children with obstructive sleep apnea. *PLoS.* 2013; 8: e78666. doi: 10.1371/journal.pone.0078666
6. Лисовская Н.А., Дубинина Е.А., Антонова Т.Д., Коростовцева Л.С., Свиричев Ю.В., Алехин А.Н., и др. Синдром обструктивного апноэ во сне у подростков с избыточной массой тела и ожирением: фокус на когнитивное функционирование. *Артериальная гипертензия.* 2017; 23(4): 303-312. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-4-303-312
7. Колесникова Л.И., Дзятковская Е.Н., Долгих В.В., Поляков В.М., Рычкова Л.В. *Адаптивно-развивающаяся стратегия сохранения здоровья школьников.* М.: Литтерра; 2015.
8. Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE, Harding SM, Lloyd RM, Marcus CL, et al. *The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications, version 2.2.* Darien: American Academy of Sleep Medicine; 2015.
9. Kapur VK, Auckley DH, Chowdhuri S, Kuhlmann DC, Mehra R, Ramar K, et al. Clinical practice guideline for diagnostic testing for adult obstructive sleep apnea: An American Academy of Sleep Medicine clinical practice guideline. *J Clin Sleep Med.* 2017; 13(3): 479-504. doi: 10.5664/jcsm.6506
10. Kaditis AG, Alvarez MLA, Boudewyns A, Alexopoulos EI, Ersu R, Joosten K, et al. Obstructive sleep disordered breathing in 2- to 18-year-old children: Diagnosis and management. *Eur Respir J.* 2016; 47(1): 69-94. doi: 10.1183/13993003.00385-2015
11. Кемстач В.В., Коростовцева Л.С., Головкова-Кучерявая М.С., Бочкарев М.В., Свиричев Ю.В., Алехин А.Н. Синдром обструктивного апноэ сна и когнитивные нарушения. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020; 120(1): 90-95. doi: 10.17116/jnevro202012001190
12. Гераскина Л.А., Шарипов Г.Г., Фоякин А.В., Максимова М.Ю. Структура нарушений дыхания во сне и когнитивные расстройства при цереброваскулярных заболеваниях. *Российский неврологический журнал.* 2020; 25(3): 26-33. doi: 10.30629/2658-7947-2020-25-3-26-33
13. Siachpazidou DI, Stavrou VT, Astara K, Pastaka Ch, Gogou E, Hatzoglou Ch, et al. Alzheimer's disease in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Tanaffos.* 2020; 19(3): 176-185.
14. Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю., Железняк И.С., Бойков И.В. *Болезнь Альцгеймера: учебное пособие.* СПб.: ВМедА; 2016.
15. Лобзин В.Ю., Колмакова К.А., Емелин А.Ю. Новый взгляд на патогенез болезни Альцгеймера: современные представления о клиренсе амилоида. *Обзор психиатрии и медицинской психологии.* 2018; 2: 22-28. doi: 10.31363/2313-7053-2018-2-22-28
16. Кондратьев А.Н., Ценципер Л.М. Глимфатическая система мозга: строение и практическая значимость. *Анестезиология и реаниматология.* 2019; 6: 72-80. doi: 10.17116/anaesthesiology201906172
17. Nedergaard M, Goldman SA. Glymphatic failure as a final common pathway to dementia *Science.* 2020; 370(6512): 50-56. doi: 10.1126/science.abb8739
18. Мадаева И.М., Бердина О.Н. Современные представления о «медленном» и «быстром» сне и их роль в генезе болезни Альцгеймера (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica.* 2017; 2(4): 48-52. doi: 10.12737/article_59fad513a63772.41901536
19. Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science.* 2013; 342: 373-377. doi: 10.1126/science.1241224
20. Krysta K, Bratek A, Zawada K, Stepniak R. Cognitive deficits in adults with obstructive sleep apnea compared to children and adolescents. *J Neural Transm (Vienna).* 2017; 124(1): 187-201. doi: 10.1007/s00702-015-1501-6
21. Madaeva I, Semenova N, Ukhinov E, Kurashova N, Sholohov L, Kolesnikov S, et al. Plasma amyloid β42 in patients with obstructive sleep apnea before and after CPAP-therapy: Pilot study. *Int J Biomed.* 2019; 9(3): 205-209. doi: 10.21103/Article9(3)_OA3
22. Mansour Y, Blackburn K, González-González LO, Calderón-Garcidueñas L, Kulesza RJ. Auditory brainstem dysfunction, non-invasive biomarkers for early diagnosis and monitoring of Alzheimer's disease in young urban residents exposed to air

pollution. *J Alzheimers Dis.* 2019; 67(4): 1147-1155. doi: 10.3233/JAD-181186

23. Shi Y, Luo H, Liu H, Hou J, Feng Y, Chen J, et al. Related biomarkers of neurocognitive impairment in children with obstructive sleep apnea. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2019; 116: 38-42. doi: 10.1016/j.ijporl.2018.10.015

24. Kheirandish-Gozal L, Philby MF, Alonso-Álvarez ML, Terán-Santos J, Gozal D. Biomarkers of Alzheimer disease in children with obstructive sleep apnea: Effect of adenotonsillectomy. *Sleep.* 2016; 39(6): 1225-1232. doi: 10.5665/sleep.5838

25. World Health Organization. *Growth reference 5–19 years. BMI-for-age (5–19 years).* 2007. URL: https://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/ [date of access: 14.05.2018].

26. Колесникова Л.И., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Даренская М.А., Гаврилова О.А., Кравцова О.В., и др. Оценка системы липопероксидации и антиоксидантной защиты у мальчиков-подростков с экзогенно-конституциональным ожирением с использованием коэффициента окислительного стресса. *Вопросы питания.* 2018; 87(1): 28-34. doi: 10.24411/0042-88332018-10003

27. Боголепова А.Н. Модифицируемые факторы риска и современные подходы к терапии деменции. *Медицинский совет.* 2015; 10: 28-32. doi: 10.21518/2079-701X-2015-10-28-33

28. Ставровская А.В., Воронков Д.Н., Шестакова Е.А., Гушина А.С., Ольшанский А.С., Ямщикова Н.Г. Стрептозоцин-индуцированная болезнь Альцгеймера как самостоятельный фактор риска развития гипергликемии у крыс линии Вистар. *Проблемы эндокринологии.* 2019; 65(5): 351-361. doi: 10.14341/probl12126

29. Lee YH, Martin JM, Maple RL, Tharp WG, Pratley RE. Plasma amyloid-beta peptide levels correlate with adipocyte amyloid precursor protein gene expression in obese individuals. *Neuroendocrinol.* 2009; 90: 383-390. doi: 10.1159/000235555

30. Luciano R, Barraco GM, Muraca M, Ottino S, Spreghini MR, Sforza RW, et al. Biomarkers of Alzheimer disease, insulin resistance, and obesity in childhood. *Pediatrics.* 2015; 135(6): 1074-81. doi: 10.1542/peds.2014-2391

31. Яковлева О.В., Полуэктов М.Г., Ляшенко Е.А., Левин О.С. Сон и когнитивные нарушения при нейродегенеративных заболеваниях. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2019; 119(4,2): 89-98. doi: 10.17116/jnevro201911904289

32. Воробьев С.В., Янишевский С.Н. Глимфатическая система и ее роль в развитии болезни Альцгеймера. *Трансляционная медицина.* 2021; 8(3): 14-21. doi: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-14-21

33. Агальцов М.В., Коростовцева Л.С. Обструктивное апноэ сна и сердечно-сосудистая коморбидность: современное разногласие в оценке эффективности влияния СРАР-терапии на патогенетические механизмы и сердечно-сосудистые заболевания. *Пульмонология.* 2021; 31(6): 799-807. doi: 10.18093/0869-0189-2021-31-6-799-807

34. Zhang XB, Cheng HJ, Yuan YT, Chen Y, Chen YY, Chiu KY, et al. Atorvastatin attenuates intermittent hypoxia-induced myocardial oxidative stress in a mouse obstructive sleep apnea model. *Aging (Albany NY).* 2021; 13(14): 18870-18878. doi: 10.18632/aging.203339

35. Yaffe K, Laffan AM, Harrison SL, Redline S, Spira AP, Ensrud KE, et al. Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women. *JAMA.* 2011; 306(6): 613-619. doi: 10.1001/jama.2011.1115

36. Лавреникова К.И., Елфимова Е.М., Михайлова О.О., Хачатрян Н.Т., Федорова В.И., Литвин А.Ю., и др. Психонев-

рологические аспекты синдрома обструктивного апноэ сна. *Consilium Medicum.* 2019; 21 (9): 69-73. doi: 10.26442/20751753.2019.9.190508

37. Зинченко Е.М., Климова М.М., Широков А.А., Наволокин Н.А., Мартынов Д.В., Антонова Т.С., и др. Изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера при развитии болезни Альцгеймера у мышей. *Известия Саратовского университета. Серия Химия. Биология. Экология.* 2019; 19(4): 427-439. doi: 10.18500/1816-9775-2019-19-4-427-439

38. Voirin AC, Celle S, Perek N, Roche F. Sera of elderly obstructive sleep apnea patients alter blood-brain barrier integrity in vitro: A pilot study. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 11309. doi: 10.1038/s41598-020-68374-8

39. Zolotoff C, Bertoletti L, Gozal D, Mismetti V, Flandrin P, Roche F, et al. Obstructive sleep apnea, hypercoagulability, and the blood-brain barrier. *J Clin Med.* 2021; 10(14): 3099. doi: 10.3390/jcm10143099

REFERENCES

1. Tietjens JR, Claman D, Kezirian EJ, De Marco T, Mirzayan A, Sadroonri B, et al. Obstructive sleep apnea in cardiovascular disease: A review of the literature and proposed multidisciplinary clinical management strategy. *J Am Heart Assoc.* 2019; 8(1): e010440. doi: 10.1161/JAHA.118.010440

2. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol.* 2013; 177(9): 1006-1014. doi: 10.1093/aje/kws342

3. Bitners AC, Arens R. Evaluation and management of children with obstructive sleep apnea syndrome. *Lung.* 2020; 198(2): 257-270. doi: 10.1007/s00408-020-00342-5

4. Shamsheva DS. Obstructive sleep apnea: Modern state of the problem. *Lechebnoe delo.* 2014; 1: 4-16. (In Russ.).

5. Kang K-T, Chou C-H, Weng W-C, Lee P-L, Hsu W-Ch. Associations between adenotonsillar hypertrophy, age, and obesity in children with obstructive sleep apnea. *PLoS.* 2013; 8: e78666. doi: 10.1371/journal.pone.0078666

6. Lisovskaya NA, Dubinina EA, Antonova TD, Korostovtseva LS, Sviryaev YuV, Alekhin AN, et al. Obstructive sleep apnea syndrome in overweight and obese adolescents: Focus on cognitive functioning. *Arterial Hypertension.* 2017; 23(4): 303-312. (In Russ.). doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-4-303-312

7. Kolesnikova LI, Dzyatkovskaya EN, Dolgikh VV, Polyakov VM, Rychkova LV. *Adaptive-developing strategy for schoolchildren health maintenance.* Moscow: Literra; 2015. (In Russ.).

8. Berry RB, Brooks R, Gamaldo CE, Harding SM, Lloyd RM, Marcus CL, et al. *The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications, version 2.2.* Darien: American Academy of Sleep Medicine; 2015.

9. Kapur VK, Auckley DH, Chowdhuri S, Kuhlmann DC, Mehra R, Ramar K, et al. Clinical practice guideline for diagnostic testing for adult obstructive sleep apnea: An American Academy of Sleep Medicine clinical practice guideline. *J Clin Sleep Med.* 2017; 13(3): 479-504. doi: 10.5664/jcsm.6506

10. Kaditis AG, Alvarez MLA, Boudewyns A, Alexopoulos EI, Ersu R, Joosten K, et al. Obstructive sleep disordered breathing in 2- to 18-year-old children: Diagnosis and management. *Eur Respir J.* 2016; 47(1): 69-94. doi: 10.1183/13993003.00385-2015

11. Kemstach VV, Korostovtseva LS, Golovkova-Kucheriavaia MS, Bochkarev MV, Sviryaev YuV, Alekhin AN. Obstructive sleep apnea syndrome and cognitive impairment. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020; 120(1): 90-95. (In Russ.). doi: 10.17116/jnevro202012001190
12. Geraskina LA, Sharipov GG, Fonyakin AV, Maksimova MYu. The structure of sleep disordered breathing and cognitive impairment in cerebrovascular diseases. *Russian Neurological Journal*. 2020; 25(3): 26-33. (In Russ.). doi: 10.30629/2658-7947-2020-25-3-26-33
13. Siachpazidou DI, Stavrou VT, Astara K, Pastaka Ch, Gogou E, Hatzoglou Ch, et al. Alzheimer's disease in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Tanaffos*. 2020; 19(3): 176-185.
14. Emelin AYU, Lobzin VYu, Zheleznyak IS, Boikov IV. *Alzheimer's disease: A study guide*. Saint Petersburg: VMedA; 2016. (In Russ.).
15. Lobzin VYu, Kolmakova KA, Emelin AYU. A novel view on Alzheimer's disease pathogenesis: Modern concept of amyloid clearance. *V.M. Bekhterev Review of Psychiatry and Medical Psychology*. 2018; 2: 22-28. (In Russ.). doi: 10.31363/2313-7053-2018-2-22-28
16. Kondratiev AN, Tsentsiper LM. Glymphatic system of the brain: Structure and practical significance. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2019; 6: 72-80. (In Russ.). doi: 10.17116/anaesthesiology201906172
17. Nedergaard M, Goldmann SA. Glymphatic failure as a final common pathway to dementia *Science*. 2020; 370(6512): 50-56. doi: 10.1126/science.abb8739
18. Madaeva IM, Berdina ON. Modern ideas of "slow sleep" and "REM-sleep" and their role in pathogenesis of Alzheimer's disease (review of literature). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(4): 48-52. (In Russ.). doi: 10.12737/article_59fad513a63772.41901536
19. Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*. 2013; 342: 373-377. doi: 10.1126/science.1241224
20. Krysta K, Bratek A, Zawada K, Stepańczyk R. Cognitive deficits in adults with obstructive sleep apnea compared to children and adolescents. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017; 124(1): 187-201. doi: 10.1007/s00702-015-1501-6
21. Madaeva I, Semenova N, Ukhinov E, Kurashova N, Sholohov L, Kolesnikov S, et al. Plasma amyloid β 42 in patients with obstructive sleep apnea before and after CPAP-therapy: Pilot study. *Int J Biomed*. 2019; 9(3): 205-209. doi: 10.21103/Article9(3)_OA3
22. Mansour Y, Blackburn K, González-González LO, Calderón-Garcidueñas L, Kulesza RJ. Auditory brainstem dysfunction, non-invasive biomarkers for early diagnosis and monitoring of Alzheimer's disease in young urban residents exposed to air pollution. *J Alzheimers Dis*. 2019; 67(4): 1147-1155. doi: 10.3233/JAD-181186
23. Shi Y, Luo H, Liu H, Hou J, Feng Y, Chen J, et al. Related biomarkers of neurocognitive impairment in children with obstructive sleep apnea. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2019; 116: 38-42. doi: 10.1016/j.ijporl.2018.10.015
24. Kheirandish-Gozal L, Philby MF, Alonso-Álvarez ML, Terán-Santos J, Gozal D. Biomarkers of Alzheimer disease in children with obstructive sleep apnea: Effect of adenotonsillectomy. *Sleep*. 2016; 39(6): 1225-1232. doi: 10.5665/sleep.5838
25. World Health Organization. *Growth reference 5–19 years. BMI-for-age (5–19 years)*. 2007. URL: https://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/ [date of access: 14.05.2018].
26. Kolesnikova LI, Rychkova LV, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Gavrilova OA, Kravtsova OV, et al. The evaluation of the lipid peroxidation system and antioxidant defense in adolescent boys with exogenously constitutive obesity with using the coefficient of oxidative stress. *Problems of Nutrition*. 2018; 87(1): 28-34. (In Russ.). doi: 10.24411/0042-88332018-10003
27. Bogolepova AN. Modifiable risk factors and current approaches to the treatment of dementia. *Medical Council*. 2015; 10: 28-32. (In Russ.). doi: 10.21518/2079-701X-2015-10-28-33
28. Stavrovskaya AV, Voronkov DN, Shestakova EA, Gushchina AS, Olshansky AS, Yamshikova NG. Streptozocin-induced Alzheimer's disease as an independent risk factor for the development of hyperglycemia in Wistar rats. *Problems of Endocrinology*. 2019; 65(5): 351-361. (In Russ.). doi: 10.14341/probl12126
29. Lee YH, Martin JM, Maple RL, Tharp WG, Pratley RE. Plasma amyloid-beta peptide levels correlate with adipocyte amyloid precursor protein gene expression in obese individuals. *Neuroendocrinol*. 2009; 90: 383-390. doi: 10.1159/000235555
30. Luciano R, Barraco GM, Muraca M, Ottino S, Spreghini MR, Sforza RW, et al. Biomarkers of Alzheimer disease, insulin resistance, and obesity in childhood. *Pediatrics*. 2015; 135(6): 1074-81. doi: 10.1542/peds.2014-2391
31. Iakovleva OV, Poluéktov MG, Liashenko EA, Levin OS. Sleep and cognitive impairment in neurodegenerative diseases. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2019; 119(4,2): 89-98. (In Russ.). doi: 10.17116/jnevro201911904289
32. Vorob'ev SV, Yanishevskij SN. The glymphatic system and its role in the development of Alzheimer's disease. *Translational Medicine*. 2021; 8(3): 14-21. (In Russ.). doi: 10.18705/2311-4495-2021-8-3-14-21
33. Agaltsov MV, Korostovtseva LS. Obstructive sleep apnea and cardiovascular comorbidity: modern discordance in assessing the effectiveness of CPAP-therapy against the pathogenetic mechanisms and cardiovascular diseases. *Pulmonologiya*. 2021; 31(6): 799-807. (In Russ.). doi: 10.18093/0869-0189-2021-31-6-799-807
34. Zhang XB, Cheng HJ, Yuan YT, Chen Y, Chen YY, Chiu KY, et al. Atorvastatin attenuates intermittent hypoxia-induced myocardial oxidative stress in a mouse obstructive sleep apnea model. *Aging (Albany NY)*. 2021; 13(14): 18870-18878. doi: 10.18632/aging.203339
35. Yaffe K, Laffan AM, Harrison SL, Redline S, Spira AP, Ensrud KE, et al. Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women. *JAMA*. 2011; 306(6): 613-619. doi: 10.1001/jama.2011.1115
36. Lavrenikova KI, Elfimova EM, Mikhailova OO, Khachatryan NT, Fedorova VI, Litvin AY, et al. Psycho-neurological aspects of obstructive sleep apnea syndrome. *Consilium Medicum*. 2019; 21 (9): 69-73. (In Russ.). doi: 10.26442/20751753.2019.9.190508
37. Zinchenko EM, Klimova MM, Shirokov AA, Navolokin NA, Martynov DV, Antonova TS, et al. Changes in the permeability of the blood-brain barrier in the development of Alzheimer's disease in mice. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*. 2019; 19(4): 427-439. (In Russ.). doi: 10.18500/1816-9775-2019-19-4-427-439
38. Voirin AC, Celle S, Perek N, Roche F. Sera of elderly obstructive sleep apnea patients alter blood-brain barrier integrity in vitro: A pilot study. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 11309. doi: 10.1038/s41598-020-68374-8
39. Zolotoff C, Bertolotti L, Gozal D, Mismetti V, Flandrin P, Roche F, et al. Obstructive sleep apnea, hypercoagulability, and the blood-brain barrier. *J Clin Med*. 2021; 10(14): 3099. doi: 10.3390/jcm10143099

Сведения об авторах

Бердина Ольга Николаевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: goodnight_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0930-6543>

Мадаева Ирина Михайловна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Большакова Светлана Евгеньевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sebol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3104-4212>

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lfshol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5292-0907>

Information about the authors

Olga N. Berdina – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: goodnight_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0930-6543>

Irina M. Madaeva – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Svetlana E. Bolshakova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sebol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3104-4212>

Leonid F. Sholokhov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Endocrine System Physiology and Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lfshol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5292-0907>

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

РОЛЬ АКУШЕРСКОГО ПЕССАРИЯ И МИКРОНИЗИРОВАННОГО ПРОГЕСТЕРОНА В СНИЖЕНИИ ЧАСТОТЫ РАННИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ У БЕРЕМЕННЫХ С МНОГОПЛОДИЕМ

Белинина А.А.¹,
Баринев С.В.²,
Кадцина Т.В.²,
Колядо О.В.¹,
Молчанова И.В.¹

¹ КГБУЗ «Алтайский краевой клинический
перинатальный центр» (656045,
г. Барнаул, ул. Фомина, 154, Россия)

² ФГБОУ ВО «Омский государственный
медицинский университет» Минздрава
России (644099, г. Омск, ул. Ленина, 12,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Белинина Антонина Анатольевна,
e-mail: antonina_belina@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Многоплодная беременность – повсеместно доказанный фактор риска преждевременных родов. Профилактика досрочного завершения беременности – приоритетная проблема акушерской практики.

Цель исследования. Оценить роль акушерского pessaria и микронизированного прогестерона в профилактике ранних преждевременных родов у пациенток с многоплодной беременностью.

Материалы и методы. Проведено проспективное контролируемое исследование с включением 146 беременных с многоплодной беременностью, которые в зависимости от методов лечения были разделены на 3 группы: группа I (n = 67) – беременные, которые получали микронизированный прогестерон в комплексе с акушерским pessarium. В группу II (n = 57) включили женщин, которые получали микронизированный прогестерон. Группу III (n = 22) составили пациентки с многоплодной беременностью без терапии. **Результаты.** В группе I комплекс акушерского pessaria и микронизированного прогестерона позволил снизить частоту преждевременных родов в 2,3 раза (p = 0,008) в сравнении с группой III, частоту родов в гестационном сроке ≤ 34 недель – в 8,1 раза (p = 0,005) в сравнении с группой III и в 2,7 раза (p < 0,01) в сравнении с группой II. У 70,4 % беременных применение комплекса акушерского pessaria с микронизированным прогестероном позволило предотвратить формирование истмико-цервикальной недостаточности, что, по данным сонографии, выразилось в динамике маточно-цервикального угла в сторону более тупого.

Заключение. Применение акушерского pessaria с микронизированным прогестероном позволило снизить риски истмико-цервикальной недостаточности на 7,7 % по сравнению с пациентками, получавшими терапию только микронизированным прогестероном, и на 17,1 % по сравнению с беременными, не получавшими терапии.

Ключевые слова: акушерский pessarium, истмико-цервикальная недостаточность, невынашивание, многоплодная беременность, преждевременные роды, прогестерон

Статья поступила: 19.11.2021
Статья принята: 13.05.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Белинина А.А., Баринев С.В., Кадцина Т.В., Колядо О.В., Молчанова И.В. Роль акушерского pessaria и микронизированного прогестерона в снижении частоты ранних преждевременных родов у беременных с многоплодием. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 22-29. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.3

THE ROLE OF OBSTETRIC PESSARY AND MICRONIZED PROGESTERONE IN EARLY PRETERM BIRTH PREVENTION IN PATIENTS WITH MULTIPLE PREGNANCY

Belinina A.A.¹,
Barinov S.V.²,
Kadtsyna T.V.²,
Kolyado O.V.¹,
Molchanova I.V.¹

¹ Altay State Clinical Perinatal Centre
(Fomina str. 154, Barnaul 656045,
Russian Federation)

² Omsk State Medical University
(Lenina str. 12, Omsk 644099,
Russian Federation)

Corresponding author:
Antonina A. Belinina,
e-mail: antonina_belinina@mail.ru

ABSTRACT

Background. Multiple pregnancy is a well-established risk factor for preterm birth. Prevention of early termination of pregnancy is a priority problem in obstetric practice.

The aim. To evaluate the role of an obstetric pessary and micronized progesterone in the prevention of early preterm labor in patients with multiple pregnancies.

Materials and methods. A prospective controlled study was conducted with the inclusion of 146 pregnant women with multiple pregnancies, which, depending on the methods of treatment, were divided into three groups: Group I (n = 67) – pregnant women who received micronized progesterone in combination with an obstetric pessary; Group II (n = 57) included women who received micronized progesterone; Group III (n = 22) consisted of patients with multiple pregnancies without therapy.

Results. In Group I, the complex of an obstetric pessary and micronized progesterone allowed to reduce the frequency of preterm birth by 2.3 times ($p = 0.008$) in comparison with Group III, the frequency of births at gestational age ≤ 34 weeks – by 8.1 times ($p = 0.005$) in compared with Group III and 2.7 times ($p < 0.01$) compared with Group II. In 70.4 % of pregnant women, the use of a complex of an obstetric pessary with micronized progesterone made it possible to prevent the formation of isthmio-cervical insufficiency, which, according to sonography, was expressed in the dynamics of the utero-cervical angle towards a more obtuse one.

Conclusion. The use of an obstetric pessary with micronized progesterone made it possible to reduce the risks of isthmio-cervical insufficiency by 7.7 % compared with patients who received only micronized progesterone therapy, and by 17.1 % compared with pregnant women who did not receive therapy.

Key words: obstetric pessary, isthmio-cervical insufficiency, miscarriage, multiple pregnancy, preterm birth, progesterone

Received: 19.11.2021
Accepted: 13.05.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Belinina A.A., Barinov S.V., Kadtsyna T.V., Kolyado O.V., Molchanova I.V. The role of obstetric pessary and micronized progesterone in early preterm birth prevention in patients with multiple pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 22-29. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.3

ВВЕДЕНИЕ

Пациентки с многоплодной беременностью относятся к группе высокого риска акушерских и перинатальных осложнений [1, 2]. Число женщин с многоплодием растёт повсеместно, особенно в странах с высоким уровнем оказания медицинской помощи, где активно используются вспомогательные репродуктивные технологии [3, 4]. По данным зарубежных исследований, одна треть рождающихся двоен – результат вспомогательных репродуктивных технологий, в связи с чем в будущем можно прогнозировать лишь рост многоплодия [5, 6].

Частота гестационных осложнений, таких как гипертензия, вызванная беременностью, гестационный сахарный диабет, многоводие, преждевременный разрыв плодных оболочек, отслойка плаценты при многоплодной беременности, остаётся высокой [7–9], что обуславливает у данной группы беременных высокий риск спонтанных и индуцированных преждевременных родов.

В исследовании американских ученых частота преждевременных родов среди многоплодных беременностей составляет 59 %, частота родов до 32 недель беременности – 11 %; 55 % новорождённых двоен рождаются с низкой и 10 % – с очень низкой массой тела [10]. Младенческая смертность среди многоплодной беременности значительно выше, чем при одноплодной, в первую очередь также по причине недоношенности [11].

Несмотря на важность проблемы до сих пор отсутствует персонализированный подход к профилактике, мониторингу преждевременных родов и улучшению акушерских исходов у данной группы пациенток [12, 13].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность применения акушерского пессария и микронизированного прогестерона в снижении частоты ранних преждевременных родов у беременных с многоплодием.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В КГБУЗ «Алтайский клинический перинатальный центр» в период 2018–2020 гг. проведено проспективное, контролируемое исследование, в которое было включено 146 беременных с многоплодной беременностью, которые в зависимости от методов лечения они были разделены на 3 группы. Группа I ($n = 67$) была представлена беременными, которые получали микронизированный прогестерон вагинально в дозе 200 мг/сут. с 7 недель беременности и далее; в сроке 14–24 недели данным пациенткам был установлен акушерский пессарий (при длине шейки ≥ 25 мм). В группу II ($n = 57$) были включены женщины, которые получали микронизированный прогестерон вагинально в дозе 200 мг/сут. с 7 недель беременности без последующего наложения пессария. Группу III ($n = 22$) составили пациентки с многоплодной беременностью без медикаментозной терапии.

Критерии включения в исследование: возраст 18–45 лет; многоплодная беременность; отсутствие признаков истмико-цервикальной недостаточности до 14 недель беременности по данным ультразвуковой цервикометрии.

Критериями исключения явились: экстрагенитальные заболевания в стадии декомпенсации; преждевременный разрыв плодных оболочек; хромосомные нарушения или врожденные пороки развития плода/плодов; специфические осложнения многоплодной беременности (синдром фето-фетальной трансфузии, обратная артериальная перфузия, синдром анемии-полицитемии, антенатальная гибель одного из плодов).

В процессе наблюдения за пациентками при ультразвуковом исследовании, помимо стандартной трансвагинальной цервикометрии, выполненной в скрининговые сроки, проводилось измерение переднего маточно-цервикального угла (ПЦМУ) в сроках 16–20 недель, 22–24 недели и 28–34 недели. За исследуемый передний маточно-цервикальный угол принимался угол, образованный кверху между шейкой матки и нижним сегментом матки, созданный двумя линиями: первой линией – между точками внутреннего и наружного зева цервикального канала и второй линией, проведённой вдоль передней стенки нижнего сегмента матки (по наружному краю передней стенки матки) и точкой внутреннего зева шейки матки (рис. 1). Исследование выполнялось на аппарате Voluson E10 Expert Ultrasound System (GE Healthcare, США).

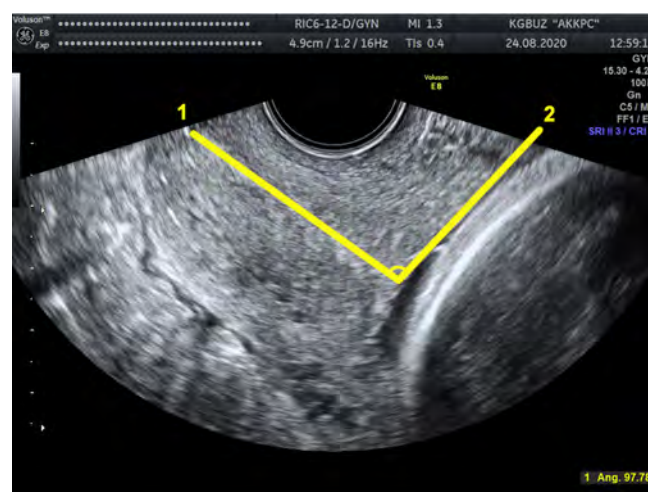


РИС. 1.

Методика измерения переднего маточно-цервикального угла: 1 – линия, проведённая между точками внутреннего и наружного зева цервикального канала; 2 – линия, проведённая вдоль передней стенки матки (по наружному краю) и точкой внутреннего зева шейки матки

FIG. 1.

Method of measuring of the anterior uterocervical angle: 1 – line drawn between the points of the internal and external os of the cervical canal; 2 – line drawn along the anterior wall of the uterus (along the outer edge) and the point of the internal os of the cervix

Статистический анализ данных проводился по общепринятым методам вариационной статистики на персо-

нальном компьютере при помощи пакета программ прикладной статистики IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM Corp., США). Сравнение количественных и порядковых переменных проводилось с применением непараметрических критериев Манна – Уитни, Уилкоксона. В расчетах был использован критерий χ^2 с поправкой Йетса, отношение шансов. За критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ анамнестических данных показал, что статистически значимых различий по возрасту на момент наступления беременности, применению вспомогательных репродуктивных технологий, типу плацентации и амниальности, паритету, гинекологическому и соматическому анамнезу выявлено не было (табл. 1).

Большинство женщин находились в среднем репродуктивном возрасте – $29,2 \pm 1,7$, $30,3 \pm 4,3$ и $31,6 \pm 1,5$ года в I, II и III группах соответственно. Беременность в результате вспомогательных репродуктивных технологий наступила в 34,9 % случаев (в группе I – в 37 % (25/67); в группе II – в 31 % (21/57); в группе III – в 23 % (5/22)). Этой категории женщин в 100 % случаев проводилась индивидуальная прегравидарная подготовка, тогда как у пациенток со спонтанной многоплодной беременностью – только 3 пациенткам в группах I и II (4,48 % и 5,26 % соответственно). При анализе многоплодия по типу плацентации и амниальности установлено, что 60,2 % беременных имели дихориальную, диамниотическую двойню; 37,6 % – монохориальную, диамниотическую; 2,1 % – монохориальную, моноамниотическую двойню. Дихориальная, диамниотическая двойня в 59,7 % (40/67) случаев была в группе I, в 63,2 % (36/57) – в группе II, в 54,5 % (12/22) – в группе III. Монохориальная диамниотическая двойня встречалась у 37,3 % (25/67) пациенток группы I, у 35,1 % (20/57) пациенток группы II и у 45,5 % (10/22) пациенток группы III. Монохориальная моноамниотическая двойня выявлена только у женщин групп I и II (2,9 % (2/57) и 1,7 % (1/22) соответственно).

При оценке гинекологического анамнеза у 22,4 % (15/67) беременных группы I выявлен хронический эндометрит, в группе II – в 19,2 % (11/57) случаев, в группе III – в 22,7 % (5/22). Операции на придатках до наступления беременности перенесли 18,8 % (12/67) женщин группы I, 28,8 % (16/57) – группы II, 22,7 % (5/22) – группы III. Миома матки выявлена у 11,9 % (8/67) женщин группы I, 14,03 % (8/57) – группы II, 9,1 % (2/22) – группы III.

Анализ паритета показал, что в большинстве случаев всем пациенткам с многоплодием предстояли повторные роды: 73,1 % (49/67) – в группе I, 80,7 % (46/57) – в группе II, 77,2 % (17/22) – в группе III. Причем каждая третья женщина имела рубец на матке после кесарева сечения: 32,6 % (16/49), 30,4 % (16/46) и 29,4 % (5/17) соответственно.

При оценке соматического здоровья наиболее часто выявлялись хроническая артериальная гипертензия (40,3 %, 33,4 % и 27,2 % в группах I, II и III соответствен-

но), хронический пиелонефрит (19,4 %, 15,7 % и 13,6 % соответственно) и ожирение (16,4 %, 19,2 % и 13,6 % соответственно).

Анализ течения беременности показал, что истмико-цервикальная недостаточность (укорочение шейки ≤ 25 мм по данным ультразвуковой цервикометрии) сформировалась у 29,4 % пациенток с многоплодием. В 23,8 % (16/67) случаев оно было выявлено в группе I, в 31,5 % (18/57) – в группе II, в 40,9 % (9/22) – в группе III ($p = 0,017$). Средний срок укорочения шейки ≤ 25 мм у пациенток группы I составил $30,1 \pm 0,6$ недели, у пациенток группы II – $26,4 \pm 1,3$ недели, у пациенток группы III – $23,4 \pm 0,4$ недели ($p = 0,011$).

Статистических различий в величине переднего маточно-цервикального угла (ПМЦУ) у наблюдаемых пациенток в сроке 16–20 недель беременности выявлено не было. Среднее значение ПМЦУ у пациенток группы I составило $103,3 \pm 2,3^\circ$ (89° ; $105,1^\circ$); у пациенток группы II – $101,2 \pm 4,1^\circ$ (92° ; 103°); у пациенток группы III – $101,5 \pm 3,7^\circ$ (91° ; 103°) ($p_{1,2,3} > 0,05$) (табл. 2).

После установки акушерского пессария в группе I произошло изменение ПМЦУ в сторону более тупого, динамика изменения была следующей. В сроке 16–20 недель беременности угол составлял $103,3 \pm 2,3^\circ$ (89° ; $105,1^\circ$); после установки акушерского пессария в сроке до 24 недель ПМЦУ составил $108,2 \pm 3,1^\circ$ ($94,5^\circ$; 109°), что не было статистически значимым. К 28–34-й неделям угол увеличился до 111 (98 ; 102)° ($p_{1-3} = 0,01$), что статистически значимо отличалось от величины ПМЦУ в сроке 16–20 недель. В группах II и III сравнения статистически значимого изменения ПМЦУ в динамике не произошло. При попарном межгрупповом сравнении величин ПМЦУ установлено, что в сроке 22–24 недели величины ПМЦУ в группах I и II и группах I и III статистически значимо различались ($p = 0,02$ и $p = 0,01$ соответственно).

Частота недонашивания беременности в группе I составила 25,4 % (17/67) случаев, в группе II – 33,3 % (19/57), в группе III – 59,1 % (13/22) ($p_{1-3} = 0,008$). Анализ структуры преждевременных родов у пациенток с многоплодием показал, что сверххранние роды ≤ 30 недель были только у пациенток групп II и III (0 %, 1,8 % и 18,2 % соответственно), беременность в сроке < 30 –34 недель также чаще заканчивалась у пациенток групп II и III (4,4 %, 12,3 % и 36,4 % соответственно). Роды в период гестации с 34 до 36,6 недели произошли у 14 (20,8 %) пациенток группы I, 11 (19,2 %) пациенток группы II и 1 (4,5 %) пациентки группы III (табл. 3).

Средний срок родоразрешения у пациенток группы I составил $35,6 \pm 1,2$ недели, у пациенток группы II – $33,2 \pm 0,7$ недели, у пациенток группы III – $28,6 \pm 0,6$ недели, что объясняет неблагоприятные перинатальные исходы у этих пациенток.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Проведённое нами исследование показало, что многоплодная беременность относится к группе высокого

ТАБЛИЦА 1
ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКТИВНОГО
И СОМАТИЧЕСКОГО АНАМНЕЗА

TABLE 1
FEATURES OF THE REPRODUCTIVE AND SOMATIC
HISTORY

Показатели	Группа I (n = 67)	Группа II (n = 57)	Группа III (n = 22)	p
Средний репродуктивный возраст	29,2 ± 1,7	30,3 ± 4,3	31,6 ± 1,5	$p_{1-2} = 0,98$ $p_{2-3} = 0,86$ $p_{1-3} = 0,83$
В результате вспомогательных репродуктивных технологий, n (%)	25 (37 %)	21 (31 %)	5 (23 %)	$p_{1-2} = 0,99$ $p_{2-3} = 0,29$ $p_{1-3} = 0,30$
Прегравидарная подготовка, n (%)	3 (4,48 %)	3 (5,26 %)	0	$p_{1-2} = 0,99$ $p_{2-3} = 0,55$ $p_{1-3} = 1,00$
<i>Тип плацентации, амниальности</i>				
Дихориальная диамниотическая двойня, n (%)	40 (59,7 %)	36 (63,2 %)	12 (54,5 %)	$p_{1-2} = 0,71$ $p_{2-3} = 0,61$ $p_{1-3} = 0,80$
Монохориальная диамниотическая двойня, n (%)	25 (37,3 %)	20 (35,1 %)	10 (45,5 %)	$p_{1-2} = 0,85$ $p_{2-3} = 0,44$ $p_{1-3} = 0,62$
Монохориальная моноамниотическая двойня, n (%)	2 (2,9 %)	1 (1,7 %)	0	$p_{1-2} = 0,99$ $p_{2-3} = 0,99$ $p_{1-3} = 0,99$
<i>Гинекологический анамнез</i>				
Хронический эндометрит, n (%)	15 (22,4 %)	11 (19,2 %)	5 (22,7 %)	$p_{1-2} = 0,85$ $p_{2-3} = 0,85$ $p_{1-3} = 0,99$
Операции на придатках, n (%)	12 (18,8 %)	16 (28,8 %)	5 (22,7 %)	$p_{1-2} = 0,20$ $p_{2-3} = 0,78$ $p_{1-3} = 0,76$
Миома матки, n (%)	8 (11,9 %)	8 (14,03 %)	2 (9,1 %)	$p_{1-2} = 0,79$ $p_{2-3} = 0,72$ $p_{1-3} = 1,00$
<i>Паритет родов</i>				
Повторные роды, n (%)	49 (73,1 %)	46 (80,7 %)	17 (77,2 %)	$p_{1-2} = 0,39$ $p_{2-3} = 0,76$ $p_{1-3} = 0,99$
Рубец на матке, n (%)	16 (32,6 %)	16 (30,4 %)	5 (29,4 %)	$p_{1-2} = 0,39$ $p_{2-3} = 0,68$ $p_{1-3} = 0,99$
<i>Соматическое здоровье</i>				
Хроническая артериальная гипертензия, n (%)	27 (40,3 %)	19 (33,4 %)	6 (27,2 %)	$p_{1-2} = 0,46$ $p_{2-3} = 0,79$ $p_{1-3} = 0,31$
Хронический пиелонефрит, n (%)	13 (19,4 %)	9 (15,7 %)	3 (13,6 %)	$p_{1-2} = 0,64$ $p_{2-3} = 0,99$ $p_{1-3} = 0,75$
Ожирение, n (%)	11 (16,4 %)	11 (19,2 %)	3 (13,6 %)	$p_{1-2} = 0,81$ $p_{2-3} = 0,75$ $p_{1-3} = 0,99$

ТАБЛИЦА 2
ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ПМЦУ У ПАЦИЕНТОК
В НАБЛЮДАЕМЫХ ГРУППАХ, °

TABLE 2
DYNAMICS OF CHANGES IN ANTERIOR UTEROCERVICAL
ANGLE IN PATIENTS IN THE OBSERVED GROUPS, °

Группы	ПМЦУ, 16–20 недель 1	ПМЦУ, 22–24 недели 2	ПМЦУ, 28–34 недели 3	<i>p</i>
Группа I (<i>n</i> = 67)	103,3 ± 2,3°	108,2 ± 3,1°	111,7 ± 4,2°	$p_{1-2} = 0,89$ $p_{2-3} = 0,75$ $p_{1-3} = 0,01$
Группа II (<i>n</i> = 57)	101,2 ± 4,1°	102,1 ± 2,1°	101,8 ± 7,4°	$p_{1-2} = 0,99$ $p_{2-3} = 0,97$ $p_{1-3} = 0,99$
Группа III (<i>n</i> = 22)	101,5 ± 3,7°	98,3 ± 3,2°	96,1 ± 2,8°	$p_{1-2} = 0,86$ $p_{2-3} = 0,89$ $p_{1-3} = 0,93$

ТАБЛИЦА 3
СТРУКТУРА РОДОВ ПО ГЕСТАЦИОННОМУ СРОКУ
И ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ У БЕРЕМЕННЫХ
С МНОГОПЛОДИЕМ

TABLE 3
STRUCTURE OF LABOR BY GESTATIONAL AGE
AND PERINATAL OUTCOMES IN PREGNANT WOMEN
WITH MULTIPLE PREGNANCIES

Показатели	Группа I (<i>n</i> = 67)	Группа II (<i>n</i> = 57)	Группа III (<i>n</i> = 22)	<i>p</i>
Частота недонашивания беременности, <i>n</i> (%)	17 (25,4 %)	19 (33,3 %)	13 (59,1 %)	$p_{1-2} = 0,43$ $p_{2-3} = 0,04$ $p_{1-3} = 0,008$
Роды ≤ 30 недель, <i>n</i> (%)	0 %	1 (1,8 %)	4 (18,2 %)	$p_{1-2} = 0,46$ $p_{2-3} = 0,019$ $p_{1-3} = 0,0004$
Роды в 30–34 недели, <i>n</i> (%)	3 (4,5 %)	7 (12,3 %)	8 (36,4 %)	$p_{1-2} = 0,18$ $p_{2-3} = 0,02$ $p_{1-3} = 0,0004$
Роды в 34–36,6 недели, <i>n</i> (%)	14 (20,8 %)	11 (19,2 %)	1 (4,5 %)	$p_{1-2} = 1,00$ $p_{2-3} = 0,16$ $p_{1-3} = 0,10$
Перинатальные исходы				
Показатели	Группа I (134/67)	Группа II (114/57)	Группа III (44/22)	<i>p</i>
7–10 баллов по шкале Апгар, <i>n</i> (%)	134 (100 %)	105 (92,1 %)	19 (43,2 %)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,035$
4–6 баллов по шкале Апгар, <i>n</i> (%)	0	7 (6,2 %)	18 (40,9 %)	$p_{1-2} = 0,004$ $p_{2-3} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$
Менее 4 баллов по шкале Апгар, <i>n</i> (%)	0	2 (1,7 %)	7 (15,9 %)	$p_{1-2} = 0,21$ $p_{2-3} = 0,002$ $p_{1-3} < 0,001$
Вес новорожденных, г	2339 ± 521	2019 ± 412,1	1158 ± 209,1	$p_{1-2} = 0,46$ $p_{2-3} = 0,003$ $p_{1-3} < 0,001$
Ранняя неонатальная смертность, <i>n</i> (%)	0	0	1 (2,3 %)	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,28$
Поздняя неонатальная смертность, <i>n</i> (%)	0	0	4 (9,1 %)	$p_{2-3} = 0,005$ $p_{1-3} < 0,002$

риска по гестационным осложнениям. Поэтому понимание рисков для матери и плода, связанных с многоплодной беременностью, должно занимать центральное место во всей акушерской практике. Способность предвидеть проблемы и знать, как реагировать на возникающие осложнения, является ключевой для правильного ведения таких беременных женщин [14]. В частности, у данной группы беременных имеет место большое число неблагоприятных перинатальных исходов: перинатальная смерть; преждевременные роды < 34 недель; гипертензионные расстройства беременности; госпитализация в неонатальное отделение [15–19].

В настоящее время изучается роль прогестерона в профилактике невынашивания беременности при многоплодии. Так R. Romero et al. [20], которые отметили, что введение вагинального прогестерона бессимптомным женщинам с беременностью двойней и сонографической короткой шейкой матки в середине триместра снижает риск преждевременных родов на сроках < 30–35 недель беременности, неонатальной смертности и некоторых показателей неонатальной заболеваемости без каких-либо очевидных пагубных последствий для развития нервной системы в детстве. По нашим данным, профилактическое применение вагинального прогестерона позволило снизить частоту преждевременных родов в 1,7 раза ($p = 0,008$), родов в гестационном сроке ≤ 34 недель – в 2,95 раза в сравнении с группой III ($p = 0,02$); перинатальных повреждений новорождённых – в 7,1 раза ($p < 0,001$)

Учитывая частое формирование истмико-цервикальной недостаточности, в исследованиях многих авторов определённый интерес вызывает применение акушерского пессария в комплексе с прогестероном. Так, по мнению ряда авторов, комплексная профилактика невынашивания при многоплодной беременности с помощью разгрузки акушерских пессариев в сочетании с препаратами микронизированного прогестерона позволяет продлить беременность, предотвратить развитие недоношенности, способствует улучшению перинатальных показателей [21]. По нашим данным, профилактическая установка акушерского пессария, дополненная введением вагинального микронизированного прогестерона, у пациенток с многоплодием привела к статистически значимому снижению частоты преждевременных родов – в 2,3 раза ($p = 0,008$) в сравнении с группой III, родов в гестационном сроке ≤ 34 недель – в 8,1 раза в сравнении с группой III ($p = 0,005$) и в 2,7 раза в сравнении с группой II ($p < 0,01$). Оценка показателя маточно-цервикального угла, измеряемого ультразвуком, для прогнозирования спонтанных преждевременных родов у пациенток с многоплодием в настоящее время изучена недостаточно. За последние годы отмечается определённый интерес к изучению изменений маточно-цервикального угла у беременных группы риска по невынашиванию и воздействия на него установленного акушерского пессария, способного снижать давление на нижний сегмент матки, тем самым противодействуя преждевременному раскрытию шейки матки. Данные ряда авторов показывают различные формы маточно-цервикальных углов после установления пессария в зависимости от способа его измерения – переднего

или заднего [22]. В ранее проведённом нами исследовании установка акушерского пессария как при одноплодной, так и при многоплодной беременности способствовала формированию тупого переднего маточно-цервикального угла и снижала частоту преждевременных родов [23]. В данном исследовании у пациенток с многоплодием во всех группах статистически значимых различий в величине переднего маточно-цервикального угла в сроке 16–20 недель беременности выявлено не было. После установки акушерского пессария в группе I с комплексом «пессарий + прогестерон» произошло изменение ПМЦУ в сторону более тупого – с $103,3 \pm 2,3^\circ$ (89° ; $105,1^\circ$) до 111 (98 ; 102°) в сроки 28–34 недель ($p = 0,03$). В группах II и III сравнения значимого статистически изменения ПМЦУ в динамике не произошло. При попарном межгрупповом сравнении величина ПМЦУ в сроке 22–24 недели статистически значимо отличалась в группах I и II и группах I и III ($p = 0,02$ и $p = 0,01$ соответственно).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Профилактическое применение комплекса акушерского пессария с микронизированным прогестероном у беременных с многоплодием имеет высокую эффективность по снижению частоты преждевременных родов до 34 недель и позволяет в 70,4 % случаев закончить беременность в доношенном сроке. У пациенток этой группы, по данным сонографии, установка акушерского пессария позволила предотвратить формирование истмико-цервикальной недостаточности, что выражалось в изменении маточно-цервикального угла в сторону тупого с увеличением срока гестации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ananth CV, Chauhan SP. Epidemiology of twinning in developed countries. *Semin Perinatol.* 2012; 36(3): 156-161.
2. D'Antonio F, Odibo AO, Prefumo F, Khalil A, Buca D, Flacco ME, et al. Weight discordance and perinatal mortality in twin pregnancy: Systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018; 52(1): 11-23. doi: 10.1002/uog.18966
3. Kulkarni AD, Jamieson DJ, Jones HW Jr, Kissin DM, Gallo MF, Macaluso M, et al. Fertility treatments and multiple births in the United States. *N Engl J Med.* 2013; 369(23): 2218-2225. doi: 10.1056/NEJMoa1301467
4. D'Alton M, Breslin N. Management of multiple gestations. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020; 150(1): 3-9. doi: 10.1002/ijgo.13168
5. Hamilton BE, Martin JA, Osterman MJ, Curtin SC, Matthews TJ. Births: Final data for 2014. *Natl Vital Stat Rep.* 2015; 64(12): 1-64.
6. Feng B, Zhai J, Cai Y. Effect of twin pregnancy chorionic properties on maternal and fetal outcomes. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2018; 57(3): 351-354. doi: 10.1016/j.tjog.2018.03.002

7. Hayes-Ryan D, Meaney S, Hodnett A, Geisler M, O'Donoghue K. The maternal and perinatal implications of hypertensive disorders of pregnancy in a multiple pregnancy cohort. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2020; 99(4): 525-536. doi: 10.1111/aogs.13774
8. Liem SMS, van Pampus MG, Mol BWJ, Bekedam DJ. Cervical pessaries for the prevention of preterm birth: A systematic review. *Obstet Gynecol Int*. 2013; 2013: 576723. doi: 10.1155/2013/576723
9. McLennan AS, Gyamfi-Bannerman C, Ananth CV, Wright JD, Siddiq Z, D'Alton ME, et al. The role of maternal age in twin pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2017; 217(1): 80.e1-80.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2017.03.002
10. Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK. Three decades of twin births in the United States, 1980–2009. *NCHS Data Brief*. 2012; 80: 1-8.
11. Mendoza M, Ribera I, Maiz N, Goya M, Carreras E. Cervical modifications after pessary placement in singleton pregnancies with maternal short cervical length: 2D and 3D ultrasound evaluation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019; 98: 1442-1449. doi: 10.1111/aogs.13647
12. Misra DP, Ananth CV. Infant mortality among singletons and twins in the United States during 2 decades: Effects of maternal age. *Pediatrics*. 2002; 110(6): 1163-1168.
13. SMFM Research Committee; Grantz KL, Kawakita T, Lu YL, Newman R, Berghella V, Caughey A. SMFM Special Statement. State of the science on multifetal gestations: Unique considerations and importance. *Am J Obstet Gynecol*. 2019; 221(2): B2-B12. doi: 10.1016/j.ajog.2019.04.013
14. Santana DS, Cecatti JG, Haddad SM, Parpinelli MA, Costa ML, Surita FG, et al. Severe maternal morbidity and perinatal outcomes of multiple pregnancy in the Brazilian Network for the Surveillance of Severe Maternal Morbidity. *Int J Gynaecol Obstet*. 2017; 139(2): 230-238. doi: 10.1002/ijgo.12287
15. Romanenko TG, Sulimenko OM. Prevention of preeclampsia in women with multiple pregnancy after assisted reproduction. *Wiad Lek*. 2020; 73(3): 494-497.
16. McClure EM, Saleem S, Goudar SS, Moore JL, Garces A, Esamai F, et al. Stillbirth rates in low-middle income countries 2010–2013: A population-based, multi-country study from the Global Network. *Reprod Health*. 2015; 90(12): 1379-1385. doi: 10.1186/1742-4755-12-S2-S7
17. Kalafat E, Thilaganathan B, Papageorgiou A, Bhide A, Khalil A. Significance of placental cord insertion site in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018; 52(3): 378-384. doi: 10.1002/uog.18914
18. Townsend R, Khalil A. Fetal growth restriction in twins. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018; 49: 79-88. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.004
19. Murray SR, Stock SJ, Cowan S, Cooper ES, Norman JE. Spontaneous preterm birth prevention in multiple pregnancy. *Obstet Gynaecol*. 2018; 20(1): 57-63.
20. Romero R, Conde-Agudelo A, El-Refaie W, Rode L, Briozot ML, Cetingoz E, et al. Vaginal progesterone decreases preterm birth and neonatal morbidity and mortality in women with a twin gestation and a short cervix: An updated meta-analysis of individual patient data. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017; 49(3): 303-314. doi: 10.1002/uog.17397
21. Boiko VI, Nikitina IM, Babar TV, Boiko AV. The problem of miscarriage in multiple pregnancy. *Wiad Lek*. 2018; 71(7): 1195-1199.
22. Dang VQ, Nguyen LK, Pham TD, He YTN, Vu KN, Phan MTN, et al. Pessary compared with vaginal progesterone for the prevention of preterm birth in women with twin pregnancies and cervical length less than 38 mm: A randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2019; 133(3): 459-467.
23. Barinov SV, Di Renzo GC, Belinina AA, Koliado OV, Remneva OV. Clinical and biochemical markers of spontaneous preterm birth in singleton and multiple pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 Feb 24; 1-6. doi: 10.1080/14767058.2021.1892064

Сведения об авторах

Белинина Антонина Анатольевна – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача, КГБУЗ «Алтайский краевой клинический перинатальный центр», e-mail: antonina_belina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1038-3661>

Баринов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 2, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: barinov_omsk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0357-7097>

Кадцина Татьяна Владимировна – доктор медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 2, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tatiavlad@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0348-5985>

Колыдо Ольга Викторовна – заведующая отделением, КГБУЗ «Алтайский краевой клинический перинатальный центр», e-mail: kolyado.ov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5812-4925>

Молчанова Ирина Владимировна – кандидат медицинских наук, главный врач, КГБУЗ «Алтайский краевой клинический перинатальный центр», e-mail: molcanova2008@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0741-8974>

Information about the authors

Antonina A. Belinina – Cand. Sc. (Med.), Deputy Head Physician, Altay State Clinical Perinatal Centre, e-mail: antonina_belina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1038-3661>

Sergey V. Barinov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2, Omsk State Medical University, e-mail: barinov_omsk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0357-7097>

Tatiana V. Kadtsyna – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2, Omsk State Medical University, e-mail: tatiavlad@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0348-5985>

Olga V. Kolyado – Head of the Department, Altay State Clinical Perinatal Centre, e-mail: kolyado.ov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5812-4925>

Irina V. Molchanova – Cand. Sc. (Med.), Head Physician, Altay State Clinical Perinatal Centre, e-mail: molcanova2008@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0741-8974>

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

СРАВНЕНИЕ СОСТАВА И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОБИОМА РУБЦА СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В ЯМАЛО-НЕНЕЦКОМ И НЕНЕЦКОМ АВТОНОМНЫХ ОКРУГАХ РОССИЙСКОЙ АРКТИКИ

Пономарева Е.С.¹,
Йылдырым Е.А.^{1,2},
Филиппова В.А.^{1,2},
Ильина Л.А.^{1,2},
Дубровин А.В.¹,
Лаптев Г.Ю.¹,
Калиткина К.А.^{1,2},
Дунашев Т.П.¹,
Тюрина Д.Г.¹

¹ ООО «БИОТРОФ» (196602,
г. Санкт-Петербург, г. Пушкин,
ул. Малиновская, 8, лит. А, пом. 7-Н,
Россия)

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный аграрный университет»
(196601, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин,
Петербургское шоссе, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Екатерина Сергеевна Пономарева,
e-mail: ololoven@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Адаптивная способность северных оленей к суровым условиям Российской Арктики не определяется исключительно геномом макроорганизма и, безусловно, включает обширный генетический и метаболический репертуар микробиома.

Целью исследования было сравнение таксономических и прогнозируемых метаболических профилей микробиома рубца взрослых особей северных оленей, обитающих на естественных пастбищах Ямало-Ненецкого и Ненецкого автономных округов Российской Федерации.

Материалы и методы. Для отбора проб рубца были проведены экспедиции в Ямало-Ненецкий и Ненецкий АО Российской Арктики в 2017 г. Был проведен отбор образцов, которые представляли собой содержимое рубца от клинически здоровых особей северного оленя (не менее 3-кратной повторности среди животных-аналогов). Для анализа микробиоты рубца животных и определения метаболических профилей было проведено 16S rRNA NGS-секвенирование на приборе MiSeq (Illumina, США). Биоинформатический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения QIIME2 ver. 2020.8. Фильтрацию шумовых последовательностей проводили методом DADA2. Для анализа таксономии использовали справочную базу данных Silva 138. Реконструкцию и прогнозирование функционального содержания метагенома осуществляли при помощи программного комплекса PICRUSt2 (v. 2.3.0).

Результаты. При проведении NGS-секвенирования было изучено в общей сложности 223 768 последовательностей гена 16S rPHK микробиома рубца северных оленей. Выявлены существенные ($p \leq 0,05$) различия между группами по 10 бактериальным филумам и суперфилумам: Actinobacteriota, Spirochaetes, Chloroflexi, Verrucomicrobia, Bdellovibrionota, Synergistetes, Fusobacteriota, Muxococcota, Cyanobacteria, Campilobacterota. Результаты реконструкции и прогнозирования функционального содержания метагенома с применением биоинформатического анализа PICRUSt2 позволили выявить 328 потенциальных метаболических пути. Отличия между группами выявлены по 16 прогнозируемым метаболическим путям, среди которых доминировали пути биосинтеза хлорофиллида и аминокислот.

Ключевые слова: микробиота, рубец, метаболические пути, секвенирование нового поколения, Rangifer tarandus

Для цитирования: Пономарева Е.С., Йылдырым Е.А., Филиппова В.А., Ильина Л.А., Дубровин А.В., Лаптев Г.Ю., Калиткина К.А., Дунашев Т.П., Тюрина Д.Г. Сравнение состава и метаболического потенциала микробиома рубца северных оленей в Ямало-Ненецком и Ненецком автономных округах Российской Арктики. Acta biomedica scientifica. 2022; 7(3): 30-37. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.4

Статья получена: 15.03.2022

Статья принята: 19.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

COMPARISON OF THE COMPOSITION AND METABOLIC POTENTIAL OF THE REINDEER'S RUMEN MICROBIOME IN THE YAMAL-NENETS AND NENETS AUTONOMOUS DISTRICT OF THE RUSSIAN ARCTIC

Ponomareva E.S.¹,
Yildirim E.A.^{1,2},
Filippova V.A.^{1,2},
Ilna L.A.^{1,2},
Dubrowin A.V.¹,
Laptev G.Yu.¹,
Kalitkina K.A.^{1,2},
Dunyashev T.P.¹,
Tiurina D.G.¹

¹ LLC Biotrof (Malinovskaya str. 8, lit. A, St. Petersburg, Pushkin 196602, Russian Federation)

² Saint-Petersburg State Agrarian University (Petersburgskoye highway 2, Saint-Petersburg, Pushkin 196601, Russian Federation)

Corresponding author:
Ekaterina S. Ponomareva,
e-mail: ololoven@mail.ru

ABSTRACT

The adaptive ability of reindeer to the harsh conditions of the Russian Arctic is not determined solely by the genome of the macroorganism and, of course, includes an extensive genetic and metabolic repertoire of the microbiome.

The aim. To compare the taxonomic and predicted metabolic profiles of the rumen microbiome of adult reindeer living in the natural pastures of the Yamalo-Nenets and Nenets Autonomous districts of the Russian Federation.

Materials and methods. Expeditions to the Yamal-Nenets and Nenets Autonomous districts of the Russian Arctic in 2017 were carried out to take samples of the rumen. The contents of the rumen were taken from clinically healthy reindeer individuals (at least 3 times repetition). To analyze the animal scar microbiota and determine metabolic profiles, 16S rRNA NGS sequencing was performed on a MiSeq device (Illumina, USA). Bioinformatic data analysis was performed using QIIME2 software ver. 2020.8. The noise sequences were filtered by DADA2. Silva 138 reference database was used for taxonomy analysis. Reconstruction and prediction of the functional content of the metagenome was carried out using the software complex PICRUSt2 (v. 2.3.0).

Results. During NGS sequencing, a total of 223 768 sequences of the 16S rRNA gene of the reindeer scarring microbiome were studied. Significant ($p \leq 0.05$) differences between the groups in 10 bacterial phyla and superphyla were revealed: Actinobacteriota, Spirochaetes, Chloroflexi, Verrucomicrobia, Bdellovibrionota, Synergistetes, Fusobacteriota, Myxococcota, Cyanobacteria, Campilobacterota. The results of the reconstruction and prediction of the functional content of the metagenome using the PICRUSt2 bioinformatic analysis made it possible to identify 328 potential metabolic pathways. Differences between the groups were revealed in 16 predicted metabolic pathways, among which the pathways of chlorophyllide and amino acid biosynthesis dominated.

Key words: microbiota, rumen, metabolic pathways, Next Generation Sequencing, Rangifer tarandus

For citation: Ponomareva E.S., Yildirim E.A., Filippova V.A., Ilna L.A., Dubrowin A.V., Laptev G.Yu., Kalitkina K.A., Dunyashev T.P., Tiurina D.G. Comparison of the composition and metabolic potential of the reindeer's rumen microbiome in the Yamal-Nenets and Nenets autonomous district of the Russian Arctic. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 30-37. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.4

Received: 15.03.2022
Accepted: 19.04.2022
Published: 05.07.2022

ВВЕДЕНИЕ

Rangifer tarandus – единственный вид семейства Cervidae с циркумполярным распространением: в boreальных, тундровых, субарктических, арктических и горных районах Северной Азии, Северной Америки и Европы. Арктические регионы Российской Федерации, которые являются одной из ключевых частей ареала северных оленей, это одно из самых суровых мест на Земле. Территория характеризуется низкими температурами воздуха, а также низкой биомассой. Климат определяется наличием многолетней мерзлоты, близостью холодного Карского моря, для округа характерна длительная зима (до 8 месяцев), короткое лето, сильные ветры. Низкие температуры воздуха в ареалах обитания северных оленей – это один из вызовов окружающей среды, который также может оказывать влияние на метаболические и физиологические процессы. Кроме того, формирование ледяного наста зимой нередко подвергает оленей периодам острого голодания, что сдерживает рост популяции северных оленей в регионе.

Очевидно, что адаптивная способность животных к суровым условиям не определяется исключительно геномом макроорганизма и, безусловно, включает обширный генетический и метаболический репертуар микробиома. Проведены исследования, содержащие указания на то, что компоненты рациона северных оленей – лишайники [1] и высшие растения [2] – содержат достаточно высокие концентрации микотоксинов. По мнению одних исследователей [3], анаэробные микроорганизмы рубца северных оленей проявляют устойчивость и способность к детоксикации ксенобиотиков кормов. Однако результаты исследования, проведенного в 1964 г. [4], продемонстрировали возникновение интоксикации у северных оленей вследствие потребления лишайников.

Состав микробиоты пищеварительной системы может изменяться в зависимости от места обитания. Влияние окружающей среды на состав микробиома жвачных было продемонстрировано ранее Allison M.J. et al. [5] на примере коз. Различия заключались в присутствии в рубце бактерии *Synergistes jonesii*, способной разлагать токсическое соединение 3-гидрокси-4(1H)-пиридон (3,4 ДГП), которое вырабатывается из мимозина. Эта соединение содержится в листьях и семенах *Leucaena leucocephala* – бобового растения, которое часто используется в качестве кормового для жвачных животных на Гавайях.

Растительность в Ямало-Ненецком и Ненецком АО преимущественно тундровая, представлена карликовыми хвойными и лиственными деревьями, кустистыми лишайниками, многолетними травами. Тем не менее, ботанический состав кормовой базы пастбищ несколько варьирует. Поэтому представляет интерес понимание конкретных биологических и метаболических функций микробиома рубца северных оленей в контексте некоторых колебаний рациона и определённых климатических особенностей ареала.

Целью исследования было сравнение таксономических и прогнозируемых метаболических профи-

лей микробиома рубца взрослых особей северных оленей, обитающих на естественных пастбищах Ямало-Ненецкого и Ненецкого автономных округов Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были взрослые особи северных оленей *Rangifer tarandus*. Образцы содержимого рубца отбирали в летне-осенний период в 2017 г. в Ямало-Ненецком (посёлок Харп) автономном округе у 13 животных и Ненецком (посёлок Нельмин-Нос) автономном округе у 11 животных. Отбор проб рубцового содержимого (10–50 г) проводили с использованием стерильного зонда. Тотальную ДНК из исследуемых образцов выделяли с использованием набора Genomic DNA Purification Kit (Fermentas Inc., Литва). Амплификацию для последующего NGS-секвенирования (Veriti Thermal Cycler, Life Technologies, Inc., США) с эубактериальными праймерами (IDT) 343F (5'-CTCCTACGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), фланкирующими участок V3–V4 гена 16S рРНК. ПЦР проводили при следующих условиях: 95 °C в течение 3 мин; 95 °C в течение 30 секунд, 55 °C в течение 30 секунд и 72 °C в течение 30 секунд (необходимо для удлинения последовательности); данный цикл повторялся 25 раз; и окончательное удлинение при 72 °C на протяжении 5 мин. Секвенирование проводили при помощи реагентов для подготовки библиотек Nextera® XT IndexKit (Illumina Inc., США), для очистки ПЦР-продуктов Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Inc., США) и для проведения секвенирования MiSeq® ReagentKit v. 2 (500 cycle) (Illumina Inc., США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2 × 250 п. н. Метагеномное секвенирование (система MiSeq, Illumina Inc., США) осуществляли с набором MiSeq Reagent Kit v. 3 (Illumina Inc., США).

Биоинформатический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения QIIME2 ver. 2020.8 [6]. После импорта последовательностей в формате .fastq из секвенирующего прибора и создания необходимых для работы файлов сопоставления (содержащих метаданные изучаемых файлов), парные строки прочтений были выровнены. Далее последовательности фильтровали по качеству с использованием параметров настроек по умолчанию. Фильтрацию шумовых последовательностей проводили с помощью встроенного в пакет QIIME2 метода DADA2, включающего информацию о качестве в свою модель ошибок, что делает алгоритм устойчивым к последовательности более низкого качества, при этом использовали максимальную длину последовательности обрезки, равную 250 п. н. [7]. Реконструкцию и прогнозирование функционального содержания метагенома, семейств генов, ферментов проводили при помощи программного комплекса PICRUSt2 (v. 2.3.0) [8]. С программой работали согласно рекомендованному сценарию действий, все настройки использовали по умолчанию. OTU каждого образца расположили в соответствии с его содержанием, от боль-

шего к меньшему, значения преобразовали с помощью логарифмического преобразования Log2. Визуализацию данных и подсчёт статистических показатели проводили с помощью веб-приложения Phantasus v. 1.11.0 [9], в котором помимо основных методов визуализации и фильтрации поддерживаются методы на основе R, такие как кластеризация k-средних, анализ основных компонентов или анализ дифференциальных выражений с пакетом limma.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рисунке 1 представлены значения параметров α -биоразнообразия, рассчитанные на основе данных по секвенированию ампликонов гена 16S рРНК.

При сравнении групп по индексам Chao и Shannon оказалось, что их значения не имеют отличий ($p \geq 0,05$) у животных из различных экспериментальных групп.

Показано, что в составе микробиома рубцовой жидкости северных оленей обеих групп присутствовало 25

бактериальных филумов и суперфилумов (рис. 2). Среди них доминирующими были Bacteroidota, Firmicutes, Spirochaetota, Verrucomicrobiota, Patescibacteria, Proteobacteria, при этом самыми многочисленными были суперфилум Bacteroidota (от $32,11 \pm 2,3$ до $60 \pm 4,4$ %) и филум Firmicutes (от $30,03 \pm 3,4$ до $54,92 \pm 3,8$ %). Вероятно, их можно считать ядром бактериального микробиома северных оленей, потому что ранее также было показано [10, 11], что они доминируют в рубце практически у всех оленей. Важная функция Firmicutes и Bacteroidota – способность разлагать сложные полисахариды с последующим образованием короткоцепочечных жирных кислот.

Выявлены существенные ($p \leq 0,05$) различия между группами по 10 бактериальным филумам и суперфилумам: Actinobacteriota, Spirochaetes, Chloroflexi, Verrucomicrobia, Bdellovibrionota, Synergistetes, Fusobacteriota, Myxococcota, Cyanobacteria, Campilobacterota. Вероятно, изменения в составе микробиома между группами северных оленей из разных автономных округов могли быть связаны с ботаническим, биохимическим и микробиологическим со-

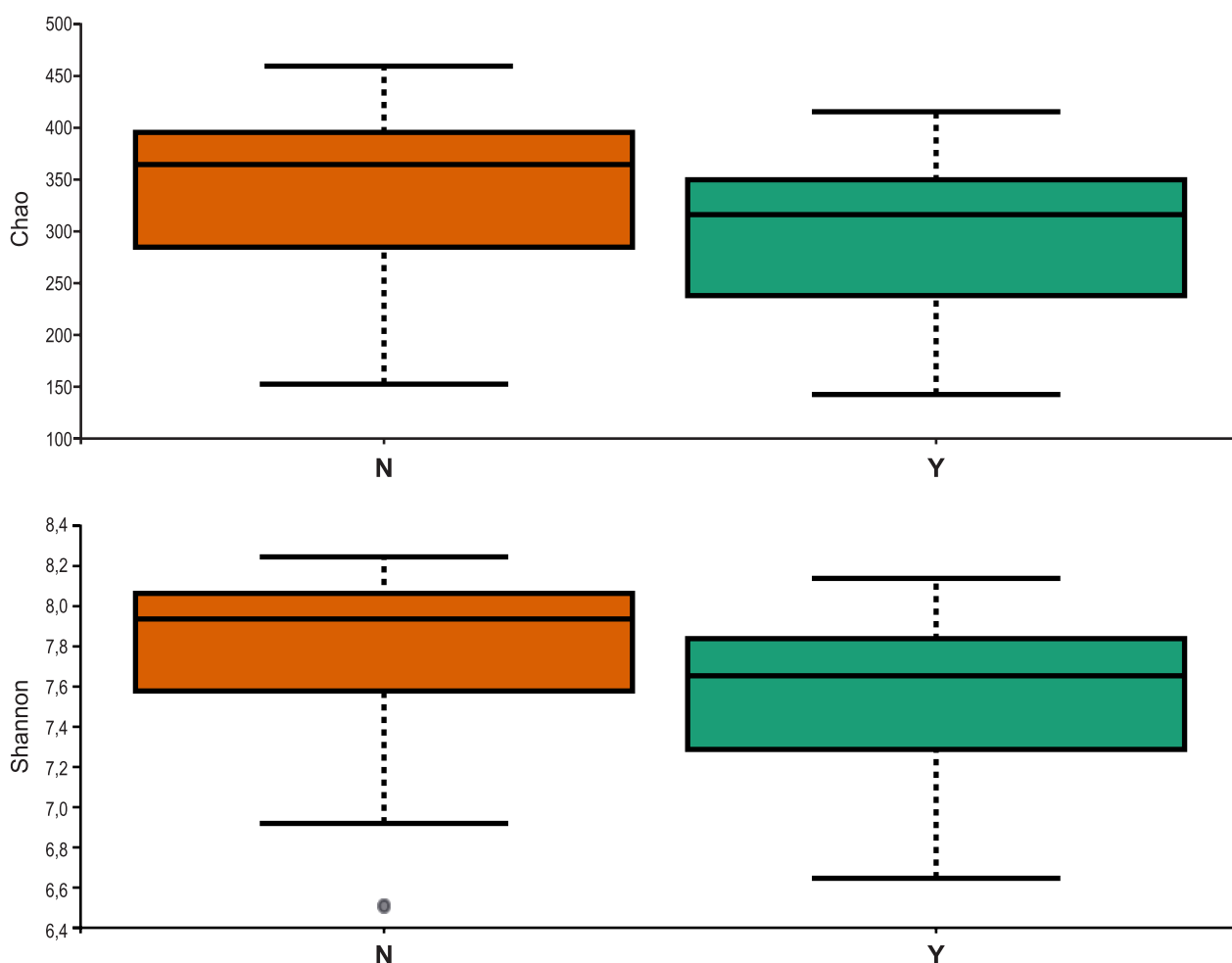


РИС. 1.
Сравнение абсолютных значений α -биоразнообразия индексов Chao и Shannon микробиома рубца северных оленей по группам; N – Ненецкий АО, Y – Ямало-Ненецкий АО

FIG. 1.
Comparison of the absolute values of α -biodiversity of the Chao, Shannon and Simpson indices of the reindeer rumen microbiome by groups; N – Nenets Autonomous District, Y – Yamalo-Nenets Autonomous District

ставом доступных кормов. Так, например, *Verrucomicrobia* являются природными космополитами, присутствуя в луговой ризосферной почве (35 %), а также в почвах хвойного леса [12].

Интересно, что представители таких таксонов, как *Fusobacteriota* и *Мухососсота*, полностью отсутствовали в составе микробиома северных оленей из Ямало-Ненецкого АО. Тогда как в структуре микробиоты рубца северных оленей из Ненецкого АО их содержание составляло $0,04 \pm 0,003$ и $0,008 \pm 0,0007$ % соответственно. Представитель рода *Fusobacterium* – *F. necrophorum* – является возбудителем опасного заболевания некробактериоз, который нередко получает конкурентное преимущество в рубце жвачных на фоне погрешностей в кормлении [13]. Интересно, что некробактериоз, при котором

возникают поражения стенок рубца и гнойно-некротические поражения дистальных участков конечностей, является одним из важных факторов, сдерживающих и рост популяции северного оленя. В 2009 г. от некробактериоза пало 65 тыс. особей домашних северных оленей [14].

С другой стороны, в группе северных оленей из Ненецкого АО в 1,6 раза возрастало ($p \leq 0,05$) содержание *Spirochaetes*, по сравнению с другой группой, достигая при этом $2,8 \pm 0,18$ %. Ранее присутствие данной группы микроорганизмов в пищеварительной системе было связано с диареей у свиней и домашней птицы, вызывая значительные экономические потери [15]. На примере человека показано, что распространённость кишечных спирохет в прямой кишке, по-видимому, соответствует проживанию в развивающихся регионах. Показатели

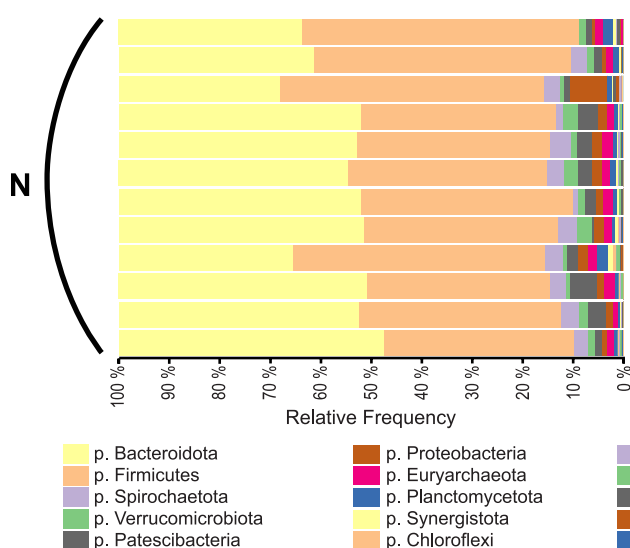


РИС. 2.

Состав микробного сообщества рубцовой жидкости северных оленей на уровне филумов по данным NGS-секвенирования ампликонов 16S rPHK; N – Ненецкий АО, Y – Ямало-Ненецкий АО

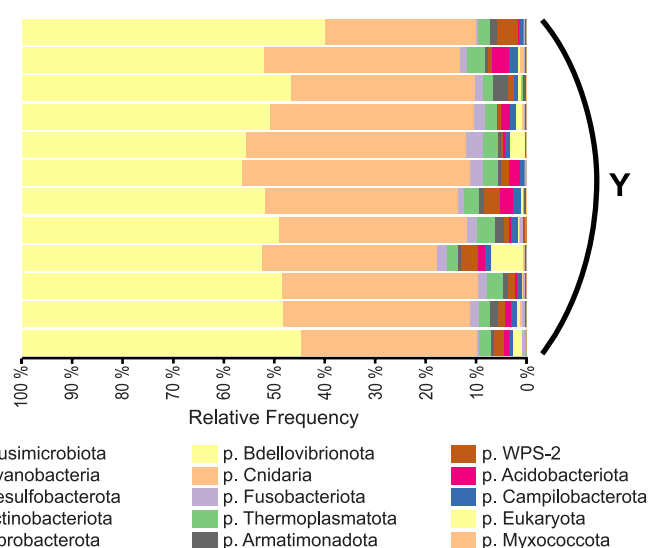


РИС. 2.

Composition of the rumen microbiotas of reindeers by bacterial phylum according to NGS sequencing of 16S rRNA amplicons; N – Nenets Autonomous District, Y – Yamalo-Nenets Autonomous District

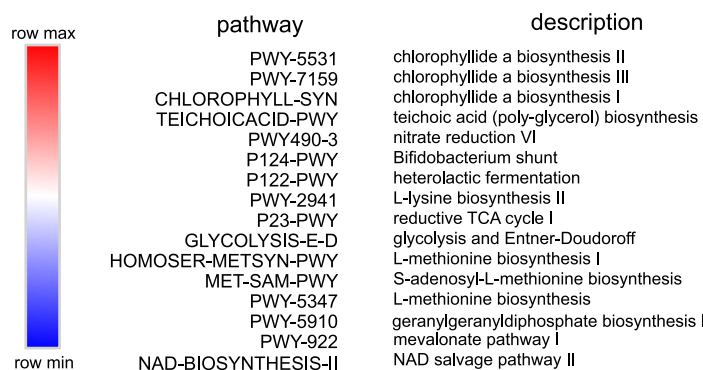


РИС. 3.

Гистограмма прогнозируемых метаболических путей, характеризующая статистически значимые различия ($p \leq 0,05$) между группами северных оленей из Ненецкого АО и Ямало-Ненецкого АО; N – Ненецкий АО, Y – Ямало-Ненецкий АО

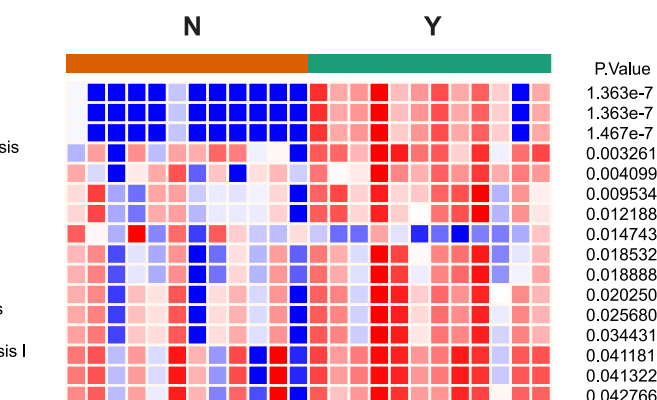


FIG. 3. A thermal map of predicted metabolic pathways characterizing reliable differences ($p \leq 0.05$) between groups of reindeer from the Nenets Autonomous District and the Yamalo-Nenets Autonomous District; N – Nenets Autonomous District, Y – Yamalo-Nenets Autonomous District

распространённости 32,6 % наблюдаются у здоровых детей австралийских аборигенов. В то же время, спирохеты были извлечены только из 8 из 695 (1,2 %) образцов фекалий, которые были получены от других, в основном неаборигенных, детей и взрослых в Западной Австралии или Северной территории Австралии, страдающих желудочно-кишечными расстройствами [16].

На базе анализа, основанного на результатах PICRUSt2, у микробного сообщества рубца северных оленей мы обнаружили 328 потенциальных метаболических путей. Отличия между группами выявлены по 16 прогнозируемым метаболическим путям (рис. 3). Среди данных путей доминировали пути биосинтеза хлорофиллида и аминокислот.

Изменения прогнозируемого метаболического профиля микробного сообщества (рис. 3) были ассоциированы с представленностью некоторых таксономических групп в рубце северного оленя (рис. 2). Так, у северных оленей из Ямало-Ненецкого АО по сравнению с группой животных из Ненецкого АО отмечено статистически значимое усиление ($p \leq 0,05$) активности синтеза предшественника хлорофилла – хлорофиллида, что может иметь связь с возрастанием численности бактерий филума Cyanobacteria. Представители этих окислительных фототрофов способны синтезировать ферменты, в частности, светозависимую НАДФН:протохлорофиллидоксидоредуктазу и темнотезависимую протохлорофиллидоксидоредуктазу, катализирующие восстановление протохлорофиллида до хлорофиллида [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлены существенные ($p \leq 0,05$) различия между группами северных оленей из Ненецкого и Ямало-Ненецкого автономных округов по 10 бактериальным филумам и суперфилумам: Actinobacteriota, Spirochaetes, Chloroflexi, Verrucomicrobia, Bdellovibrionota, Synergistetes, Fusobacteriota, Moxococcota, Cyanobacteria, Campilobacterota. Результаты реконструкции и прогнозирования функционального содержания метагенома с применением биоинформатического анализа PICRUSt2 позволили выявить 328 потенциальных метаболических путей. Отличия между группами выявлены по 16 прогнозируемым метаболическим путям, среди которых доминировали пути биосинтеза хлорофиллида и аминокислот. Вероятно, изменения в таксономии и функциональном потенциале микробиома между группами северных оленей из разных автономных округов могли быть связаны с ботаническим, биохимическим и микробиологическим составом доступных кормов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 17-76-20026.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буркин А.А., Кононенко Г.П. Особенности накопления микотоксинов в лишайниках. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2013; 5(49): 522-530. doi: 10.7868/S0555109913050036
2. Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Лайшев К.А., Филиппова В.А., Дубровин А.В., Дунашев Т.П. и др. Распространение микотоксинов в кормах летнего пастбищного рациона *Rangifer tarandus* в арктической зоне России. *Сельскохозяйственная биология*. 2018; 53(4): 779-786. doi: 10.15389/agrobiology.2018.4.779rus
3. Sundset MA, Edwards JE, Cheng YF, Senosiain RS, Fraile MN, Northwood KS, et al. Molecular diversity of the rumen microbiome of Norwegian reindeer on natural summer pasture. *Microb Ecol*. 2009; 57(2): 335-348. doi: 10.1007/s00248-008-9414-7
4. Kingsbury JM. *Poisonous plants of the United States and Canada*. 3rd ed. NJ, Prentice Hall; 1964.
5. Allison MJ, Mayberry WR, Mcsweney CS, Stahl DA. *Synergistes jonesii*, gen. nov., sp. nov.: A rumen bacterium that degrades toxic pyridinediols. *Syst Appl Microbiol*. 1992; 15(4): 522-529. doi: 10.1016/S0723-2020(11)80111-6
6. QIIME 2 user documentation. URL: <https://docs.qiime2.org/2020.8/> [date of access: 15.03.2022].
7. DADA2 Pipeline Tutorial. URL: <https://benjjneb.github.io/dada2/tutorial.html/> [date of access: 15.03.2022].
8. PICRUSt2 Pipeline Tutorial. URL: <https://github.com/picrust/picrust2/> [date of access: 15.03.2022].
9. Phantasm (v1.11.0) user documentation. URL: <https://artyomovlab.wustl.edu/phantasm/> [date of access: 15.03.2022].
10. Pope PB, Mackenzie AK, Gregor I, Smith W, Sundset MA, McHardy AC, et al. Metagenomics of the Svalbard reindeer rumen microbiome reveals abundance of polysaccharide utilization loci. *PLoS One*. 2012; 7(6): e38571. doi: 10.1371/journal.pone.0038571
11. Salgado-Flores A, Hagen LH, Ishaq SL, Zamanzadeh M, Wright AD, Pope PB, et al. Rumen and cecum microbiomes in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) are changed in response to a lichen diet and may affect enteric methane emissions. *PLoS One*. 2016 11(5): 155-213. doi: 10.1371/journal.pone.0155213
12. Bergmann GT, Bates ST, Eilers KG, Lauber CL, Caporaso JG, Walters WA, et al. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biol Biochem*. 2011; 43(7): 1450-1455. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.03.012
13. Tadepalli S, Narayanan SK, Stewart GC, Chengappa MM, Nagaraja TG. *Fusobacterium necrophorum*: A ruminal bacterium that invades liver to cause abscesses in cattle. *Anaerobe*. 2009; 15(1-2): 36-43. doi: 10.1016/j.anaerobe.2008.05.005
14. Казановский Е.С., Карабанов В.П., Клебенсон К.А. *Болезни северных оленей (ветеринарный практикум)*. Сыктывкар; 2011.
15. Lee JI, McLaren AJ, Lymbery AJ, Hampson DJ. Human intestinal spirochetes are distinct from *Serpulina hyodysenteriae*. *J Clin Microbiol*. 1993; 31(1): 16-21. doi: 10.1128/jcm.31.1.16-21.1993
16. Lee JI, Hampson DJ. Intestinal spirochaetes colonizing aborigines from communities in the remote north of Western Australia. *Epidemiol Infect*. 1992; 109(1): 133-141.
17. Kopečná J, Sobotka R, Komenda J. Inhibition of chlorophyll biosynthesis at the protochlorophyllide reduction step results in the parallel depletion of Photosystem I and Photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Planta*. 2013; 237(2): 497-508. doi: 10.1007/s00425-012-1761-4

REFERENCES

1. Burkin AA, Kononenko GP. Features of mycotoxin accumulation in lichens. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2013; 5(49): 522-530. (In Russ.). doi: 10.7868/S0555109913050036
2. Yildirim EA, Ilyina LA, Laishev KA, Filippova VA, Dubrovin AV, Dunyashev TP, et al. Distribution of mycotoxins in the feed of the summer pasture diet Rangifer tarandus in the Arctic zone of Russia. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. 2018; 53(4): 779-786. (In Russ.). doi: 10.15389/agrobiology.2018.4.779rus
3. Sundset MA, Edwards JE, Cheng YF, Senosiain RS, Fraile MN, Northwood KS, et al. Molecular diversity of the rumen microbiome of Norwegian reindeer on natural summer pasture. *Microb Ecol*. 2009; 57(2): 335-348. doi: 10.1007/s00248-008-9414-7
4. Kingsbury JM. *Poisonous plants of the United States and Canada*. 3rd ed. NJ, Prentice Hall; 1964.
5. Allison MJ, Mayberry WR, Mcsweeney CS, Stahl DA. *Synergistes jonesii*, gen. nov., sp. nov.: A rumen bacterium that degrades toxic pyridinediols. *Syst Appl Microbiol*. 1992; 15(4): 522-529. doi: 10.1016/S0723-2020(11)80111-6
6. QIIME 2 user documentation. URL: <https://docs.qiime2.org/2020.8/> [date of access: 15.03. 2022].
7. DADA2 Pipeline Tutorial. URL: <https://benjjneb.github.io/dada2/tutorial.html/> [date of access: 15.03.2022].
8. PICRUSt2 Pipeline Tutorial. URL: <https://github.com/picrust/picrust2/> [date of access: 15.03.2022].
9. Phantasus (v1.11.0) user documentation. URL: <https://artyomovlab.wustl.edu/phantasus/> [date of access: 15.03.2022].
10. Pope PB, Mackenzie AK, Gregor I, Smith W, Sundset MA, McHardy AC, et al. Metagenomics of the Svalbard reindeer rumen microbiome reveals abundance of polysaccharide utilization loci. *PLoS One*. 2012; 7(6): e38571. doi: 10.1371/journal.pone.0038571
11. Salgado-Flores A, Hagen LH, Ishaq SL, Zamanzadeh M, Wright AD, Pope PB, et al. Rumen and cecum microbiomes in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) are changed in response to a lichen diet and may affect enteric methane emissions. *PLoS One*. 2016 11(5): 155-213. doi: 10.1371/journal.pone.0155213
12. Bergmann GT, Bates ST, Eilers KG, Lauber CL, Caporaso JG, Walters WA, et al. The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biol Biochem*. 2011; 43(7): 1450-1455. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.03.012
13. Tadepalli S, Narayanan SK, Stewart GC, Chengappa MM, Nagaraja TG. Fusobacterium necrophorum: A ruminal bacterium that invades liver to cause abscesses in cattle. *Anaerobe*. 2009; 15(1-2): 36-43. doi: 10.1016/j.anaerobe.2008.05.005
14. Kazanovskiy ES, Karabanov VP, Klebenson KA. *Reindeer diseases*. Syktyvkar; 2011. (In Russ.).
15. Lee JI, McLaren AJ, Lymbery AJ, Hampson DJ. Human intestinal spirochetes are distinct from *Serpulina hyodysenteriae*. *J Clin Microbiol*. 1993; 31(1): 16-21. doi: 10.1128/jcm.31.1.16-21.1993
16. Lee JI, Hampson DJ. Intestinal spirochaetes colonizing aborigines from communities in the remote north of Western Australia. *Epidemiol Infect*. 1992; 109(1): 133-141.
17. Kopečná J, Sobotka R, Komenda J. Inhibition of chlorophyll biosynthesis at the protochlorophyllide reduction step results in the parallel depletion of Photosystem I and Photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Planta*. 2013; 237(2): 497-508. doi: 10.1007/s00425-012-1761-4

Сведения об авторах

- Пономарева Екатерина Сергеевна** – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», e-mail: kate@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>
- Йылдырым Елена Александровна** – доктор биологических наук, главный биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ»; профессор кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: deniz@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>
- Филиппова Валентина Анатольевна** – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ»; заведующий лабораторией кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: filippova@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>
- Ильина Лариса Александровна** – кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ»; доцент кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: ilina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>
- Дубровин Андрей Валерьевич** – кандидат ветеринарных наук, биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», e-mail: dubrovin@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>
- Лаптев Георгий Юрьевич** – доктор биологических наук, директор ООО «БИОТРОФ», e-mail: laptey@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>
- Калиткина Ксения Андреевна** – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», студент кафедры крупного животноводства (направления «Зоотехния», магистерская программа «Селекция в частной зоотехнии»), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: kseniya.k.a@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>
- Дуняшев Тимур Петрович** – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», e-mail: timur@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3918-0948>
- Тюрина Дарья Георгиевна** – кандидат экономических наук, заместитель директора по финансам, ООО «БИОТРОФ», e-mail: tiurina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Information about the authors

- Ekaterina S. Ponomareva** – Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, e-mail: kate@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>
- Elena A. Yildirim** – Dr. Sc. (Biol.), Chief Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof; Professor at the Department of Large Animal Husbandry, Saint-Petersburg State Agrarian University, e-mail: deniz@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>
- Valentina A. Filippova** – Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, Head of the Laboratory of the Department of Large Animal Husbandry, Saint-Petersburg State Agrarian University, e-mail: filippova@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>
- Larisa A. Ilina** – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, Associate Professor at the Department of Large Animal Husbandry, Saint-Petersburg State Agrarian University, e-mail: ilina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>
- Andrey V. Dubrowin** – Cand. Sc. (Vet.), Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, e-mail: dubrovin@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>
- Georgiy Y. Laptev** – Dr. Sc. (Biol.), Head of LLC Biotrof, e-mail: laptey@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>

Kseniya A. Kalitkina – Biotechnologist of the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, Student at the Department of Large Animal Husbandry (directions “Zootechny”, master’s program “Selection in Zootechny”), Saint-Petersburg State Agrarian University, e-mail: kseniya.k.a@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>

Timur P. Dunyashev – Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, e-mail: timur@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3918-0948>

Daria G. Tiurina – Cand. Sc. (Econom.), Deputy Director for Finances, LLC Biotrof, e-mail: tiurina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

ГИГИЕНА HYGIENE

ВЛИЯНИЕ АНАВИДИНА НА *RHODOCOCOCCUS QINGSHENGII* VKM AC-2784D В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Маркова Ю.А.¹,
Беловежец Л.А.²,
Мориц А.С.¹

¹ ФГБУН Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН (664033,
г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия)

² ФГБУН Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033,
г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Маркова Юлия Александровна,
e-mail: juliam06@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Микроорганизмы обладают значительной пластичностью, поэтому эффективность применения дезинфицирующих средств обусловлена условиями их применения. Это связано с тем, что, в зависимости от условий их обитания, микроорганизмы могут обладать разной устойчивостью к одному и тому же действующему веществу.

Цель заключалась в исследовании действия препарата «Анавидин-Комплит» на рост и биоплёнообразование *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D в зависимости от источника углерода в среде культивирования.

Материалы и методы. В работе использовали *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, исследования проводили на минеральной питательной среде 8E, в которую в качестве источника углерода вносили 0,5 % глюкозы, инозита или нафталина. «Анавидин-Комплит» применяли в конечной концентрации 0,08, 0,04, 0,02, 0,01 и 0,005 %. Рост и биоплёнообразование оценивали стандартными микробиологическими методами.

Результаты. Дезинфицирующий эффект «Анавидин-Комплита» на рост планктонной формы *R. qingshengii* VKM Ac-2784D зависит от источника углерода. Если в голодной среде культивирования все концентрации «Анавидин-Комплита» оказывали неблагоприятное воздействие на бактерии на всём протяжении эксперимента, то в присутствии глюкозы неблагоприятное влияние низких концентраций «Анавидин-Комплита» к концу эксперимента снижалось. В среде с нафталином, напротив, в первые-вторые сутки культивирования низкие концентрации «Анавидин-Комплита» оказывали стимулирующее действие. «Анавидин-Комплит» в зависимости от концентрации подавлял формирование биоплёнки на всех средах культивирования. При микроскопии биоплёнки в некоторых случаях были обнаружены плотные округлые образования, состоящие из нескольких слоёв клеток.

Заключение. Таким образом, для увеличения эффективности дезинфицирующих средств необходимо более глубокое изучение физиологического ответа микроорганизмов с учётом условий их обитания.

Ключевые слова: анавидин, питательные среды, *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D, скорость роста, биоплёнки

Статья получена: 17.03.2022

Статья принята: 02.06.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Маркова Ю.А., Беловежец Л.А., Мориц А.С. Влияние анавидина на *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D в зависимости от источника углерода в среде культивирования. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 38-46. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.5

THE EFFECT OF ANAVIDIN ON *RHODOCOCCUS QINGSHENGII* VKM AC-2784D DEPENDING ON THE CARBON SOURCE IN THE CULTIVATION MEDIUM

Markova Yu.A.¹,
Belovezhets L.A.²,
Morits A.S.¹

¹ Siberian Institute of Plant
Physiology and Biochemistry SB RAS
(Lermontova str. 132, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

² A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry SB RAS (Favorskogo str. 1,
Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author:
Yulia A. Markova,
e-mail: juliam06@mail.ru

ABSTRACT

Background. Microorganisms have significant plasticity, therefore, the effectiveness of the use of disinfectants is due to the conditions of their use. This is because microorganisms, depending on their habitat, may have different resistance to the same active substance.

The aim. To study the effect of Anavidin-Complit on the growth and biofilm formation of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D, depending on the carbon source in the cultivation medium.

Materials and methods. *R. qingshengii* VK MAC-2784D was used in the work, the studies were carried out on a mineral nutrient medium 8E, into which 0.5 % glucose, inositol or naphthalene was added as a carbon source. Anavidin was used at a final concentration of 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 and 0.005 %. Growth and biofilm formation were evaluated by standard microbiological methods.

Results. The disinfecting effect of Anavidin-Complit on the growth of the planktonic form of *R. qingshengii* VKMAC-2784D depends on the carbon source. If in a starvation cultivation medium, all concentrations of Anavidin-Complit had an adverse effect on bacteria throughout the experiment, then in the presence of glucose, the adverse effect of low concentrations of Anavidin-Complit decreased by the end of the experiment. In the medium with naphthalene, on the contrary, on the first or second day of cultivation, low concentrations of Anavidin-Complit had a stimulating effect. Anavidin-Complit, depending on the concentration, suppressed the formation of a biofilm on all cultivation media. Microscopy of the biofilm in some cases revealed dense rounded formations consisting of several layers of cells.

Conclusion. Thus, in order to increase the effectiveness of disinfectants, a deeper study of the physiological response of microorganisms is necessary, taking into account their living conditions.

Key words: anavidin, culture media, *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D, growth rate, biofilms

Received: 17.03.2022
Accepted: 02.06.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Markova Yu.A., Belovezhets L.A., Morits A.S. The effect of Anavidin on *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D depending on the carbon source in the cultivation medium. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 38-46. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.5

ВВЕДЕНИЕ

Анавидин (торговое название полигексаметиленгуанидин фосфата) относится к дезинфектантам на основе четвертичных аммониевых солей [1]. Он обладает антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусов и грибов рода *Candida* [2]. Растворы модифицированного средства Анавидин («Анавидин-Комплит») образуют на поверхностях прозрачную малозаметную плёнку.

Дезинфицирующее действие Анавидина основано на бактерицидной активности гуанидиновых групп полимера. Механизм биоцидного действия включает его адсорбцию на поверхности клетки, диффузию, связывание с цитоплазматической мембраной и её разрыв, приводящий к гибели клетки [3].

Стандартный метод оценки эффективности дезинфектантов [4] не даёт полного понимания вариативности его воздействия в зависимости от физиологического состояния микроорганизма. В последние годы появилось много сообщений о том, что устойчивость бактерий к антибиотикам зависит от скорости их метаболизма [5]. Соединения, ускоряющие метаболизм микробной клетки, такие как глюкоза, фумаровая кислота и др., способствуют росту чувствительности. И напротив, соединения, замедляющие метаболизм, например, источники углерода, катаболизируемые через глиоксилатный путь, способствуют росту резистентности.

Относительно дезинфектантов подобные исследования не проводились. В то же время, в естественных условиях микроорганизмы часто испытывают недостаток питательных веществ или используют альтернативные источники углерода. Поэтому, если эффективность действия дезинфектантов, так же как антибиотиков, связана с клеточным метаболизмом, то их влияние на бактериальную клетку *in vivo* может отличаться от результатов, полученных *in vitro*.

Таким образом, **цель данной работы** заключалась в исследовании действия препарата «Анавидин-Комплит» на рост и биоплёнокообразование *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D в зависимости от источника углерода в среде культивирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

R. qingshengii VKM Ac-2784D был выделен из ризомферы пырея ползучего (*Elytrigia repens*), произрастающего на нефтезагрязнённой территории Заларинского района Иркутской области [6]. Он входит в состав запатентованных препаратов для биоремедиации почв от нефти и защиты растений, произрастающих в неблагоприятных условиях [7, 8].

Эксперимент проводили в жидкой минеральной среде 8Е следующего состава (г/л): NH_4NO_3 – 1,0; MgCl_2 – 0,1; KH_2PO_4 – 3,0; K_2HPO_4 – 7,0; CaCO_3 – 1,0; pH 7,0. В качестве источника углерода вносили 0,5 % глюкозы (8ЕГ), инозита (8ЕИ) или нафталина (8ЕН). В каждый вариант среды вносили «Анавидин-Комплит» в конечной концентрации

0,08, 0,04, 0,02, 0,01 и 0,005 % и взвесь микроорганизмов, выращенных в течение 48 ч на скошенном агаре ГРМ (Оболонск, Россия) при 26 °С. Оптическая плотность суспензии клеток *R. qingshengii* VKM Ac-2784D в среде была 0,2 при $\lambda = 595$ нм. Контролем служила среда с бактериями без добавления Анавидина.

Среду культивирования с бактериями вносили в лунки пяти стерильных плоскостонных 96-луночных планшетов в объёме 150 мкл. Оптическую плотность (ОП) культуры и образование биоплёнки оценивали в одном и том же планшете. Для этого брали один из планшетов и измеряли оптическую плотность. Затем планшет отмывали водопроводной водой, чтобы удалить слабо прикреплённые клетки. Осадок окрашивали 1%-м раствором кристаллического фиолетового [9]. После 3-кратного промывания в лунки добавляли по 200 мкл 96%-го этанола. Степень образования биоплёнки соответствовала интенсивности окрашивания красителем содержимого лунок. Оптическую плотность бактериальной суспензии и уровень экстракции (абсорбции) кристаллического фиолетового этанолом измеряли с помощью планшетного ридера iMark («BioRad», США) при длине волны 595 нм в единицах оптической плотности (ед. ОП595).

Для визуализации биоплёнок в чашку Петри с 30 мл соответствующей питательной среды с «Анавидин-Комплитом» помещали стерильные обезжиренные покровные стекла. Через трое суток стекла вынимали, отмывали от слабо прикрепившихся клеток и окрашивали 1%-м раствором кристаллического фиолетового. Микроскопию проводили при увеличении $\times 100$ с использованием светового микроскопа Primo Star («Zeiss», Германия).

Статистическая обработка проводилась в программе RStudio. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Род *Rhodococcus* объединяет преимущественно непатогенные микроорганизмы [10], однако для иммунокомпрометированных пациентов отдельные представители могут представлять угрозу и вызывать пневмонии, бактериемии и другие осложнения [11]. С другой стороны, биологическая близость к роду *Mycobacterium* и *Corynebacterium*, а также относительная лёгкость культивирования и высокая скорость роста делает родококк удобным модельным объектом.

Для изучения действия «Анавидин-Комплита» на родококк, культивируемый в средах с различными источниками углерода, использовали оптимальный (глюкозу) и два альтернативных (инозит и нафталин) источника. Четвёртый вариант опыта соответствовал наиболее неблагоприятным условиям и представлял собой безуглеродную минеральную среду 8Е.

Рост *R. qingshengii* VKM Ac-2784D в минеральной среде 8Е различался в зависимости от источника углерода (рис. 1). Наиболее медленным он был на среде с нафталином.

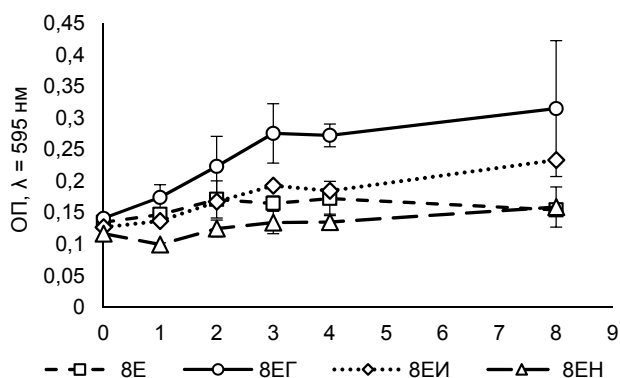


РИС. 1.

Кривые роста *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, культивируемого в минеральной питательной среде 8E: 8E – среда без источника углерода; 8EG – питательная среда с 0,5%-м содержанием глюкозы; 8EI – питательная среда с 0,5%-м содержанием инозита; 8EH – питательная среда с 0,5%-м содержанием нафталила

FIG. 1.

Growth curves of *R. qingshengii* VKM Ac-2784D cultivated in 8E mineral nutrient medium: 8E – medium without carbon source; 8EG – nutrient medium with 0.5 % glucose; 8EI – nutrient medium with 0.5 % inositol; 8EH – nutrient medium with 0.5 % naphthalene

Влияние «Анавидин-Комплита» на рост бактерий существенно различалось в зависимости от источника углерода в среде культивирования (рис. 2а). В среде 8E без углерода высокие концентрации «Анавидин-Комплита» (0,08 и 0,04 %) действовали негативно на всём протяжении эксперимента. Более низкие концентрации также подавляли рост, однако статистически значимое влияние показано только для 0,01 % «Анавидин-Комплита» на вторые сутки культивирования, а также 0,02 и 0,01 % на четвёртые сутки.

При культивировании родококка на питательной среде с глюкозой в первые-вторые сутки «Анавидин-Комплит» также подавлял его рост. Однако на восьмые сутки ингибирующее воздействие на рост бактерий отмечалось только для 0,08%-го Анавидаина (рис. 2б).

На среде с инозитом все концентрации «Анавидин-Комплита» оказывали статистически значимое негативное влияние в первые (исключение – 0,005 %) и вторые (исключение – 0,01 и 0,005 %) сутки эксперимента. Интересно, что в этих условиях оптическая плотность суспензии бактерий была обратно пропорциональна содержанию «Анавидин-Комплита» (рис. 2в).

При выращивании бактерий на питательной среде с нафталином (рис. 2г) установлено, что «Анавидин-Комплит» в концентрациях 0,01 и 0,005 % оказывал статистически значимое стимулирующее действие на рост родококка в первые сутки культивирования. В отличие от 8EG и 8EI негативное воздействие на рост бактерий отмечено на восьмые сутки эксперимента (0,08, 0,04 и 0,005 %).

Одной из защитных стратегий выживания бактерий во внешней среде является биоплёнка. Она играет важную роль, в том числе и при контакте с антибиотиками или дезинфектантами [12, 13]. Поэтому одновременно

с оценкой действия «Анавидин-Комплита» на рост бактерий, мы оценивали его влияние на образование биоплёнок. Было установлено, что, независимо от природы источника углерода, формирование биоплёнок угнетается «Анавидин-Комплитом» прямо пропорционально его концентрации (рис. 3).

Данное наблюдение противоречит сведениям других авторов, согласно которым в ответ на обработку антибиотиками или дезинфектантами бактерии реагируют усиленным формированием биоплёнки [12]. Мы предполагаем, что это связано с гибелью части популяции бактерий, необходимой для инициации биоплёнкообразования, а также, вероятно, сорбцией «Анавидин-Комплита» в лунках планшета.

Микроскопия стёкол обрастания на третьи сутки культивирования показала, что морфология биоплёнки различается в зависимости от источника углерода и количества «Анавидин-Комплита» в среде (рис. 4). Во многих случаях внесение дезинфектанта приводило к формированию плотных глобулярных образований, как например, в голодной среде с 0,02 % «Анавидин-Комплита». Мы предполагаем, что такая форма биоплёнки защищает бактерии от его неблагоприятного действия. Морфология биоплёнок на среде с нафталином обладала ячеистой структурой. При этом в контрольных условиях они состояли из одного-трёх слоёв клеток, тогда как в присутствии «Анавидин-Комплита» они были более плотные. Вероятно, это связано с гидрофобностью нафталила.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, дезинфицирующий эффект «Анавидин-Комплита» на рост планктонной формы родококка зависел от применяемого источника углерода. Если в голодной среде культивирования все концентрации «Анавидин-Комплита» оказывали неблагоприятное воздействие на бактерии на всём протяжении эксперимента, то в присутствии глюкозы неблагоприятное влияние низких концентраций «Анавидин-Комплита» к концу эксперимента снижалось. В среде с нафталином, напротив, в первые-вторые сутки культивирования низкие концентрации «Анавидин-Комплита» оказывали стимулирующее действие. Данный феномен требует дальнейшего изучения и связан, вероятно, с изменением клеточной стенки микроорганизма при его культивировании в присутствии гидрофобных соединений [10].

«Анавидин-Комплит» в зависимости от концентрации подавлял формирование биоплёнки на всех средах культивирования. При микроскопии биоплёнки в некоторых случаях были обнаружены плотные округлые образования, состоящие из нескольких слоёв клеток. Вероятно, данная форма является адаптивной и защищает от дезинфектанта.

Всё вышеизложенное свидетельствует, микроорганизмы, выживающие в разных условиях, могут различаться по уровню чувствительности к «Анавидин-Комплиту», что необходимо учитывать при его использовании в качестве дезинфектанта.

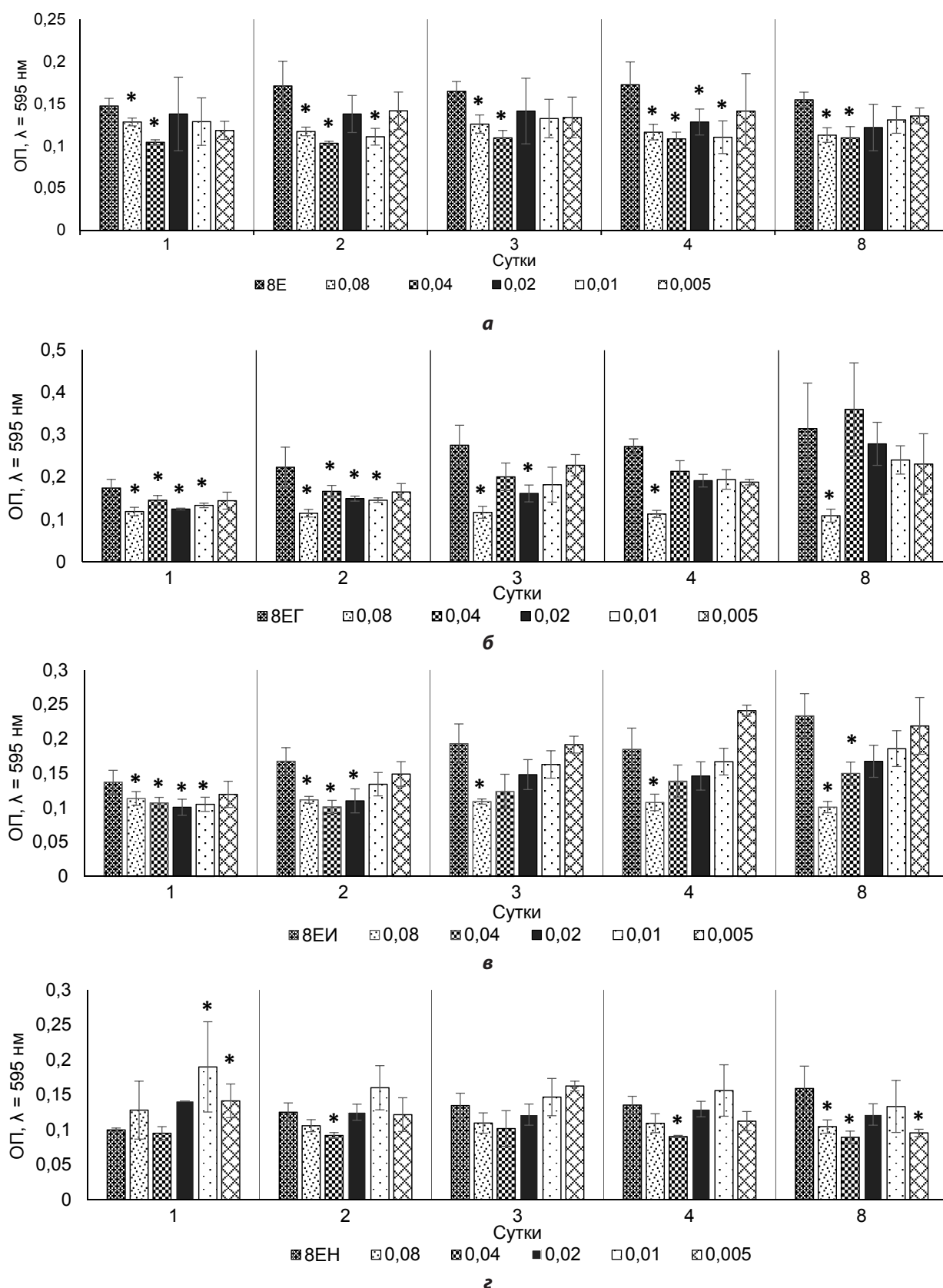


РИС. 2.

Действие «Анавидин-Комплита» на рост *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, культивируемого на средах 8Е с разным источником углерода: **а** – без источника углерода; **б** – 0,5 % глюкозы; **в** – 0,5 % инозита; **г** – 0,5 % нафталина; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

FIG. 2.

Effect of "Anavidin-Complit" on the growth of *R. qingshengii* VKM Ac-2784D cultivated on 8E media with different carbon sources: **a** – no carbon source; **b** – 0.5 % glucose; **v** – 0.5 % inositol; **z** – 0.5 % naphthalene; * – significant differences ($p < 0.05$)

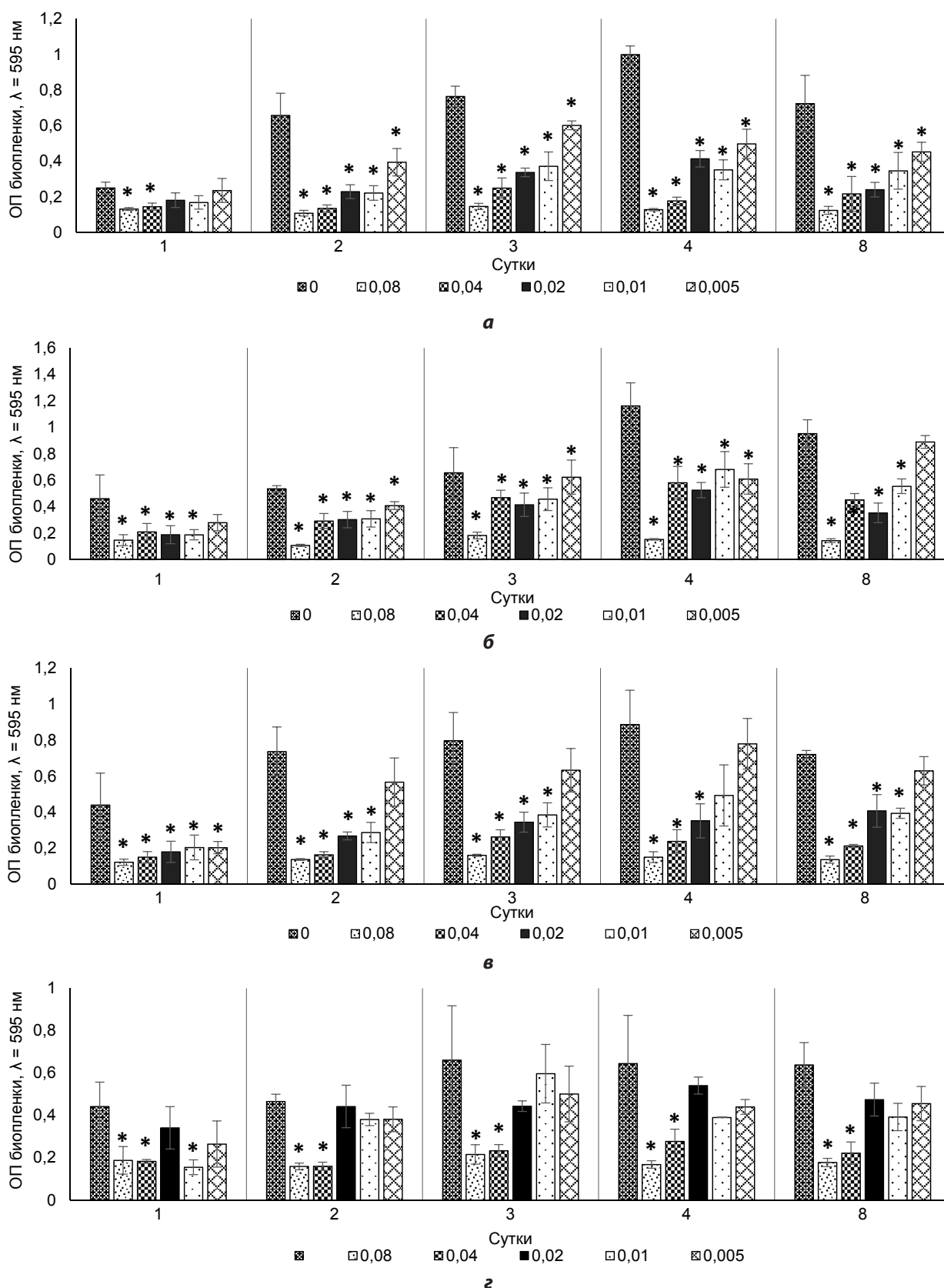


РИС. 3.

Действие «Анавидин-Комплита» на образование биопленок *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, культивируемого на средах с разным источником углерода: **а** – без источника углерода; **б** – 0,5 % глюкозы; **в** – 0,5 % инозита; **з** – 0,5 % нафталина; * – статистически значимые различия ($p < 0.05$)

FIG. 3.

Effect of "Anavidin-Complit" on the formation of biofilms *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, cultivated on media with different carbon sources: **a** – no carbon source; **б** – 0.5 % glucose; **в** – 0.5 % inositol; **з** – 0.5 % naphthalene; * – significant differences ($p < 0.05$)

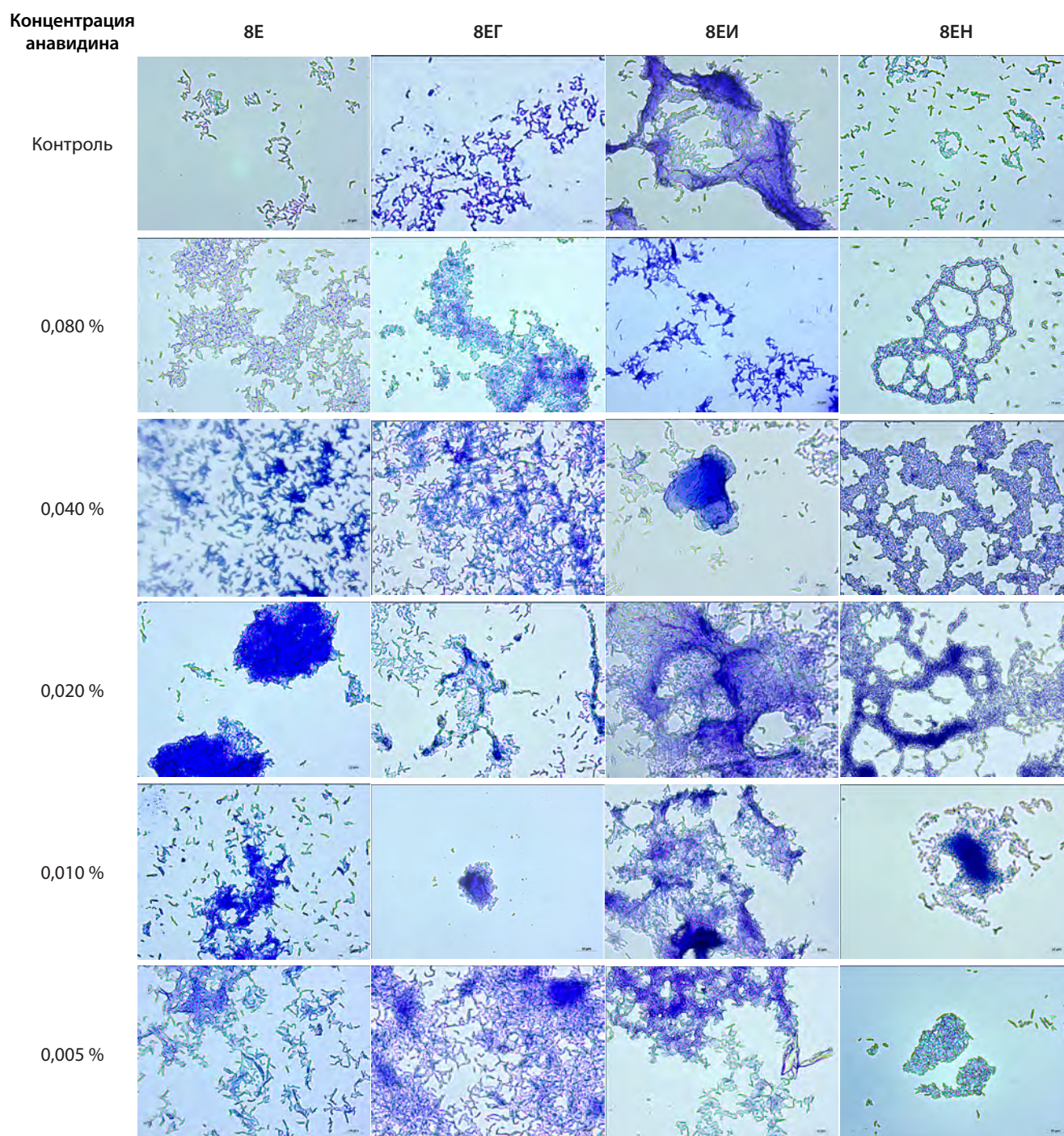


РИС. 4.

Микроскопия биоплёнок *R. qingshengii* VKM Ac-2784D на третьей сутки культивирования на питательных средах с разными источниками углерода в присутствии «Анавидин-Комплита» в концентрациях от 0,005 до 0,08 %

FIG. 4.

Microscopy of *R. qingshengii* VKM Ac-2784D biofilms, on the third day of cultivation on nutrient media with different carbon sources in the presence of "Anavidin-Complit" at concentrations from 0.005 to 0.08 %

Работа выполнена в рамках проекта под № государственной регистрации 121031300011-7.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Профессиональные дезинфицирующие средства и кожные антисептики «Анавидин®». URL: <https://anavidin.ru/> [дата доступа: 12.03.2022].
2. Шестопапов Н.В., Фёдорова Л.С., Левчук Н.Н., Белова А.С. Дезинфицирующие средства на основе полимерных произ-

водных гуанидина и способы совершенствования их свойств. *Дезинфекционное дело*. 2018; 3(105): 13-28.

3. Denyer SP, Stewart GS. Modes of action of disinfectants. *Int Biodeterior Biodegrad*. 1998; 41(3-4): 261-268. doi: 10.1016/S0964-8305(98)00023-7

4. ГОСТ 58151.4-2018. *Дезинфицирующие средства*. М.: Стандартинформ; 2018.

5. Deng W, Fu T, Zhang Z., Jiang X, Xie J, Sun H, et al. L-lysine potentiates aminoglycosides against *Acinetobacter baumannii* via regulation of proton motive force and antibiotics uptake. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1): 639-650. doi: 10.1080/22221751.2020.1740611

6. Третьякова М.С., Беловежец Л.А., Маркова Ю.А. Скрининг бактерий, ассоциированных с растениями, по способности деструктировать компоненты нефти. *Системы. Методы. Технологии*. 2015; 4(28): 138-142.

7. Беловежец Л.А., Третьякова М.С., Маркова Ю.А. *Микробный препарат для биоремедиации почвы, загрязнённой нефтью и нефтепродуктами*: Патент № 2705290 Рос. Федерация; МПК C12N 1/26 (2006.01), B09C 1/10 (2006.01), C12R 1/01 (2006.01); заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук. № 2019114526; заявл. 13.05.2019; опубл. 06.11.2019. 2019; (31).

8. Беловежец Л.А., Третьякова М.С., Маркова Ю.А. *Микробный препарат для защиты растений, произрастающих на нефтезагрязнённых почвах*: Патент № 2744094 Рос. Федерация; МПК МПК A01N 63/20 (2020.01), C12N 1/26 (2006.01), B09C 1/10 (2006.01), C12R 1/01 (2006.01); заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук. № 2020124773; заявл. 16.07.2020; опубл. 02.03.2021. 2021; (7).

9. Шагинян И.А., Данилина Г.А., Чернуха М.Ю., Алексеева Г.В., Битов А.Б. Формирование биопленок клиническими штаммами бактерий комплекса *Burkholderia cepacia* в зависимости от их фенотипических и генотипических характеристик. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2007; (1): 3-9.

10. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А. *Углеводородокисляющие родококки: особенности биологической организации под воздействием экополлютантов: атлас-монография*. Екатеринбург: УрО РАН; 2021.

11. Lin WV, Kruse RL, Yang K, Musher DM. Diagnosis and management of pulmonary infection due to *Rhodococcus equi*. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25(3): 310-315. doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.033

12. Chylkova T, Cadena M, Ferreira A, Pitesky M. Susceptibility of *Salmonella* biofilm and planktonic bacteria to common disinfectant agents used in poultry processing. *J Food Prot*. 2017; 80(7): 1072-1079. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-393

13. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017; 41(3): 276-301. doi: 10.1093/femsre/fux010

Microbiology Reviews. 2017; 41(3): 276-301. doi: 10.1093/femsre/fux010

REFERENCES

1. Professional disinfectants and skin antiseptics "Anavidin"®. URL: <https://anavidin.ru/> [date of access: 12.03.2022]. (In Russ.).

2. Shestopalov NV, Fedorova LS, Levchuk NN, Belova AS. Disinfectants based on polymer derivatives of guanidine and ways to improve their properties. *Disinfection Affairs*. 2018; 3(105): 13-28. (In Russ.).

3. Denyer SP, Stewart GS. Modes of action of disinfectants. *Int Biodeterior Biodegrad*. 1998; 41(3-4): 261-268. doi: 10.1016/S0964-8305(98)00023-7

4. GOST 58151.4-2018. *Disinfectants*. Moscow: Standartinform; 2018. (In Russ.).

5. Deng W, Fu T, Zhang Z., Jiang X, Xie J, Sun H, et al. L-lysine potentiates aminoglycosides against *Acinetobacter baumannii* via regulation of proton motive force and antibiotics uptake. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9(1): 639-650. doi: 10.1080/22221751.2020.1740611

6. Tretyakova MS, Belovezhets LA, Markova YuA. Screening of bacteria associated with plants for the ability to destroy oil components. *Systems. Methods. Technologies*. 2015; 4(28): 138-142. (In Russ.).

7. Belovezhets LA, Tretyakova MS, Markova YuA. *Microbial preparation for bioremediation of soil contaminated with oil and petroleum products*: Patent No. 2705290 of the Russian Federation. 2019; (31). (In Russ.).

8. Belovezhets LA, Tretyakova MS, Markova YuA. *Microbial preparation for the protection of plants growing on oil-contaminated soils*: Patent No. 2744094 of the Russian Federation. 2021; (7). (In Russ.).

9. Shaginyan IA, Danilina GA, Chernukha MY, Alekseeva GV, Bitov AB. Formation of biofilms by clinical strains of *Burkholderia cepacia* complex bacteria depending on their phenotypic and genotypic characteristics. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2007; (1): 3-9. (In Russ.).

10. Ivshina IB, Kuyukina MS, Kamenskikh TN, Krivoruchko AV, Tyumina EA, Elkin AA. *Hydrocarbon-oxidizing rhodococci: Features of biological organization under the influence of eco-pollutants: atlas-monograph*. Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2021. (In Russ.).

11. Lin WV, Kruse RL, Yang K, Musher DM. Diagnosis and management of pulmonary infection due to *Rhodococcus equi*. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25(3): 310-315. doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.033

12. Chylkova T, Cadena M, Ferreira A, Pitesky M. Susceptibility of *Salmonella* biofilm and planktonic bacteria to common disinfectant agents used in poultry processing. *J Food Prot*. 2017; 80(7): 1072-1079. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-393

13. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017; 41(3): 276-301. doi: 10.1093/femsre/fux010

Сведения об авторах

Маркова Юлия Александровна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: juliam06@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Беловежец Людмила Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, e-mail: lyu-sya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5922-3397>

Мориц Анна Сергеевна – ведущий инженер лаборатории растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: aconitkaaco@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2266-3764>

Information about the authors

Yulia A. Markova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Plant-Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: juliam06@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Lyudmila A. Belovezhets – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Ecological Biotechnology, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, e-mail: lyu-sya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5922-3397>

Ann S. Morits – Leading Engineer at the Laboratory of Plant-Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: aconitkaaco@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2266-3764>

Вклад авторов

Маркова Ю.А. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.

Беловежец Л.А. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.

Мориц А.С. – проведение эксперимента, учёт и анализ результатов.

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

ДЕМОГРАФИЯ DEMOGRAPHY

ГЛОБАЛЬНЫЕ СОЦИАЛЬНЫЕ ТРАНСФОРМАЦИИ В КОНТЕКСТЕ ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ И УРБАНИЗАЦИИ

РЕЗЮМЕ

Смакотина Н.Л.

ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
(119991, г. Москва, Ленинские горы, 1,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Смакотина Наталья Леоновна,
e-mail: smakotina@mail.ru

В статье с позиции социологического анализа рассматриваются фундаментальные изменения в устройстве общества, распределении ресурсов, выходящие за рамки постоянных процессов. Глобальные социальные трансформации отражают более глубокие формы изменений на уровне систем ценностей и структур власти. Автор статьи рассматривает наиболее заметные формы изменений на уровне социальных ролей, институтов, статусных иерархий, отражающих глубинные изменения. В статье рассматривается термин «трансформация» с позиции глубокого, фундаментального процесса структурных изменений, принципиально отличающегося от предшествующего. Новые изменения глобальной социальной реальности происходят под воздействием пандемии коронавируса, вызовов и угроз, которые проникли во все сферы жизнедеятельности людей. Приводится анализ «остановки» многообразного глобального мира, который до того момента быстро менялся, и невозможно было представить, что все страны независимо от уровня развития разногласий, борьбы будут поглощены только одним – неизвестностью, отчуждением, закрытостью. Ставятся вопросы: мировая политика изменилась из-за процессов, наполняющих её содержание, но как же она изменилась на концептуальном уровне, оказали ли современные преобразования глубокое влияние на структуру и географическое распределение населения? Если заявляется рост роли национальных государств, то как трансформировалась роль наднациональных институтов? Какое место в процессах демографических изменений, связанных с современными преобразованиями, занимает урбанизация? Справедливо ли мнение о том, что урбанизация сельского пространства бросает вызов общепринятым представлениям о том, что на самом деле означает «сельский» и что всё ещё остаётся «сельским» во многих негородских районах в богатых обществах?

Ключевые слова: глобальные социальные трансформации, глобальные процессы, глобальные города, урбанизация, демографические изменения

Статья поступила: 13.03.2022

Статья принята: 18.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Смакотина Н.Л. Глобальные социальные трансформации в контексте демографических изменений и урбанизации. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 47-56. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.6

GLOBAL SOCIAL TRANSFORMATIONS IN THE CONTEXT OF DEMOGRAPHIC CHANGE AND URBANIZATION

Smakotina N.L.

Lomonosov Moscow State University
(Leninskie Gory 1, Moscow 119991,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia L. Smakotina,
e-mail: smakotina@mail.ru

ABSTRACT

The article, from the standpoint of sociological analysis, examines fundamental changes in the structure of society, the distribution of resources that go beyond the framework of constant processes. Global social transformations reflect deeper forms of change at the level of value systems and power structures. The author of the article considers the most noticeable forms of changes at the level of social roles, institutions, status hierarchies, reflecting deep changes. The article deals with the term "transformation" from the standpoint of a deep, fundamental process of structural changes, fundamentally different from the previous one. New changes in the global social reality are taking place under the influence of the coronavirus pandemic, challenges and threats that have penetrated into all spheres of human life. An analysis is made of the "stopping" of the diverse global world, which had been changing so rapidly and it was impossible to imagine that all countries, regardless of the level of development, disagreements, struggle, would be absorbed by only one thing – obscurity, alienation, closeness. Questions are raised, world politics has changed due to the processes that fill its content, but how has it changed at the conceptual level, have modern transformations had a profound impact on the structure and geographical distribution of the population? If the growth of the role of nation-states is claimed, then how has the role of supranational institutions been transformed? What place does urbanization occupy in the processes of demographic changes associated with modern transformations? Is it fair to say that the urbanization of rural space is challenging conventional wisdom about what "rural" really means and what is still "rural" in many non-urban areas in wealthy societies?

Key words: global social transformations, global processes, global cities, urbanization, demographic change

Accepted: 13.03.2022
Received: 18.05.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Smakotina N.L. Global social transformations in the context of demographic change and urbanization. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 47-56. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.6

ВВЕДЕНИЕ

Социальная трансформация относится к долгосрочным изменениям в обществе на глубоком структурном уровне. Понимание социальных изменений было в центре внимания социально-научных исследований на протяжении веков.

Термин «трансформация» относится к более глубоким процессам структурных изменений, которые приводят к созданию общества, принципиально отличающегося от предшествующего. В целом она охватывает фундаментальные социальные изменения, масштаб которых отличается от мелких социальных изменений, которые люди переживают ежедневно, взлёты и падения династий и режимов, которые не влияют на общую структуру общества.

Социальная трансформация определяется как фундаментальное изменение в устройстве общества и распределении ресурсов, выходящее за рамки постоянных процессов, связанных с жизненным циклом социальных изменений, которые происходят постоянно и меняют более глубокие социальные структуры и общее функционирование общества.

Таким образом, социальные трансформации отражают общественные сдвиги на глубоком структурном уровне, фундаментальное изменение общества, которое изменяет конфигурацию существующих социальных моделей.

Социальные изменения считаются трансформацией только в том случае, если они отражают более глубокие формы изменений на уровне систем ценностей и структур власти. Более заметные формы изменений на уровне социальных ролей, институтов, статусных иерархий могут отражать более глубокие формы изменений, но это не обязательно так. Самые глубокие формы изменений – проявляющиеся в основных ценностях и структурах власти – трудно определить с помощью традиционных форм микроуровневых эмпирических исследований, которые в последние десятилетия приобретают всё большую популярность в ущерб качественному анализу макроуровневых, общеобщественных изменений структур власти и идеологий. Например, ни нефтяной шок 1973 года, ни «11 сентября», ни финансовый кризис 2008 года и последовавшая за ним Великая рецессия, ни пандемия COVID-19, похоже, не изменили коренным образом способ организации экономики и общества. Хотя в тот момент, когда они произошли, они могли показаться судьбоносными, в долгосрочной перспективе эти события не были проявлением фундаментальной социальной трансформации. Волна демократических движений, таких как «Арабская весна», с другой стороны, указывает на более глубокие изменения в обществе (такие как рост образования, доступ к информации и культурные изменения), которые усиливают стремление молодых поколений к социальной справедливости и более подотчётным и демократическим способам управления. Но только история может дать нам более определённый ответ на вопрос, являются ли такие социальные изменения фундаментальной трансформацией.

Несмотря на различие аналитических категорий, на практике социальные изменения и социальная трансформация взаимно связаны: фундаментальные изменения могут быть результатом постепенных, частичных, почти незаметных небольших изменений, которые наращивают значительный потенциал, пока накопленное напряжение не достигнет такого уровня, которое приводит к фундаментальным преобразованиям. Индивидуальные факторы, такие как идеи, личность и харизма конкретных политических и религиозных лидеров или влияние движений социального протеста, могут играть большую роль в том, что может показаться довольно радикальной трансформацией общества. Тем не менее, революционные политические и экономические сдвиги часто становятся возможными только благодаря потенциалу, созданному предшествующими, часто более постепенными, культурными, технологическими или демографическими изменениями.

Взаимодействие между постепенными изменениями и деятельностью, идеями конкретных лидеров и социальных групп может привести к тому, что социальные преобразования будут казаться внезапными и непредсказуемыми, но при этом часто игнорируется базовый импульс, который уже накопился, обеспечивая «питательную почву», на которой относительно небольшие события или действия, идеи, речи и письма конкретных людей могут привести к довольно внезапным и революционным изменениям. Например, Карл Маркс смог стать настолько влиятельным, только потому что его анализ и критика капиталистической эксплуатации нашли отклик в жизненном опыте бедных и угнетённых. То же самое можно сказать и о чрезвычайном влиянии отдельных пророков и религиозных лидеров. Помимо их харизмы, поступков и речей, их успех также можно объяснить более глубоким недовольством, вызванным экономическими и социальными изменениями, и глубоко ощущаемой потребностью в новых системах ценностей.

Исследования будущих социальных трансформаций различными акторами проводятся в поиске новых методологических принципов, релевантно отражающих социальную реальность. С. Жижек предлагает в качестве методологии «параллаксное видение» (в физике – видимое отклонение орбит от их действительной траектории). Параллаксное видение возможно применить в качестве философского метода прогнозирования глобального развития. Применительно к социальной сфере подобный подход решает проблему разрыва между индивидуальным и «безличным» социальными измерениями [1].

Масштабы глобализации означают, что международная система может быть понята не только как отношения между государствами, но и как сеть взаимодействий, которая связывает людей вместе [2].

Социальные трансформации можно рассматривать с позиции следующих переменных: время (краткосрочные/долгосрочные); темп (медленные/быстрые); масштаб (мелкомасштабные/крупномасштабные).

Конкретное значение социальных изменений зависит в первую очередь от рассматриваемой социальной

ной сущности. Изменения в небольшой группе могут быть важными на уровне самой этой группы, но незначительными на уровне более широкого общества. Точно так же наблюдение за социальными изменениями зависит от изученного периода времени; большинство краткосрочных изменений незначительны при рассмотрении в долгосрочной перспективе. Мелкомасштабные и краткосрочные изменения характерны для человеческого общества, потому что меняются обычаи и нормы, изобретаются новые методы и технологии, экологические изменения стимулируют новые адаптации, а конфликты приводят к перераспределению власти.

Социальные трансформации могут развиваться из различных источников, которыми могут быть: контакты с другими обществами (трансформация в виде диффузии), изменения в экосистеме (которые могут привести к потере природных ресурсов или широко распространённым болезням), технологические изменения (промышленные революции), рост населения и миграционные процессы. Социальные трансформации также могут стимулироваться идеологическими, экономическими и политическими движениями.

Можно выделить следующие социальные трансформации, которые происходят на глобальном уровне [3].

Ослабление социальных структур. Понятие социальной структуры относится к доминирующим моделям действий и социальным отношениям, узаконенным когнитивными структурами, такими как социально поддерживаемые взгляды, представления и стереотипы. Ключевой особенностью современного общества является ослабление именно таких социальных структур. Это позволяет социальным субъектам (отдельным лицам и группам) быть более самостоятельными, пользоваться более широким спектром социально приемлемых вариантов, по возможности избегать контроля над социальными структурами и при определённых условиях изменять их легче, чем это было раньше в прошлом.

Повышение субъективности социальных субъектов. В связи с ослаблением социальных структур происходит параллельное увеличение народных (низовых) сил, т. е. их способности более свободно мыслить и действовать, а также «строить» свою собственную жизнь, проекты и самобытность. Эти тенденции можно наблюдать в любой социальной сфере. Они проявляются, когда индивидуумы и группы имеют тенденцию, например:

- обойти посреднические структуры (ассоциации, профсоюзы, политические партии и т. д.);
- сомневаться в силе, законности и авторитетности социальных институтов (включая науку);
- раскрыть себя (с точки зрения мнений, идей, личных отношений, личных чувств, интимных аспектов жизни, тела и т. д.) в публичной или полупубличной среде (как физической, так и виртуальной);
- оспаривать обычные механизмы социального контроля (например, игнорировать мнение других или отвергать устоявшиеся ценности и убеждения).

Преобразования и кризис «институтов современности». Ослабление социальных структур также влечёт за собой кризис «институтов современности», связанных

с политикой, религией, экономикой, профсоюзами, государственным управлением и наукой. Все эти институты потеряли или теряют авторитет, власть и автономию; их просят быть более прозрачными и подотчётными. Для того чтобы функционировать, они всё больше нуждаются в поддержке пользователей и граждан; чтобы управлять собой, они могут всё меньше и меньше полагаться на иерархические отношения. Некоторые учреждения оказываются неспособными противостоять влиянию растущих и всё более раздробленных требований общественности.

Более высокая подверженность большим рискам. В современном обществе профиль риска изменился. Люди всё чаще подвергаются различным рискам, таким как экологические риски, безработица, отсутствие доступа к социальной защите и пенсионным схемам или риски для здоровья. Это связано со многими факторами, в том числе с развитием науки и техники и неспособностью «обещания современности» развивать правительства, всё более способные защитить каждого от любого риска. Кроме того, так называемая «европейская социальная модель», сочетающая в себе экономический рост и высокие стандарты жизни и труда, показывает, что она не является экономически устойчивой.

Рост неопределённости и нестабильности. Неопределённость возрастает во всех сферах общественной жизни (труд, эмоциональные связи, социальная защита и т. д.) Из-за увеличения подверженности рискам, а также из-за ослабления социальных структур, которые, производя контроль над людьми, также предоставляет им социальные, психологические и физические эталонные социальные паттерны и защиту. Таким образом, чувство неопределённости представляется доминирующим характером как в социальной жизни, так и в биографическом измерении.

Увеличение веса финансовых рынков. Неопределённость и нестабильность также определяются растущим весом финансовых рынков, которые в настоящее время имеют тенденцию доминировать над индустриальной экономикой. Процесс получения прибыли всё больше и больше происходит через финансовые каналы, а не через товарное производство и торговлю. Этот процесс приводит к постепенному укреплению и автономии глобальных финансовых институтов и ослаблению способности правительств сохранять контроль над национальной экономикой. Это также повышает уровень неопределённости и нестабильности выше, чем в недавнем прошлом, как на индивидуальном, так и на коллективном уровне.

Социальная и культурная диверсификация. Изменённый баланс между субъектами и структурами привёл к сильной социальной и культурной диверсификации в обществе. Всё труднее выявлять однородные социальные группы или доминирующие модели поведения. Даже целостность личности более нестабильна, фрагментирована и непоследовательна. В то же время диверсификация способствует размножению идей, инициатив, моделей поведения и форм знаний, ускоряя социальные изменения.

Ослабление социальных границ. Все границы внутри общества ослабевают: между социальными сферами, институтами, социальными группами, культурами, дисциплинами и типами знаний, различными составляющими личной жизни, общественными и частными измерениями. Постоянно возникают новые формы социокультурной гибридации и междисциплинарного пространства.

В контексте проблем глобального управления речь идёт о фундаментально новой тенденции мирового развития, когда персонифицированная «частная» власть регулирует и государство, и транснациональную экономическую, и социальную сферы жизнедеятельности [4].

В то же время невозможно не заметить и того, что настоятельная необходимость совершенствования глобального управления обусловлена совокупностью обстоятельств. Их можно выделить по крайней мере три:

- усиление межцивилизационных противостояний в мире, которые нередко перерастают в международный терроризм, требует чрезвычайно деликатной координации действий мирового сообщества с целью постепенного и безболезненного ослабления этих противостояний;
- растущая непредсказуемость климатических изменений на планете, неопределённость мероприятий антропогенного воздействия на них, что требует неотложных управленческих действий для получения знаний о состоянии окружающей среды и принятия предупредительных мер минимизации мероприятий антропогенного воздействия;
- осложнения нестабильной мировой финансово-экономической системы, которая всё больше становится сюрреалистической (базируется не на разуме, а на интуиции), виртуальной и спекулятивной, поскольку 90 % средств (капитала), обращающихся в мире, – без участия в обороте товаров и услуг [5].

Охватить весь спектр проблем по данному вопросу – чрезвычайно сложная задача. И всё же сформулируем определяющие позиции дискурса, который имеет место в течение последнего десятилетия. Для этого воспользуемся аналитическим докладом под названием «Глобальное управление – 2025: решающий момент», который подготовили осенью 2010 года Национальный разведывательный совет США и Институт Европейского Союза по исследованиям безопасности. Он не только сосредоточен на анализе критического момента в коллективном управлении сложными глобальными проблемами, но и служит сейчас в академических кругах и экспертных средах катализатором международной дискуссии о путях развития глобальных, региональных и двусторонних институтов для решения новых глобальных вызовов, является новейшим комплексным материалом по данной проблематике, который сформирован с позиций научного подхода.

Отмечено, что первое десятилетие XXI века показало сложность международной системы через её разнородность и усиление в ней взаимозависимости. Большую взаимозависимость вызвал беспрецедентный масштаб различных задач, стоящих перед международным сообществом, – от изменения климата до борьбы с бед-

ностью, от энергетической безопасности до таких транснациональных угроз, как терроризм и нераспространение ядерного оружия. Большую разнородность вызвали два фактора: появление на политической карте мира таких новых крупных глобальных и региональных держав, как Китай, Индия и Бразилия, и динамичное развитие гражданского общества и общественного мнения в формировании политической повестки дня. В то время как общие проблемы требуют совместных действий, интересы и представления государственных и негосударственных субъектов могут существенно различаться. В этом контексте установления правил игры на международном уровне становится не только более актуальным, но и более сложным. Глобальное управление – коллективное решение общих проблем на международном уровне – находится в критическом состоянии [6]. После Второй мировой войны институты глобального управления достигли значительных успехов, но сегодня международные организации и правительства стран уже не в состоянии решить многочисленные сложные международные проблемы. Глобальное управление может быть эффективным, учитывая три фактора быстрой глобализации: экономическую взаимозависимость; взаимосвязанный характер современных мировых вызовов и переплетение внутренних и внешнеполитических проблем.

Разные страны имеют разное отношение к институту глобального управления как таковому. Учитывая разные позиции и недоверчивое отношение к глобальному управлению, которое считается западным понятием, труднее эффективно бороться с вызовами, количество которых постоянно растёт. В начале XXI века главной угрозой стали этнические конфликты, инфекционные болезни и терроризм, а также новые глобальные вызовы, в частности изменение климата, энергетическая безопасность, дефицит воды и продуктов питания, международные потоки мигрантов и новые технологии [7].

Такая поляризация мнений сохраняется вплоть до сегодняшнего дня. За последние полвека не раз менялась аргументация «за» и «против» вышеобозначенных положений, но «битва аргументов» продолжается до сих пор.

Современная система международных отношений в течение ближайшего десятилетия не будет претерпевать радикальных изменений. Никакие кризисы не окажут на неё серьёзного влияния. Система институтов, принципов, политических и правовых норм, определяющих решение проблем транснационального и глобального характера, останется неизменной.

Государства и регионы ограничат своё участие в институтах, осуществляющих глобальное регулирование, попытаются отгородиться от внешних угроз и решать свои внутренние проблемы самостоятельно. Процессы глобализации не остановятся, но значительно замедлятся.

Серьёзные угрозы для международной системы приведут государства к более тесному сотрудничеству по глобальным вопросам. Возможна существенная реформа международной системы. Роль институтов, осу-

ществляющих глобальное и транснациональное регулирование, возрастёт.

Внутренние волнения в крупнейших государствах мира, усиление националистических настроений, обострение борьбы за ресурсы и потребителей приведут к росту международной напряжённости, сворачиванию процессов глобализации и ослаблению роли институтов, осуществляющих глобальное и транснациональное регулирование.

Эпоха глобализации, которая диктовала мировую политику последних десятилетий (в плане как нарратива, так и политической практики), претерпевает качественную трансформацию. Особенным катализатором и индикатором «отката» глобализации стала пандемия COVID-19 [8].

Пандемии и заболевания, конечно, существуют и в настоящее время (известные примеры: СПИД, «свиной грипп», лихорадка Эбола), но они не становились причинами локдаунов и карантинных мер на уровне национальных государств. Ограничительные меры привели к ситуации, которой не знал глобальный мир:

- Ограничение передвижения и миграции (туризм, международное разделение труда), что приводит к процессу локализации сознания и росту роли государства в жизни человека. Это могут быть экономические факторы (социальная поддержка, рост общественных благ, поддержка бизнеса). Также немаловажными становятся политические факторы, связанные с попыткой национальных правительств осуществлять компенсаторную функцию в целях минимизации социального напряжения и конфликтогенности общества.

- Ограничение передвижения ряда капиталов. Здесь как пример можно привести запреты на экспорт ряда медицинских товаров и осознание правительствами отсутствия «медицинского суверенитета» наравне с другими важными товарами и услугами, получаемыми странами в качестве продуктов мирового общественного производства.

- Угасание транспарентности. Этот процесс характеризуется началом новой геополитической гонки государств, связанной с разработкой медицинских средств против коронавируса. Геополитика временно переместилась в информационное пространство и связывается с преобладанием социальной технологии «мягкой силы». В качестве примеров здесь выступают заявления Российской Федерации и Соединённых Штатов Америки о сроках реализации программы вакцинации и эффективности препаратов. Китай, в свою очередь, пользуется другой стратегией использования «мягкой силы» в виде самой эффективной борьбы с вирусом в плане локализации и управления массами, что больше является политическим шагом, нежели разработка препарата (которая, скорее, относится к науке и технологиям).

Мировая политика изменилась из-за данных процессов, наполняющих её содержание, но как же она изменилась концептуально? Данный ответ мы можем увидеть в словах министра иностранных дел России Сергея Лаврова, чья позиция базируется на тезисе повышения роли

национальных государств в период пандемии и предсказании сохранения ими статус-кво впоследствии [9].

Действительно, национальные государства продемонстрировали свою роль во всей системе глобального управления и, более того, аргументировали своё большее геополитическое влияние относительно наднациональных институтов. Произошёл процесс ренационализации государств [10] на международной арене, они более не противопоставляются парадигмами мировой политики (реализмом или либерализмом) друг другу, а, наоборот, призваны наладить сотрудничество и взаимодействие со всеми акторами мировой политики. Это привело современный мир к пониманию того, что национальный подход к решению глобальных проблем (парадоксальная по своей формулировке модель) является наиболее эффективным.

Если заявляется рост роли национальных государств, то как трансформировалась роль наднациональных институтов? Логическое умаление их роли произошло благодаря самому характеру международных организаций. Так, например, ВОЗ имеет лишь рекомендательную функцию и не закреплена в международном праве в качестве института, осуществляющего управленческую функцию на уровне любого из государств или территорий. Общественный запрос на эффективность политики в области медицины будет лишь к национальным правительствам, а не к наднациональным органам.

Национальные правительства и элиты на этом фоне прорабатывают более жёсткие программы борьбы с коронавирусом, что по аналогии с борьбой с терроризмом в 2000-х годах может стать формальным поводом реформирования политических систем в соотношении свободы и безопасности. Пример с терроризмом показателен, ведь в результате всемирной информационной кампании национальные правительства смогли получить легитимность увеличения полномочий в правоохранительной деятельности. Даже ситуация падения уровня терроризма в конечном итоге не привела к умалению полномочий правительств, а лишь законсервировала ситуацию возможного нарушения прав и свобод человека в пользу формальной безопасности. Данный пример по аналогии говорит о том, что период постпандемии предположительно не будет характеризоваться той же степенью глобальности, которая существовала до.

Данные мировые политические процессы характеризуют настоящую конъюнктуру, национальные государства закрепили своё влияние относительно наднациональных институтов [11]. Обеспокоенность человека в данной ситуации заставляет национальные правительства проводить процесс легитимации своей деятельности как на внутривнутриполитическом поле (непопулистские политические меры, реальные управленческие решения и поддержка обществ), так и во внешней политике (новый виток информационных противоборств, связанный с геополитической борьбой государств в условиях нестабильности международных отношений).

Современные преобразования оказали глубокое влияние на структуру и географическое распределение населения. Демографические переходы и урбани-

зация являются центральными процессами демографических изменений, связанными с современными преобразованиями. Они были вызваны изменениями в других, особенно технологических и экономических, областях социальных преобразований и стимулировали дальнейшие изменения, особенно в культурной и политической сферах. Эти переходы состоят из пяти основных компонентов.

Во-первых, развитие современной медицины, а также улучшение гигиены и питания способствовали в прошлом, как и сегодня, быстрому снижению показателей смертности. Поскольку показатели рождаемости, как правило, снижаются только позже, население первоначально испытывает увеличение разрыва между рождаемостью и смертностью, что приводит к быстрому росту численности населения на ранних этапах демографического перехода.

Во-вторых, при определённом уровне дохода и образования рождаемость также начинает падать. Основная причина запоздалого характера снижения рождаемости заключается в том, что, хотя снижение смертности является прямым ответом на «технологическое» вмешательство и улучшение питания, рождаемость в гораздо большей степени определяется культурными факторами. Однако в конечном итоге такие факторы, как повышение уровня образования, формальное участие женщин в рабочей силе, увеличение стоимости образования и уменьшение потребности в детях в качестве рабочей силы в сельском хозяйстве, чему способствовало быстрое распространение средств контрацепции, привели к быстрому снижению показателей рождаемости, что привело к старению общества.

Этот демографический переход продемонстрировал значительное разнообразие в различных исторических и географических условиях [12]. Современные развивающиеся страны, как правило, переживают гораздо более быстрые демографические изменения по сравнению с более ранними переходами в Северной Европе [13]. Более того, уровень стабилизации показателей рождаемости значительно варьируется в разных обществах: во многих странах Южной и Восточной Европы и Восточной Азии показатели рождаемости ниже уровня воспроизводства населения, в то время как в скандинавских странах, Франции и США показатели рождаемости сравнительно выше. Тем не менее, общая схема демографического перехода оказалась универсальной. Хотя «ни одна из двух стран не следовала одинаковым путям перехода... это разнообразие не является несовместимым с универсальностью перехода» [13].

В-третьих, демографические изменения происходят параллельно с процессами урбанизации. Урбанизацию можно определить как растущую концентрацию экономической деятельности и населения в городах и посёлках. Со времён аграрной революции городские районы всегда были центрами инноваций и всегда привлекали людей по инструментальным и экономическим, а также по внутренним причинам, связанным с образом жизни [14]. Что является новым, так это быстро растущая и преобладающая роль городов и городского образа жизни

в экономической и культурной структуре современных обществ. Урбанизация является неотъемлемой частью других процессов изменений, связанных с современными преобразованиями, особенно технологическими изменениями (механизация, инфраструктура, связь), а также с ростом капиталистической экономики, предполагающей переход от сельскохозяйственного (первичного сектора) производства к (первоначально) обрабатывающей промышленности (вторичный сектор) и (впоследствии) услуг (третичный сектор) в качестве основных источников экономического роста и занятости.

Экономия за счёт масштаба обеспечивает городским экономикам преимущества как в плане эффективности, так и в плане конкуренции [15]. Географическая концентрация фирм и людей стимулирует инновации [16] посредством обмена знаниями, что обычно требует интенсивных личных контактов [15, 17–19]. Растущее разделение труда, специализация и более высокий уровень образования также способствовали урбанизации, поскольку как среднее, так и высшее образование и специализированные рабочие места в основном обеспечиваются в городских центрах. Несмотря на явные различия в конкретном опыте урбанизации с точки зрения скорости и концентрации населения, урбанизация была признана универсальной и, следовательно, неизбежной чертой современной трансформации [20]. Хотя часто утверждается, что современная урбанизация в развивающихся странах (особенно в Азии и Латинской Америке) происходит намного быстрее, чем в Европе девятнадцатого века, Р.С. Annez и R.M. Buckley [15] рассмотрели эмпирические данные, которые, по-видимому, в значительной степени опровергают эту идею. Доля населения, проживающего в городских районах, неуклонно растёт во всех обществах мира.

В-четвертых, урбанизация тесно связана с миграцией из сельской местности в города внутри стран и за их пределами. Хотя основным источником роста городов, как правило, является естественный прирост [17], миграция из сельской местности в город является важной второй движущей силой урбанизации. Невозможно понять современный опыт миграции без понимания процессов урбанизации и наоборот. В более общем плане современная трансформация изначально приводит к увеличению мобильности всех видов [20, 21]. Хотя миграция также влияет на урбанизацию, это асимметричная взаимосвязь, поскольку миграцию необходимо в первую очередь понимать, как подпроцесс более крупных тенденций урбанизации. В значительной степени перестройка спроса и предложения на рабочую силу будет определять географическое направление миграции и квалификационный состав мигрантов. Однако будучи частично независимой силой перемен, миграция также, как правило, усиливает более масштабные и мощные процессы трансформации урбанизации, которые уже идут. Например, выездная миграция во внутренние и международные пункты назначения может стимулировать урбанизацию в сельских районах происхождения либо за счёт денежных переводов в городах, либо за счёт переселения семей

мигрантов в города и посёлки [22–24]. Большая часть миграции из сельской местности в города направлена в города внутри стран, хотя со временем сельская миграция может распространяться через границы, поскольку мигранты получают доступ к более высоким доходам, образованию и связям в международных направлениях [21, 25]. Таким образом, как миграция из сельской местности в город, так и международная миграция обусловлены одними и теми же силами социальных преобразований.

Пятым подпроцессом этих переходов является урбанизация сельского пространства как с точки зрения демографических и культурных моделей, так и с точки зрения экономической основы обществ. Согласно теории изменения поляризации [26] и дифференцированной урбанизации [27], рост городов происходит в соответствии с определённой последовательностью децентрализации, при которой рост городов концентрируется сначала в крупных, затем в средних и, наконец, в небольших городских центрах в ходе современной трансформации. Таким образом, третьим компонентом роста городов в ходе современных преобразований является переклассификация сельских поселений в городские [28]. Это сопровождается постепенной деаграризацией сельских источников средств к существованию, при этом всё больше сельских семей получают дополнительные, не связанные с сельским хозяйством, доходы в растущих местных отраслях промышленности и сферы услуг или за счёт денежных переводов, отправляемых мигрантами. В ходе этого процесса сельские рыночные города постепенно теряют свои тесные связи с сельскими аграрными районами. Урбанизация сельского пространства имеет культурное измерение, проявляющееся в изменении образа жизни, вкусов и предпочтений, часто вместе с расширением образования и доступом к современным средствам массовой информации. Это также позволяет людям, живущим в небольших населённых пунктах, перенять «городские взгляды».

Это бросает вызов общепринятым представлениям о том, что на самом деле означает «сельский» и что всё ещё остаётся «сельским» во многих негородских районах в богатых обществах, если подавляющее большинство их населения больше не работает в сельском хозяйстве, а ездит в города и принимает «современные» культурные ценности. Эти «сельско-городские преобразования» показывают, что урбанизация влечёт за собой нечто большее, чем «рост городов», и включает в себя целый комплекс культурных и экономических изменений, которые затрагивают как «городские», так и «сельские» районы. Таким образом, демографические изменения и урбанизация тесно и взаимно связаны с культурными, экономическими и технологическими изменениями. Это ещё раз демонстрирует высокую степень взаимосвязи фундаментальных сдвигов в различных областях социальных преобразований, образующих плотную сеть изменений.

Интересным аспектом глобализации является то, что любое сообщество, будь то город или социальная общность другого плана, теперь является носите-

лем более широких интересов. Конечно, города всегда стремились реализовывать международные возможности (торговля), но именно глобальные процессы помогли им участвовать в деятельности мирового масштаба. Чтобы извлечь пользу из новых условий, города принимают участие в коллективной деятельности, а свой упадок или выход из системы глобальных установок переживают совместно с другими городами по мере изменения обстоятельств, влияющих на всех сразу [29].

Во время самого последнего цикла глобализации города стали отличаться уникальностью и специализацией. Многие из них имеют наиболее высокие уровни доходов в рамках соответствующих регионов и стремятся максимально эффективно использовать свою инфраструктуру, улучшенное качество жизни и более высокий по сравнению с крупными мегаполисами уровень безопасности и экологических показателей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глобализация как социальная трансформация поменяла полностью процесс урбанизации. Так, города меняются в следующих аспектах:

- Суть и структура городского сообщества: тренд агломерационного роста, формирования мегаполисов, появление сверхгородов.
 - Социокультурные изменения: концепт информационного города, ставший основой человеческого сообщества в постиндустриальное время [30].
 - Политическое влияние: городское пространство становится базисом формирования глобальной элиты и новых политических практик [31].
- Современный глобальный город отличается рядом аспектов [32]:
- Концентрация человеческих ресурсов.
 - Взаимодействие с мировым капиталом.
 - Площадка для контроля капитала.
 - Поляризация населения (как в рамках географии, так и в рамках экономического развития).
 - Большие социальные издержки.

Города воспринимаются носителями глобальных признаков, во многом являясь «мягкой силой» процесса глобализации. Кроме этого, они выполняют вполне конкретные субъектные функции в геосоциальном пространстве, становясь движущей силой глобализирующегося мира.

Конечно, данные процессы не однонаправленны, как, возможно, это воспринималось в рамках линейного подхода к социальному развитию. Например, современная ситуация, связанная с повсеместными ограничениями, вызванными пандемией COVID-19, несколько нивелировала роль городов, поставив их под более строгое воздействие государственной политики той или иной страны.

Конфликт интересов

Автор данной статьи заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жижек С. *Устройство разрыва. Параллаксное видение*. М.: Европа; 2008.
2. Балуев Д.Г. Меняющаяся роль государства в контексте современных глобальных изменений. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2003; 1: 160-175.
3. *Beyond modern society: emerging trends*. URL: <https://toolkit.pe2020.eu/resource/beyond-modern-society-emerging-trends-b2-2> [date of access: 01.12.2020].
4. Малиновский П.В. Глобализация как цивилизационный процесс. *Россия и современный мир*. 2001; 2(31): 5-30.
5. Барлыбаев Х.А. Избранные труды. Том II. *Философская антропология, глобализация, устойчивое развитие, сознание и идентичность*. М.: Научная библиотека; 2014.
6. Егоренкова М.А. Концептуализация понятия «глобальное управление». *Вопросы политологии*. 2019; 10(50): 2203-2210. doi: 10.35775/PSI.2019.50.10.014
7. *Zopag.Com: Domain DB profile: Climate change*. URL: <http://www.climatechange.carboncapturereport.org> [date of access: 01.12.2021].
8. Biscop S. *Coronavirus and power: The impact on international politics*. *Security policy brief*. 2020; 126.
9. Лавров заявил о резком повышении роли национальных государств в условиях пандемии. URL: <https://tass.ru/politika/8335025> [дата доступа: 01.12.2021].
10. Академики РАН о мировой экономике во время кризиса. *Научная Россия*. 29.03.2020. URL: <https://scientificrussia.ru/articles/rossijskie-spetsialisty-ob-ekonomicheskikh-aspektah-pandemii> [дата доступа: 01.12.2020].
11. Campbell KM, Doshi R. The Coronavirus could reshape global order. *Foreign Affairs*. URL: <https://www.foreignaffairs.com/articles/china/2020-03-18/coronavirus-couldreshape-global-order> [date of access: 01.12.2020].
12. Hirschman A. Social conflicts as pillars of democratic market society. *Political Theory*. 1994. 22(2): 203-218.
13. Kirk D. Demographic transition theory. *Popul Stud*. 1996; 50(3): 361-387.
14. Fox SR. Urbanization as a global historical process: Theory and evidence from sub-Saharan Africa. *Popul Dev Rev*. 2012; 38(2): 285-310. doi: 10.1111/j.1728-4457.2012.00493.x
15. Annez PC, Buckley RM. *Chapter 1. Urbanization and growth: Setting the context*. URL: https://www.researchgate.net/publication/238730510_CHAPTER_1_Urbanization_and_Growth_Setting_the_Context [date of access: 22.10.2021].
16. Lasuen JR. Urbanisation and development of the temporal interaction between geographical and sectoral clusters. *Urban Stud*. 1973; 10(2): 163-188.
17. Feldman M, Florida R. The geographic sources of innovation: Technological infrastructure and product innovation in the United States. *Ann Assoc Am Geogr*. 1994; 84(2): 210-229.
18. Florida R. Cities and the creative class. *City Community*. 2003; 2: 13-19. doi: 10.1111/1540-6040.00034
19. Jacobs J. *The death & life of great American cities*. New York: Penguin Books Ltd.; 1984.
20. Skeldon R. The evolution of migration patterns during urbanization in Peru. *Geogr Rev*. 1977; 67(4): 394-411.
21. Zelinsky W. The hypothesis of the mobility transition. *Geogr Rev*. 1971; 61(2): 219-249.

22. Berriane M. Emigration internationale du travail et mirco-urbanisation dans le rif oriental: Cas du centre de Taouima (Région de Nador, Maroc). 1997. *Migration Internationale et Changements Sociaux dans le Maghreb. Actes du Colloque Internationale du Hammamet, Tunisie*. 1993; 21-25: 75-97.
23. De Haas H. The Myth of invasion. The inconvenient realities of African migration to Europe. *Third World Q*. 2020; 29(7): 1305-1322. doi: 10.1080/01436590802386435
24. King R, Skeldon R. "Mind the Gap!" Integrating approaches to internal and international migration. *J Ethn Migr Stud*. 2010; 36(10): 1619-1646.
25. De Haas H. Migration transitions: A theoretical and empirical inquiry into the developmental drivers of international migration. *IMI/DEMIG Working Papers*. 2010; 24.
26. Richardson HW. Polarization reversal in developing countries. *Pap Reg Sci*. 1980; 45(1): 67-85.
27. Geyer H, Kontuly T. A theoretical foundation for the concept of differential urbanization. *Int Reg Sci Rev*. 1993; 15(2): 157-177. doi: 10.1177/016001769301500202
28. Bloom DE, Khanna T. The urban revolution. *Finance Dev*. 2007; 44(3): 9-14.
29. Clark G. *Global cities: A short history*. Brookings Institution Press; 2016.
30. Матвеева О.Ю. Глобальные города – города, меняющие социально-культурное пространство. *Вестник науки Сибири*. 2015; 1(16): 93-97.
31. Попов Д.Г., Жабенко И.Д. Глобальный город как центр глобальных услуг. *Общество. Коммуникация. Образование*. 2018; 9(3): 23-28. doi: 10.18721/JHSS.9303
32. Friedmann J. The world city hypothesis. *Dev Change*. 1986; 17(1): 69-83. doi: 10.1111/j.1467-7660.1986.tb00231.x

REFERENCES

1. Žižek S. *Gap structure. The parallax view*. Moscow: Evropa; 2008. (In Russ.).
2. Baluev DG. The changing role of the state in the context of modern global changes. *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod*. 2003; 1: 160-175. (In Russ.).
3. *Beyond modern society: emerging trends*. URL: <https://toolkit.pe2020.eu/resource/beyond-modern-society-emerging-trends-b2-2> [date of access: 01.12.2020].
4. Malinovsky PV. Globalization as a civilizational process. *Russia and Contemporary World*. 2001; 2(31): 5-30. (In Russ.).
5. Barlybaev Kh.A. *Selected works. Volume II. Philosophical anthropology, globalization, sustainable development, consciousness and identity*. Moscow: Nauchnaya biblioteka; 2014. (In Russ.).
6. Egorenkova MA. Conceptualization of the concept "global governance". *Political Science Issue*. 2019; 10(50): 2203-2210. (In Russ.). doi: 10.35775/PSI.2019.50.10.014
7. *Zopag.Com: Domain DB profile: Climate change*. URL: <http://www.climatechange.carboncapturereport.org> [date of access: 01.12.2021].
8. Biscop S. *Coronavirus and power: The impact on international politics*. *Security policy brief*. 2020; 126.
9. *Lavrov announced a sharp increase in the role of nation-states in a pandemic*. URL: <https://tass.ru/politika/8335025> [date of access: 01.12.2021]. (In Russ.).

10. Academicians of the Russian Academy of Sciences on the global economy during the crisis. *Scientific Russia*. 29.03.2020. URL: <https://scientificrussia.ru/articles/rossijskie-spetsialisty-ob-ekonomicheskikh-aspektah-pandemii> [date of access: 01.12.2020]. (In Russ.).
11. Campbell KM, Doshi R. The Coronavirus could reshape global order. *Foreign Affairs*. URL: <https://www.foreignaffairs.com/articles/china/2020-03-18/coronavirus-couldreshape-global-order> [date of access: 01.12.2020].
12. Hirschman A. Social conflicts as pillars of democratic market society. *Political Theory*. 1994. 22(2): 203-218.
13. Kirk D. Demographic transition theory. *Popul Stud*. 1996; 50(3): 361-387.
14. Fox SR. Urbanization as a global historical process: Theory and evidence from sub-Saharan Africa. *Popul Dev Rev*. 2012; 38(2): 285-310. doi: 10.1111/j.1728-4457.2012.00493.x
15. Annez PC, Buckley RM. Chapter 1. Urbanization and growth: Setting the context. URL: https://www.researchgate.net/publication/238730510_CHAPTER_1_Urbanization_and_Growth_Setting_the_Context [date of access: 22.10.2021].
16. Lasuen JR. Urbanisation and development of the temporal interaction between geographical and sectoral clusters. *Urban Stud*. 1973; 10(2): 163-188.
17. Feldman M, Florida R. The geographic sources of innovation: Technological infrastructure and product innovation in the United States. *Ann Assoc Am Geogr*. 1994; 84(2): 210-229.
18. Florida R. Cities and the creative class. *City Community*. 2003; 2: 13-19. doi: 10.1111/1540-6040.00034
19. Jacobs J. *The death & life of great American cities*. New York: Penguin Books Ltd.; 1984.
20. Skeldon R. The evolution of migration patterns during urbanization in Peru. *Geogr Rev*. 1977; 67(4): 394-411.
21. Zelinsky W. The hypothesis of the mobility transition. *Geogr Rev*. 1971; 61(2): 219-249.
22. Berriane M. Emigration internationale du travail et mirco-urbanisation dans le rif oriental: Cas du centre de Taouima (Région de Nador, Maroc). 1997. Migration Internationale et Changements Sociaux dans le Maghreb. *Actes du Colloque Internationale du Hammamet, Tunisie*. 1993; 21-25: 75-97.
23. De Haas H. The Myth of invasion. The inconvenient realities of African migration to Europe. *Third World Q*. 2020; 29(7): 1305-1322. doi: 10.1080/01436590802386435
24. King R, Skeldon R. "Mind the Gap!" Integrating approaches to internal and international migration. *J Ethn Migr Stud*. 2010; 36(10): 1619-1646.
25. De Haas H. Migration transitions: A theoretical and empirical inquiry into the developmental drivers of international migration. *IMI/DEMIG Working Papers*. 2010; 24.
26. Richardson HW. Polarization reversal in developing countries. *Pap Reg Sci*. 1980; 45(1): 67-85.
27. Geyer H, Kontuly T. A theoretical foundation for the concept of differential urbanization. *Int Reg Sci Rev*. 1993; 15(2): 157-177. doi: 10.1177/016001769301500202
28. Bloom DE, Khanna T. The urban revolution. *Finance Dev*. 2007; 44(3): 9-14.
29. Clark G. *Global cities: A short history*. Brookings Institution Press; 2016.
30. Matveeva OYu. Global cities are cities that change the socio-cultural space. *Vestnik nauki Sibiri*. 2015; 1(16): 93-97. (In Russ.).
31. Popov DG, Zhabenko ID. Global cities as a center of global services. *Society. Communication. Education*. 2018; 9(3): 23-28. (In Russ.). doi: 10.18721/JHSS.9303
32. Friedmann J. The world city hypothesis. *Dev Change*. 1986; 17(1): 69-83. doi: 10.1111/j.1467-7660.1986.tb00231.x

Сведения об авторе

Смакотина Наталья Леоновна – доктор социологических наук, заведующая кафедрой глобальных социальных процессов и работы с молодёжью, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: smakotina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4253-4900>

Information about the author

Natalia L. Smakotina – Dr. Sc. (Soc.), Head of the Department of Global Social Studies and Youth Studies, Lomonosov Moscow State University, e-mail: smakotina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4253-4900>

ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИЕ ПРАКТИКИ МОЛОДЁЖИ В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**Антонова Н.Л.,
Мальцева А.П.**

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»
(620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Антонова Наталья Леонидовна,
e-mail: n.l.antonova@urfu.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. В условиях пандемии актуализирован вопрос о сохранении и развитии здоровья молодым поколением, которое осваивает новые практики здоровьесбережения.

Цель исследования. Осуществить на основе опросных данных анализ практик здоровьесбережения молодёжи крупного промышленного города.

Материалы и методы. Методом сбора информации стал онлайн-опрос молодёжи, проведённый в Екатеринбурге в ноябре-декабре 2021 года ($n = 120$). Для уточнения практик здоровьесбережения проведено 37 полуструктурированных интервью со студентами.

Результаты. Молодое поколение высоко оценивает состояние своего здоровья (69 %), однако в период пандемии 56 % опрошенных ориентированы на самолечение. 93 % респондентов выразили доверие системе оказания медицинской помощи, квалификации врачей, назначаемым лекарственным препаратами. 90 % опрошенных в период пандемии стали уделять больше внимания соблюдению правил личной гигиены. 2/3 респондентов указали, что стремятся контролировать стрессы. 51 % опрошенных принимают в профилактических целях витамины. Респонденты стараются исключить из образа жизни посещение мест большого скопления людей. В ходе исследования выявлено, что в условиях пандемии трансформируются представления о теле, которому в новых условиях предписывается функциональность и работоспособность.

Заключение. «Репертуар» практик здоровьесбережения в условиях пандемии изменяется. «Метод дополнения» представлен актуализацией личной гигиены, онлайн-коммуникациями для снижения уровня тревожности, приёмом витаминов. «Метод исключения» касается снижения доли контактов в местах массового скопления людей. Среди опрошенных представлены примерно в равных долях группы молодёжи, поддерживающей и не поддерживающей вакцинацию, а также нейтрально к ней относящейся. Тело рассматривается как функциональный ресурс, способный как оказать сопротивление внешним воздействиям, так и эффективно «работать» в условиях «новой нормальности».

Ключевые слова: здоровье, практики здоровьесбережения, вакцинация, тело, пандемия, молодёжь

Статья поступила: 19.03.2022

Статья принята: 20.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Антонова Н.Л., Мальцева А.П. Здоровьесберегающие практики молодёжи в условиях пандемии: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 57-63. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.7

HEALTH-SAVING PRACTICES OF YOUNG PEOPLE UNDER PANDEMIC CONDITIONS: A PILOT STUDY

**Antonova N.L.,
Maltseva A.P.**

Ural Federal University named
after the first President of Russia
B.N. Yeltsin (Mira str. 19, Yekaterinburg
620002, Russian Federation)

Corresponding author:
Natalya L. Antonova,
e-mail: n.l.antonova@urfu.ru

ABSTRACT

Background. In the context of the pandemic, the issue of maintaining and developing health by the younger generation, who create new health-saving practices, has been actualized.

The aim. An analysis of the health saving practices of young people in a large industrial city.

Materials and methods. The method of collecting information was an online survey of young people in Yekaterinburg ($n = 120$). Also 37 semi-formalized interviews were conducted.

Results. The young generation highly evaluates their health (69 %); 56 % are self-treated. At the same time, 93 % trust the system of medical care, doctors, and prescribed medications. 90 % of respondents during the pandemic paid more attention to personal hygiene. 2/3 try to control stress. 51 % take vitamins. The interviewees try to exclude crowded places. Pandemic transforms perceptions of the body, which prescribes functionality and performance.

Conclusions. The "repertoire" of health-saving practices in the conditions of the pandemic changes. "Method of addition" is represented by actualization of personal hygiene with the use of personal protective equipment, online communications, taking vitamins. "Exclusion method" refers to avoid crowded places. Among the respondents there are roughly equal proportions of young people who support and do not support vaccination, as well as those who are neutral about it. The body is seen as a functional resource that can "work" in the conditions of the "new normality".

Key words: health, health practices, vaccination, body, pandemic, youth

Received: 19.03.2022
Accepted: 20.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Antonova N.L., Maltseva A.P. Health-saving practices of young people under pandemic conditions: A pilot study. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 57-63. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.7

ВВЕДЕНИЕ

Модернизация современных общественных систем актуализировала вопросы сохранения и развития здоровья населения. В настоящее время в России проект по формированию здорового образа жизни населения входит в число приоритетных проектов правительства. Ключевая цель – увеличить долю граждан, приверженных здоровому образу жизни, до 60 % к 2025 году путём формирования у граждан ответственного отношения к своему здоровью [1].

Зачастую здоровье воспринимается как данность; его значимость повышается при возникновении проблем, ведущих к развитию заболеваний и ухудшению физического и психического состояния. Как утверждают исследователи [2], в основе нездорового поведения нередко лежит феномен «нереалистичного оптимизма», который заключается в том, что индивид переоценивает свои возможности и упускает из виду различные угрозы и опасности. Формированию данного явления способствуют отсутствие личного опыта болезни, уверенность в возможности избежания проблем со здоровьем или в их быстром решении.

Вместе с этим в условиях пандемии ситуация существенно изменилась, и проблематика сохранения здоровья стала особенно актуальна. Так, вследствие высокой заболеваемости коронавирусной инфекцией смертность в 2021 году увеличилась на 15,1 % по сравнению с 2020 годом [3]. Данное обстоятельство требует повышенного внимания к мерам самосохранения и контролем за их реализацией. Пандемия стала вызовом для всего человечества: по утверждению S. Matthewman и K. Huppatz, мы оказываемся вовлечёнными в беспрецедентный социальный эксперимент [4]. Меняются здоровьесберегающие практики: использование защитных масок и поддержание дистанции становятся необходимыми и рекомендованными для снижения риска заражения COVID-19. Но меры индивидуальной защиты, по мнению A. Clark и соавт. [5], не всегда легко реализовать через принуждение в современных демократических системах.

Молодое поколение следует отнести к наиболее активной и рискованной социальной группе. Исследователи отмечают её высокий протестный настрой и экстремальность [6–8]. Через систему индивидуальных выборов молодёжь конструирует общество как собственную реальность, но при этом на выбор и траектории влияет изменяющаяся реальность [9]. По утверждению Н.А. Вялых, «реакция молодых людей на социальные изменения является в большей степени осознанной, а поступки целерациональными» [10]. Каким образом современная городская молодёжь, с одной стороны, реализует протестный потенциал по отношению к определяемым государством практикам здоровьесбережения и, с другой стороны, стремится сохранить своё здоровье в условиях пандемии? В нашем исследовании мы предпринимаем попытку заполнить лакуны и определить особенности здоровьесберегающего поведения молодых горожан.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Осуществить на основе опросных данных анализ практик здоровьесбережения молодёжи крупного промышленного города в период пандемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовательский анализ самосохранительного поведения жителей мегаполиса требует обращения к результатам социологического опроса, который был проведён в ноябре–декабре 2021 года в г. Екатеринбурге. Объектом исследования выступила молодёжь в возрасте от 18 до 35 лет. В ситуации неблагополучной эпидемиологической обстановки респонденты были опрошены онлайн в формате анкетирования в Google-форме. Объём выборки составил 120 человек; из них 25 % – юноши, 75 % – девушки. 86 % опрошенных идентифицируют себя как представителя среднего класса. Авторская анкета содержала 34 вопроса (закрытые, открытые, полужакрытые). Полученные материалы были обработаны с использованием программы SPSS 20.0 (IBM Corp., США).

Мы также провели серию полуформализованных интервью со студентами первого курса бакалавриата, получающих образование по направлениям социально-гуманитарного профиля в ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» (г. Екатеринбург). В ходе исследования была поставлена задача определения преимуществ и недостатков используемых и рекомендованных практик здоровьесбережения в условиях пандемии, в том числе и отношение к вакцинации от COVID-19. Всего опрошены 37 студентов в возрасте от 17 до 19 лет; из них 29 девушек, 8 юношей. Материалы интервью были транскрибированы и обобщены в соответствии с целевыми установками исследования.

Исследование имело пилотный характер; опрос не может быть охарактеризован как репрезентативный, его данные не могут быть распространены на всю совокупность молодёжи, в том числе проживающей в других регионах. Исследование позволяет очертить проблемные зоны становления и реализации здоровьесберегающих практик молодым поколением, а также привлечь внимание специалистов к актуальным вопросам в области охраны здоровья.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования свидетельствуют о том, что большинство респондентов (69 %) высоко оценивают состояние своего здоровья. При этом 56 % опрошенных в случае болезни лечатся самостоятельно, 12 % всегда обращаются за медицинской помощью, 84 % обращаются к врачу время от времени. 93 % респондентов выразили доверие современной системе оказания медицинской помощи, квалификации врачей, назначаемым лекарственными препаратами.

Респонденты отмечают трудности получения медицинской помощи в период пандемии: существенный уровень заболеваемости привёл к ситуации большой загруженности медицинских учреждений и медперсонала: *«Обращалась к врачу. Через день после обращения приезжает врач, смотрит здоровье, на следующий день ты попадаешь в список людей, к которым приезжают делать тест, тест делается 2–3 дня. Но вызвать скорую очень проблематично, может понадобится 50 звонков, а может и все 300»* [жен.]. Зачастую врачебной помощью пренебрегают, потому что заболевание проходит в лёгкой форме и не проявляет серьёзных симптомов. *«Болела “коронай” год назад вместе со своей семьёй, одноклассница перестала чувствовать запахи и вкусы, позже я, и потом вся моя семья. К врачу никто не обращался, перенесли в лёгкой форме без осложнений»* [жен.].

Здоровье в системе жизненных ценностей молодёжи занимает лидирующее положение (53 %), уступая первенство такой ценности, как семья (84 %). В условиях турбулентности, связанной с распространением коронавирусной инфекции, семья и здоровье становятся ведущими в ценностной системе молодого поколения, как влияя на воспроизводство «старых» практик здоровьесбережения, так и формируя новые системы действий и взаимодействий.

Согласно результатам исследования, 75 % респондентов заботятся о состоянии собственного здоровья. 90 % опрошенных в период пандемии стали уделять больше внимания соблюдению правил личной гигиены. Данная практика не требует значительных материальных и временных затрат, способствует формированию защитного барьера от инфекции: *«В моём кармане всегда можно найти антисептик, а если я захожу в помещение, где есть физраствор, я не упускаю момента обработать свои руки»* [муж.]. Молодёжь также отмечает, что стала чаще мыть руки и протирать влажными салфетками поверхность телефонов, наушников и пр.: *«Дома первым делом мою руки, протираю чехол у телефона, могу ещё ключи протереть, дверную ручку, так спокойнее»* [жен.].

Особое внимание в текущей ситуации респонденты уделяют дополнительным мерам профилактики, а именно используют защитные маски. Оценки молодёжью эффективности данного способа противоречивы. В ходе интервью большая часть информантов поддерживает практику использования масок, однако каждый второй опрошенный выразил сомнения по вопросу их эффективности. Речь идёт о том, что, в соответствии с рекомендациями Роспотребнадзора, одноразовые маски необходимо менять каждые два-три часа, а население не придерживается этих рекомендаций: *«...большинство не меняет маски так, как положено, из-за чего маски не имеют должного эффекта»* [жен.]; *«...носят их неделями, толк в них пропадает»* [жен.]. При этом молодое поколение заявляет об ответственности каждого человека за соблюдение правил и норм санитарно-гигиенического поведения в период пандемии: *«при плохом самочувствии остаюсь дома... надеюсь, что и другие поступают так же»* [жен.]; *«ношение маски даёт какую-никакую защиту от поступления в организм вирусов*

и от заражения других, ведь я могу быть и просто носителем, без симптомов болезни» [жен.].

2/3 респондентов указали, что в период пандемии стремятся контролировать стрессы и справляться самостоятельно с психологическим давлением, которое оказывает ситуация. Самым распространённым и «работающим» инструментом, по мнению опрошенных, является общение с друзьями и знакомыми: *«общаюсь, разговариваю о «короне», обсуждаю знакомых, которые переболели, вроде так легче становится, приходит понимание, что ты не один»* [жен.]. Среди действенных механизмов борьбы со стрессами в ходе интервью были отмечены: физическая активность; ориентация на учёбу/работу; уменьшение доли времени, отводимого социальным сетям и новостным порталам. Практику обращения к психологам и психотерапевтам как способ снижения уровня тревожности в пандемический период молодёжь не рассматривает как актуальную, полагая, что самостоятельно может справиться со своими страхами и опасениями.

Ещё одной практикой здоровьесбережения выступает приём витаминов (51 %). По мнению опрошенных, витамины улучшают общее состояние и самочувствие, помогают восполнить упадок сил, что благоприятно влияет на жизнедеятельность и социальную активность: *«Я принимаю каждое утро витамины для укрепления своего здоровья»* [жен.]. В ходе интервью каждый третий информант отметил, что расширил «репертуар» БАДов в период пандемии, поскольку *«это позволяет чувствовать себя спокойнее и увереннее, что организм справится с инфекцией, если будет подготовлен»* [жен.].

Указанные выше здоровьесберегающие практики в период пандемии можно охарактеризовать как дополнительные к повседневному образу жизни. Наряду с ними следует выделить и практики исключения из образа жизни рисков для здоровья поведенческих действий. Наряду с традиционным режимом здоровьесбережения (отказ от курения, употребления алкоголя, наркотических средств) в период пандемии актуализировались практики отказа от посещения массовых мероприятий и мест большого скопления людей: *«стараюсь обходить большое скопление людей»* [муж.]; *«хожу за продуктами или очень рано, или очень поздно, так меньше народу в магазине»* [жен.]. Вместе с этим несколько информантов можно отнести к фаталистам, которые принимают текущую ситуацию как определённый вызов для защитных сил организма, его адаптационного потенциала: *«общественных мероприятий я не избегаю..., всем... суждено заболеть»* [жен.]; *«ходила и буду ходить в торговые центры»* [жен.]; *«если заболею, ...так и должно быть»* [жен.].

Особого внимания заслуживает вопрос о вакцинации. В ходе интервью информанты разделились на три примерно равные группы. Первая группа опрошенных считает, что вакцинация необходима, чтобы остановить распространение инфекции и победить вирус: *«Считаю, что каждый совершеннолетний гражданин обязан вакцинироваться, если нет каких-то показаний по здоровью. По многим источникам можно понять, что вакцинированные легче переносят болезнь»* [жен.]; *«С помощью вакцинации в частности мы сможем максимально развить кол-*

лективный иммунитет и побороть вирус» [муж.]. Вторая группа респондентов выступает против вакцинации, мотивируя отказ вакцинироваться, во-первых, недоверием к экстренно разработанной вакцине: «К вакцинации я отношусь отрицательно, так как считаю, что это новая вакцина, которую до того, как ставить людям, толком не экспериментировали. То есть никто не знает, что ждёт вакцинированных через пару лет, и это меня очень пугает» [жен.]; во-вторых, принудительным характером вакцинации: «На фоне вакцинации ущемляются стандартные права человека, которые были у каждого в условиях доковидного времени» [муж.]; в-третьих, агрессивной рекламной кампании: «Считаю, что пропаганда прививки слишком агрессивная, несмотря на добровольность» [жен.]. Третья группа информантов высказала нейтральное отношение: «отношусь к вакцинации нейтрально, потому что на данный момент она необязательна» [жен.].

В ходе исследования мы также затронули проблематику влияния пандемической ситуации на функциональность тела, т. е. его способности эффективно «работать» в новых условиях. В ходе интервью студенты-информанты указали на появление новых страхов, которые связаны как с коронавирусной инфекцией (страх за себя и своих близких, которые могут заболеть), так и с функциональностью своего тела для успешной и качественной жизнедеятельности. Студенты отмечают, что режим изоляции и ограничений ведёт к снижению физической активности, а малоподвижный образ жизни может стать причиной сердечно-сосудистых заболеваний, неврологических отклонений и др. По оценкам опрошенных, проблемной зоной прежде всего становится опорно-двигательный аппарат: «тело требует активности, спина начала болеть и шея от постоянного «сидения» за компьютером» [жен.]; «стал меньше двигаться, а надо бы, боюсь, что остеохондроз заработаю» [муж.]. Снижение физической активности молодёжи в период пандемии отмечает İ. Aslan: опросив 350 студентов трёх университетов Турции, исследователь заключает, что в среднем выполнение физической практики сократилось с 47,3 минуты в день до пандемии до 26,24 минуты [11]. Ещё одной проблемной точкой становятся опасения, связанные с заболеваниями офтальмологического профиля: «субъективно у меня зрение ухудшилось» [жен.]; «компьютер и телефон – это зло для глаз, когда много смотришь в экран получаешь «сухой глаз»» [жен.]. Материалы исследования продемонстрировали, что снижение физической активности в период пандемии негативно влияет на функциональность тела, его возможности качественно воспроизводить привычный образ жизни. Кроме того, наблюдается отход от стереотипных моделей привлекательного тела к режиму функционального в условиях «новой нормальности»: «тело должно справляться с нагрузками, быть «работающим»» [жен.].

ОБСУЖДЕНИЕ

В современном поле научного дискурса активно обсуждается концепция R. Crawford [12], в которой заявлено

новое понимание здоровья: ответственность за состояние здоровья и принятие решений в этой области принадлежит исключительно индивиду. Исследование утвердило позицию молодёжи о становлении ответственного поведения в отношении собственного здоровья с одной стороны, но с другой стороны, в условиях пандемии наблюдается ориентация на самолечение, что связано, скорее всего, с большой загруженностью системы оказания медицинской помощи. Вызывает опасение и определённый в исследовании факт отношения к здоровью как к инструментальной ценности. Думается, что без специальных информационных, пропагандистских, коммуникативных и других мероприятий такая ориентация будет воспроизводиться и в дальнейшем, о чём свидетельствуют данные, полученные А.А. Ковалевой: «Пытаюсь оставаться конкурентоспособным, в частности, на рынке труда, человек вынужден жертвовать своим здоровьем» [13].

Исследование показало, что пандемия оказывает влияние на субъективную оценку психического состояния молодёжи, в частности, на повышение уровня тревожности. Исследователи отмечают, что высокая смертность от COVID-19 стала фактором агрессивного поведения и суицидальных намерений, источником депрессий и нарушения сна, причиной социальной изоляции и формирования чувства беспомощности [14–17]. Вместе с этим в исследовании D.S. Zanini и соавт. на основе эмпирических данных утверждается, что жители Бразилии, практикующие социальную изоляцию, проявляли меньшее беспокойство и испытывали меньший стресс и депрессии [18].

Пандемия выявила и новые представления о телесности. Результаты нашего исследования согласуются с выводами А.В. Меренкова, утверждающего, что тело «должно быть в первую очередь психически и физически здоровым, независимо от внешней привлекательности... Основной задачей каждого человека стало конструирование тела, которое в максимальной степени защищено от угрозы заболевания» [19]. В нашем исследовании, проведённом в 2019 году, на основании опроса населения крупного города ($n = 360$) мы пришли к выводу о том, что люди всех возрастных групп оценивают такие «телесные» качества, как выносливость и продуктивность в работе, по сравнению с внешней привлекательностью [20].

Наше исследование было пилотным, его результаты нельзя распространять на всю совокупность российской молодёжи, однако полученные материалы позволяют очертить особенности практик здоровьесбережения молодого поколения, «репертуар» которых расширился в условиях пандемии и становления «новой нормальности».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведённого исследования позволили прийти к следующим выводам. Здоровье в системе ценностей современной молодёжи занимает лидирующие позиции. При этом здоровьесберегающие практики в структуре образа жизни в условиях пандемии расши-

ряются: актуализируются личная гигиена как профилактика вирусных заболеваний, использование средств индивидуальной защиты, вакцинация. Для снижения эмоционального напряжения молодёжь использует коммуникативные онлайн-каналы, позволяющие в форме общения ослабить уровень тревожности. С целью повышения адаптационного потенциала организма принимаются витамины. Наряду с «методами дополнения» молодёжь также применяет «метод исключения», нацеленный на уменьшение доли непосредственных контактов в публичных местах. Наблюдается переориентация в оценках собственного тела, которое рассматривается как функциональный ресурс, способный как оказать сопротивление внешним воздействиям, так и эффективно «работать» в условиях «новой нормальности».

Финансирование

Исследование выполнено за счет совместного гранта Российского научного фонда и Правительства Свердловской области № 22-28-20365.

Конфликт интересов

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

Благодарности

Авторы благодарят анонимных рецензентов, ознакомившихся со статьёй и сделавших замечания, позволившие улучшить её качество.

ЛИТЕРАТУРА

1. Паспорт приоритетного проекта «Формирование здорового образа жизни». URL: <http://static.government.ru/media/files/Soj3PKR09Ta9BAuW30bsAQpD2qTAI8vG.pdf> [дата доступа: 01.03.2022].
2. Никифоров Г.С. Барьеры, препятствующие здоровому поведению. *Институт психологии Российской академии наук. Социальная и экономическая психология*. 2016; 1(4): 74-93. URL: <http://www.soc-econom-psychology.ru/engine/documents/document280.pdf> [дата доступа: 03.01.2022].
3. Смертность среди больных COVID-19 в России за год превысила 500 тыс. URL: <https://www.rbc.ru/society/28/01/2022/61f419dd9a79479898e05026> [дата доступа: 23.02.2022].
4. Matthewman S, Huppatz K. A sociology of Covid-19. *J Sociol*. 2020; 56(4): 675-683. doi: 10.1177/1440783320939416
5. Clark A, Jit M, Warren-Gash C, Guthrie B, Wang HHX, Mercer SW, et al. Global, regional, and national estimates of the population at increased risk of severe COVID-19 due to underlying health conditions in 2020: A modelling study. *Lancet Glob Health*. 2020; 8(8): e1003-e1017. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30264-3
6. Габа О.И. Молодежь как субъект протестных настроений. *Знание, понимание, умение*. 2015; (1): 144-151. doi: 10.17805/zpu.2015.1.13
7. Зубок Ю.А., Чупров В.И. Молодежный экстремизм. Сущность и особенности проявления. *Социологические исследования*. 2008; (5): 37-47.

8. Трынов Д.В., Дидковская Я.В. Новая протестная молодежь: самоидентификация, социальное самочувствие и образ будущего. *Известия Уральского федерального университета. Серия 3: Общественные науки*. 2019; 3(191): 118-127.
9. Зубок Ю.А., Чупров В.И. Современная социология молодежи: изменяющаяся реальность и новые теоретические подходы. *Россия реформирующаяся: ежегодник*. М.: Новый Хронограф; 2017; 15: 12-48.
10. Вялых Н.А. Социальное поведение российской молодежи в сфере здравоохранения: проблемы концептуализации в социологическом дискурсе. *Вестник НГУЭУ*. 2019; (4): 269-277. doi: 10.34020/2073-6495-2019-4-269-277
11. Aslan İ. Evaluating wellbeing and worries of university students during Covid-19 pandemic. *Atatürk Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi*. 2021; 35(1): 245-261. doi: 10.16951/atauniibid.776979
12. Crawford R. Health as a meaningful social practice. *Health*. 2006; 10(4): 401-420. doi: 10.1177/1363459306067310
13. Ковалева А.А. Самоохранительное поведение в системе факторов, оказывающих влияние на состояние здоровья. *Журнал социологии и социальной антропологии*. 2008; 11(2): 179-191.
14. Островский Д.И., Иванова Т.И. Влияние новой коронавирусной инфекции COVID-19 на психическое здоровье человека (обзор литературы). *Омский психиатрический журнал*. 2020; 2-15(24): 4-10. doi: 10.24411/2412-8805-2020-10201
15. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: Rapid review of the evidence. *Lancet*. 2020; 395(10227): 912-920. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30460-8
16. Maia BR, Dias PC. Ansiedade, depressão e estresse em estudantes universitários: O impacto da COVID-19. *Estud Psicol*. 2020; (37): e200067. doi: 10.1590/1982-0275202037e200067
17. Zheng W. Mental health and a novel coronavirus (2019-nCoV) in China. *J Affect Disord*. 2020; 269: 201-202. doi: 10.1016/j.jad.2020.03.041
18. Zanini DS, Peixoto EM, Andrade JMd, Tramonte L. Practicing social isolation during a pandemic in Brazil: A description of psychosocial characteristics and traits of personality during COVID-19 lockdown. *Front Sociol*. 2021; (6): 615232. doi: 10.3389/fsoc.2021.615232
19. Меренков А.В. Конструирование востребованного тела: до и во время пандемии. *Вестник Удмуртского университета. Социология. Политология. Международные отношения*. 2021; (2): 145-154. doi: 10.35634/2587-9030-2021-5-2-145-154
20. Antonova N, Merenkov A. Perceived personal attractiveness and self-improvement practices. *Changing Societies & Personalities*. 2020; 4(1): 91-106. doi: 10.15826/csp.2020.4.1.091

REFERENCES

1. Passport of the priority project "Formation of a healthy lifestyle" URL: <http://static.government.ru/media/files/Soj3PKR09Ta9BAuW30bsAQpD2qTAI8vG.pdf> [date of access: 01.03.2022]. (In Russ.).
2. Nikiforov GS. Barriers interfering healthy behavior. *Institute of Psychology Russian Academy of Sciences. Social and Economic Psychology*. 2016; 1(4): 74-93. URL: <http://www.soc-econom-psy>

chology.ru/engine/documents/document280.pdf [date of access: 03.01.2022]. (In Russ.).

3. Mortality among patients with COVID-19 in Russia exceeded 500 thousand in a year. URL: <https://www.rbc.ru/society/28/01/2022/61f419dd9a79479898e05026> [date of access: 23.02.2022]. (In Russ.).

4. Matthewman S, Huppatz K. A sociology of Covid-19. *J Sociol.* 2020; 56(4): 675-683. doi: 10.1177/1440783320939416

5. Clark A, Jit M, Warren-Gash C, Guthrie B, Wang HHX, Mercer SW, et al. Global, regional, and national estimates of the population at increased risk of severe COVID-19 due to underlying health conditions in 2020: A modelling study. *Lancet Glob Health.* 2020; 8(8): e1003-e1017. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30264-3

6. Gaba OI. Youth as a subject of protest feelings. *Knowledge, Understanding, Skill.* 2015; (1): 144-151. (In Russ.). doi: 10.17805/zpu.2015.1.13

7. Zubok YuA, Chuprov VI. Youth extremism. Essence and features of manifestation. *Sociological Studies.* 2008; (5): 37-47. (In Russ.).

8. Trynov DV, Didkovskaya YaV. New protest youth: Self-identification, social well-being and future image. *Izvestiya Ural'skogo federal'nogo universiteta. Seriya 3: Obshchestvennye nauki.* 2019; 3(191): 118-127. (In Russ.).

9. Zubok YuA, Chuprov VI. Contemporary sociology of youth: Changing reality and new theoretical approaches. Russia in reform: a yearbook. *Rossiya reformiruyushchayasya: ezhegodnik.* Moscow: Novyy Khronograf; 2017; 15: 12-48. (In Russ.).

10. Vyalykh NA. Social behavior of the Russian youth in the health care field: Conceptualization issues in sociological discourse. *Vestnik NSUEM.* 2019; (4): 269-277. (In Russ.). doi: 10.34020/2073-6495-2019-4-269-277

11. Aslan İ. Evaluating wellbeing and worries of university students during Covid-19 pandemic. *Atatürk Üniversitesi İktisadi*

ve İdari Bilimler Dergisi. 2021; 35(1): 245-261. doi: 10.16951/ataunib.776979

12. Crawford R. Health as a meaningful social practice. *Health.* 2006; 10(4): 401-420. doi: 10.1177/1363459306067310

13. Kovaleva AA. Self-care behavior in the system of health affecting factors. *The Journal of Sociology and Social Anthropology.* 2008; 11(2): 179-191. (In Russ.).

14. Ostrovskiy DI, Ivanova TI. Influence of the new coronavirus COVID-19 infection on human mental health (literature review). *Omskiy psikiatricheskiy zhurnal.* 2020; 2-15(24): 4-10. (In Russ.). doi: 10.24411/2412-8805-2020-10201

15. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: Rapid review of the evidence. *Lancet.* 2020; 395(10227): 912-920. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30460-8

16. Maia BR, Dias PC. Ansiedade, depressão e estresse em estudantes universitários: O impacto da COVID-19. *Estud Psicol.* 2020; (37): e200067. doi: 10.1590/1982-0275202037e200067

17. Zheng W. Mental health and a novel coronavirus (2019-nCoV) in China. *J Affect Disord.* 2020; 269: 201-202. doi: 10.1016/j.jad.2020.03.041

18. Zanini DS, Peixoto EM, Andrade JMd, Tramonte L. Practicing social isolation during a pandemic in Brazil: A description of psychosocial characteristics and traits of personality during COVID-19 lockdown. *Front Sociol.* 2021; (6): 615232. doi: 10.3389/fsoc.2021.615232

19. Merenkov AV. Designing the in-demand body: Before and during the pandemic. *Bulletin of Udmurt University. Sociology. Political Science. International Relations.* 2021; (2): 145-154. (In Russ.). doi: 10.35634/2587-9030-2021-5-2-145-154

20. Antonova N, Merenkov A. Perceived personal attractiveness and self-improvement practices. *Changing Societies & Personalities.* 2020; 4(1): 91-106. doi: 10.15826/csp.2020.4.1.091

Сведения об авторах

Антонова Наталья Леонидовна – доктор социологических наук, профессор, профессор кафедры прикладной социологии, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», e-mail: n.l.antonova@urfu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2063-4970>

Мальцева Алена Петровна – магистр социологии кафедры прикладной социологии, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», e-mail: maltsap@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1582-5868>

Information about the authors

Natalya L. Antonova – Dr. Sc. (Soc.), Professor at the Department of Applied Sociology, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: n.l.antonova@urfu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2063-4970>

Alena P. Maltseva – Master of Sociology at the Department of Applied Sociology, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: maltsap@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1582-5868>

Статья опубликована в рамках Международной научно-практической конференции «Взаимосвязь глобальных и региональных воздействий в системе современных обществ: трансформации социальных пространств, социально-демографические изменения и пандемические процессы»

ПРОСОЦИАЛЬНЫЕ ПРАКТИКИ ТРАКТОВКИ СМЕРТНОСТИ: РАСОВО-АНТРОПОЛОГИЧЕСКИЙ И СОЦИОКУЛЬТУРНЫЙ АСПЕКТЫ

Левченко И.Е.¹,
Полюшкевич О.А.²

¹ ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» (620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Полюшкевич
Оксана Александровна,
e-mail: okwook@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Восприятие смертности соответствует просоциальным практикам, определяющим общественное развитие. Соединение инструментов расово-антропологического и социокультурного подходов позволяет выявить универсальные характеристики и трактовки смертности в современном обществе.

Цель исследования. Выявление просоциальных практик и конкретных трактовок смертности через единство и противостояние расово-антропологического и социокультурного аспектов общественного воспроизводства.

Методы. Проведён массовый опрос населения РФ ($n = 1200$) в возрасте от 18 до 65 лет, проживающего в разных регионах РФ (55 % женщин, 45 % мужчин). Выполнен контент-анализ материалов СМИ и сети Интернет на предмет фиксации оценок смерти и смертности в РФ за последние пять лет ($n = 1456$) в публикациях или информационных сообщениях.

Результаты. Воздействие антропологического и социокультурного аспектов проявилось через то, как и что люди думают о смерти, а также то, как бытует смерть в социальном контексте. Личностно-психологический контекст восприятия смерти и смертности, мемориализация мест смерти и социально-экономические и культурно-организационные практики смерти определяют личные и социальные формы трактовки смертности. Контент-анализ материалов СМИ и сети Интернет выявил существенное увеличение объёма и частоты внимания к смерти и смертности. Это вызвано ситуацией с пандемией, а также актуализацией страхов россиян по своему самочувствию и социальным условиям принятия и оценки смерти и смертности.

Заключение. Просоциальные практики, являясь личным опытом переживания и инструментом социального включения в приемлемые нормы поведения, влияют на социокультурные смыслы и антропологические условия восприятия смертности.

Ключевые слова: антропологический подход, социокультурный подход, смерть, смертность, антропосоциология, просоциальные практики, просоциальные трактовки

Статья поступила: 13.03.2022
Статья принята: 18.04.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Левченко И.Е., Полюшкевич О.А. Просоциальные практики трактовки смертности: расово-антропологический и социокультурный аспекты. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 64-74. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.8

PROSOCIAL PRACTICES OF MORTALITY INTERPRETATION: RACIAL-ANTHROPOLOGICAL AND SOCIOCULTURAL ASPECTS

Levchenko I.E.¹,
Polyushkevich O.A.²

¹ Ural Federal University named
after the first President of Russia
B.N. Yeltsin (Mira str. 19, Yekaterinburg
620002, Russian Federation)

² Irkutsk State University
(Karla Marksa str. 1, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Oksana A. Polyushkevich,
e-mail: okwook@mail.ru

ABSTRACT

Background. The perception of mortality is consistent with pro-social practices that determine social development. Combining the tools of racial-anthropological and sociocultural approaches makes it possible to identify the universal characteristics and interpretations of mortality in modern society.

Aim of the study: identification of pro-social practices and specific interpretations of mortality through the unity and opposition of the racial-anthropological and socio-cultural aspects of social reproduction.

Methods. A mass survey of the population of the Russian Federation (n = 1200) aged 18 to 65 living in different regions of the Russian Federation (55 % women, 45 % men) was conducted. A content analysis of media and Internet materials was performed to fix estimates of death and mortality in the Russian Federation over the past five years (n = 1456) in publications or informational messages.

Results. The impact of the anthropological and sociocultural aspects was manifested through how and what people think about death, as well as how death exists in a social context. The personal-psychological context of the perception of death and mortality, the memorialization of places of death and the socio-economic and cultural-organizational practices of death determine the personal and social forms of interpretation of mortality. Content analysis of media materials and the Internet revealed a significant increase in the volume and frequency of attention to death and mortality. This is due to the situation with the pandemic, as well as the actualization of the fears of Russians about their well-being and social conditions for accepting and assessing death and mortality.

Conclusion. Prosocial practices, being a personal experience of experiencing and a tool for social inclusion in acceptable norms of behavior, influence sociocultural meanings and anthropological conditions for the perception of mortality.

Key words: anthropological approach, sociocultural approach, death, mortality, anthroposociology, prosocial practices, prosocial interpretations

Received: 13.03.2022
Accepted: 18.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Levchenko I.E., Polyushkevich O.A. Prosocial practices of mortality interpretation: racial-anthropological and sociocultural aspects. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 64-74. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.8

ОБОСНОВАНИЕ

Различия рас – это различия культур и цивилизаций, но при этом антропологическая эволюция сообществ строится на физиологических условиях изменения социального пространства, а социокультурная предполагает воздействие норм, ценностей, мировоззрения на восприятие не только жизни, но и смерти, а вместе с тем и смертности как социальной категории. Смертность населения в определённый исторический момент – это точка социальной фиксации личного развития и социальной активности, а также просоциальных практик, способствующих фиксации отношения к смертности как к социальному явлению и антропологической эволюции сообществ.

Антропологический подход предполагает соединение биологического, физиологического и культурного факторов, воздействующих на восприятие смертности. Социокультурный предполагает соединение личностно-мировоззренческого и социально-нормативного регулирования должного восприятия смерти и смертности.

Просоциальные практики – практики поведения людей, ориентированные на адаптацию к новым условиям жизни, на соблюдение не только своих личных, но и социальных интересов других людей. Они могут быть обусловлены показателями как физического и биологического (основа для использования расово-антропологического подхода анализа смерти и смертности), так и морально-этического выживания (основа для социокультурного подхода анализа смерти и смертности).

Авторами рассмотрены различные стратегии оценки смертности [1] и просоциальных практик [2, 3], возникающие в условиях новых форм коммуникации и производства. Также отдельно рассматриваются особенности включения расово-антропологического и социокультурного подходов изучения смертности в общественном развитии [4–6].

Во Франции в период модерна формирование и развитие расово-антропологического подхода в социальных науках происходило в контексте драматических конфликтов: революций (1830, 1848), противоборства легитимистов, орлеанистов, роялистов, бонапартистов, клерикалов и республиканцев, деятельности тайных радикальных организаций, всплесков анархизма и терроризма, Парижской коммуны (1871), череды отставок правительств (1873–1940) и др., – и трансформаций государственного устройства Франции: Июльская монархия (1830–1848), Вторая республика (1848–1852), Вторая империя (1852–1870) и Третья республика (1870–1940).

Защита «общественной безопасности» обеспечивалась силовой ликвидацией «мятежников» (восста-

ния в Лионе (1831) и Париже (1848, 1871)), применением норм наполеоновского Уголовного кодекса (1810) и специальных законов, фальсифицированным делом Дрейфуса (1894–1906), строгой цензурной политикой и др.

Внешнеполитическая экспансия (итальянские походы (1840–1850-е), Крымская война (1853–1856), безуспешная интервенция в Мексику (1861–1867), горькое поражение во Франко-Прусской войне (1870–1871)), активное участие в колониальной гонке (раздел Африки, Вторая опиумная война (1856–1860), вторжение в Корею (1866), Франко-китайская война (1884–1885)) и Первая мировая война (1914–1918) оказали значительное влияние на социально-демографические процессы в стране (табл. 1) [7].

Постепенно снижался общий коэффициент смертности: 1800-е гг. – 28,0, 1850-е гг. – 23,9, 1880-е гг. – 22,1, 1900-е гг. – 19,8, 1920-е гг. – 17,2 [8]. Но при этом страна пережила несколько крупных эпидемий (холера (1832, 1849), оспа (1870–1875)); от первой пандемии в Новейшее время – испанского гриппа (1918–1920) – скончалось 420 тысяч человек. В Первую мировую войну Франция потеряла более 1 миллиона 380 тысяч солдат и 160 тысяч мирных жителей, в плен были захвачены 557 тысяч воинов [9].

Отметим, что развитие аграрно-индустриальной экономики протекало в сложных условиях (сосуществование парцеллярного и крупного землевладения, затяжная промышленная революция, кризис (1845–1847), «долгая депрессия» (1873–1890) и др.), которые «стимулировали» массовую безработицу, пауперизацию и эмиграцию населения.

В 1884–1896 гг. была проведена реформа, позволявшая устранить недостатки университетского образования (отсутствие автономии, полноты состава, нацеленности на исследовательскую деятельность, прочной связи между профессурой и студенчеством), обусловленные порядками, введенными еще при Наполеоне I [10].

Постепенно Римско-католическая церковь утратила свое влияние, так как правительство осуществило секуляризацию системы образования, медицинских и благотворительных учреждений (1879–1890) и окончательно отделило церковь от государства (1905).

Представители расово-антропологического направления восприняли методологические установки позитивизма и взяли их в свой исследовательский арсенал. Одним из лидеров этого направления являлся Жозеф Артю де Гобино (1816–1882). Он родился в небогатой семье, чья принадлежность к аристократии ставится под сомнение рядом биографов [11, 12]. Хорошее зна-

ТАБЛИЦА 1
НАСЕЛЕНИЕ ФРАНЦИИ (1831–1921), МЛН ЧЕЛ.

Годы	1831	1841	1851	1861	1872	1881	1891	1901	1911	1921
Численность	32,57	34,23	35,78	37,39	36,1	37,41	38,13	38,45	39,19	38,8

TABLE 1
POPULATION OF FRANCE (1831–1921), MILLION PEOPLE

ние немецкого языка позволило ему обучаться в швейцарском колледже; когда его родители развелись, подросток возненавидел мать и остался с отцом. После получения образования Жозеф Артюр перебрался в Париж, где вначале работал в канцеляриях разных учреждений, затем стал журналистом. Знакомство с А. де Токвилем помогло де Гобино устроиться на дипломатическую службу, но успехи на ней были довольно скромными. Его брак распался, на протяжении многих лет он испытывал денежные затруднения, при жизни его труды не получили должного признания у соотечественников. Но в итоге де Гобино оставил заметный след в истории культуры как путешественник, писатель, востоковед, этнолог и социолог.

С точки зрения социально-демографических штудий, наиболее продуктивной была его книга «Опыт о неравенстве человеческих рас» (1853–1855). По признанию самого автора, «движимый привязанностью к живущим людям» и используя индуктивный метод, он «проникал в тайны людей умерших», стремясь «к познанию более глубокого смысла идентичности социальных болезней [...] у всех народов и в прошлом, и в настоящем» [13].

Базовыми для его анализа выступили два принципа:

1) «принцип смерти, лежащий в основе всех наций»: все люди, жившие до нас, умерли, точно так же мы твердо знаем, что сочтены и дни народов. По его мнению, «нравы, законы, институты видоизменяются, искажаются, теряют свою силу и актуальность, но пока хоть что-

то от них остается, здание стоит, в теле живет душа, труп еще движется. Когда первоначальный импульс делает последний вздох, всё заканчивается, ничего не остается, цивилизация умирает;

2) принцип неравенства рас (рис. 1):

Следует учитывать, что понятия «раса» и «нация» нередко отождествлялись в то время; их классификации ещё не были разработаны в должной мере. А. де Гобино выделял три крупных расы (табл. 2).

Исследователь утверждал, что история показывает, что всякая цивилизация берёт начало от белой расы, и ничто не может долго продержаться без её участия, что общество может быть великим и процветающим лишь в той мере, в какой оно сохраняет сотворившую её благородную группу, и что сама эта группа принадлежит к самой развитой ветви нашего рода.

В целом можно согласиться с выводом, сделанным Л.Л. Снайдером по поводу «Опытов о неравенстве человеческих рас»: «Хотя работа Гобино была оригинальна и полна возможностей, она страдала от интуитивного мистицизма, противоречий и непоследовательности, которые делают большую её часть неприемлемой для учёных» [14].

Отмеченные недостатки в полной мере были присущи творчеству и другого сторонника расово-антропологической версии социологии – Шарля Жана Мари Летурно (1831–1902). Получив медицинское образование, он защитил докторскую диссертацию (1858) и много лет занимался этнографическими, психологическими и социологическими изысканиями, активно публиковал-

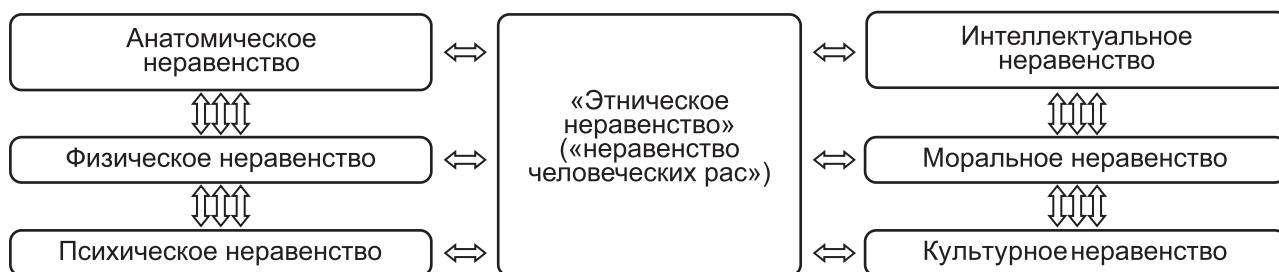


РИС. 1.
Неравенство рас (по А. де Гобино)

FIG. 1.
Inequality of races (according to A. de Gobineau)

ТАБЛИЦА 2
ОТНОШЕНИЕ КРУПНЫХ РАС К ЖИЗНИ И СМЕРТИ
(ПО А. ДЕ ГОБИНО)

Раса	Состав	Отношение к жизни и смерти
Чёрная	(Чёрные) хамиты	Негр «мало дорожит своей жизнью и жизнью другого человека», он «убивает, потому что приходит от этого в экстаз, и приходит в экстаз, потому что убивает»
Жёлтая	Алтайцы, монголы, финны, татары	«Их желания ограничиваются спокойной и, по мере возможности, удобной жизнью. Очевидно, что они стоят выше негров». «Желтокожий убивает бесстрастно, для того, чтобы удовлетворить мимолётную потребность ума»
Белая	Кавказская и семитская расы	Отличаются «необычной любовью к жизни. [...] они лучше умеют пользоваться ею, лучше знают ей цену, поэтому больше дорожат своей и чужой жизнью. Их жестокость, когда она проявляется, ограничена сознанием необходимости определённых пределов, чего не встретишь у чернокожих»

TABLE 2
THE ATTITUDE OF LARGE RACES TO LIFE AND DEATH
(ACCORDING TO A. DE GOBINEAU)

ся и преподавал, возглавлял Парижское антропологическое общество (1886–1902) [15], что позволило включить в его работы социокультурные условия и особенности воздействия на человека и общество.

Его имя оказалось связанным со скандальным самоубийством юной Елизаветы (1858–1875), дочери А.И. Герцена и Н.А. Тучковой-Огарёвой, которая покончила с собой из-за неразделённой любви к зрелому учёному. Трагический случай получил широкий общественный резонанс за рубежом и в России (например, на это событие откликнулись Ф.М. Достоевский, К.П. Победоносцев, И.С. Тургенев и др. [16, 17, 18]).

Укажем, что вместе со своими коллегами Летурно учредил «Общество взаимного вскрытия» (1876), члены которого разрешали после кончины использовать свои тела в научных целях. Тем самым смерть индивида «связывалась» с прогрессом и, следовательно, с вечностью. Для людей, которые отвергали религию, считая похороны отвратительным культовым ритуалом, но не могли вынести полного исчезновения, это предоставляло большое утешение [19].

Уже в своей первой крупной работе «Физиология страстей» (1868) Летурно выделял значимость «питательных и интеллектуальных страстей», воспитания и предрассудков, среди которых вырос человек. По его мнению, «земледельческие классы [...] наиболее подвержены жестоким проявлениям зверских страстей, мщению, гневу и ненависти. У них также часты детоубийства, насилие и отцеубийства» [10]. Он полагал, что аффективные и социальные страсти стимулировали фанатизм Мухаммеда, Лютера, Кальвина, Кромвеля и Савонаролы.

Позднее (1887), отследив эволюцию морали, социолог объяснял врождённой («животной») кровожадностью рода людского ведение войн, жестокое обращение со стариками, больными и детьми. Приводя соответствующие примеры, мыслитель подчёркивал: детоубийство встречается чаще всего и в наиболее чистом виде среди самых низших, наименее умственно развитых и наиболее беспомощных среди человеческих рас.

Летурно резонно пришёл к выводу, что каннибализм в нравственном отношении представляет обстоятельство, отягчающее преступность убийства. Здесь презрение к ближнему доходит до последних пределов: человек сравнивается вполне с дичью или домашним животным. Он различал несколько разновидностей антропофагии (рис. 2).

Изучив историю рабства, учёный установил логику его изменений: раб в начале – запасная убойная скотина, а затем домашнее животное. Но в результате «рабство деморализует» общество.

Придерживаясь материалистических взглядов, он видел причины возникновения религии в том, что «человек не допускает неизбежности естественной смерти, отказывается понимать её и создаёт себе представления о загробной жизни» [20]. Хотя Летурно и отмечал позитивную роль христианства в совершении нравственной революции, гуманизовавшей отношение людей к феноменам рабства, самоубийства и аборта, он считал, что «не следует искать в религиозных концепциях правил, регулирующих нравы».

Опираясь на этнографические данные, Летурно попытался обосновать существование нескольких фаз в развитии человечества (табл. 3).



РИС. 2.
Классификация антропофагии (по Ш. Летурно)

FIG. 2.
Anthropophagy classification (according to C. Letourneau)

ТАБЛИЦА 3
НРАВСТВЕННАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА
(ПО Ш. ЛЕТУРНО)

TABLE 3
THE MORAL EVOLUTION OF MANKIND
(ACCORDING TO C. LETOURNEAU)

№ п/п	Фаза	Содержание
1	Животная	«Людоедство есть первородный грех всех человеческих рас. Оно исчезает очень медленно»
2	Дикарская	«Каннибализм ещё нередко сохраняется», он «обнаруживается у человека в припадке ярости, мести, или в области религиозной или юридической; но антропофагия перестаёт уже быть простым, повседневным явлением. Эту вторую стадию характеризует учреждение рабства»
3	Варварская	«Кража, прелюбодеяние, убийство рассматриваются как общественные преступления и строго наказываются. Тем не менее общество покоем ещё на рабстве»
4	Меркантильная	«Рабство и крепостничество были уничтожены, но салиариат, это замаскированное крепостничество, их заменяет. Нравственность и закон строго осуждают убийство, а общественное мнение прославляет убийство во время войны и возбуждает на него»

В прошлом сочинения Летурно были достаточно популярны, но всегда неоднозначно оценивались исследователями (Ковалевский М.М., Плеханов Г.В., Токарев С.А., Шантре Э., Энгельс Ф. и др.), которые нередко упрекали социолога за «обилие фактов и недостаток широких обобщений» [21].

Жорж Ваше де Лапуж (1854–1936), ещё один представитель расово-антропологического направления, родился в семье маркиза, но в 12 лет потерял отца. Он учился в иезуитском колледже, в лицее познакомился с трудами Г. Спенсера и Ч. Дарвина, с золотой медалью окончил юридический факультет университета в Пуатье (1877) и защитил диссертацию, посвящённую наследственному праву (1879). После этого де Лапуж несколько лет проработал в магистрате и прокуратуре в западном и центральном регионах страны. Переехав в Париж, молодой правовед продолжил обучение (1883–1886) и овладел несколькими восточными языками. В дальнейшем он преподавал антропологию в ряде университетов (1886–1909), но вынужден был прекратить профессиональную деятельность из-за обвинений в приверженности к «левым» взглядам и в применении «недозволенных» прикладных методов исследования (раскопки могил, измерение и фотосъёмка останков и тел живых людей). Вплоть до самой пенсии (1922) социолог трудился библиотекарем в Пуатье [22].

Антропосоциологическая теория возникла, по признанию самого автора, под влиянием концепций О. Аммона, Ж. де Гобино, Г. Спенсера, А. Шеффле и др. [23]. Она соединила в себе идеи биологического детерминизма, евгеники, эволюционизма, социального дарвинизма, расового отбора и социализма, наиболее полно изложена в его сочинениях «Социальная селекция» (1896) и «Ариец и его социальная роль» (1899).

Исходя из того, что человек не произошел от обезьяны, Ж. де Лапуж полагал, что «раса – это совокупность особей, имеющих общий определенный наследственный тип. Понятие расы носит зоологический характер» [24]. Социолог на основе археологических, антропологических, этнографических и статистических источников выделял несколько базовых и смешанных рас, давая им антропометрические и психологические характеристики (табл. 4).

В духе О. Конта де Лапуж утверждал: 1) мысли и действия человека основываются на опыте бесчисленного легиона погребённых предшественников. Он впитал в себя всё, что чувствовало, о чём думало, что желало человечество на длинном отрезке родословной; 2) нация – это огромная семья, замкнутая внутри границы страны: живые вместе с умершими и с теми, кому суждено прийти.

Проанализировав процессы модернизации, де Лапуж констатировал состояние социума: война холодная, политическая, религиозная, индустриальная, торговая, которая убивает, как любая другая, не проливая при этом крови, за исключением случаев, когда побеждённые предпочитают суицид медленной смерти из-за нужды, тягот или голода.

В результате он пришёл к пессимистическому футурологическому выводу: содрогаясь при мысли о том, сколько гекатомб человеческих жертв таит в себе будущее. Борьба между претендентами на мировое господство будет долгой и, конечно, беспощадной.

Отвергнув религию и мораль, он порицал христианскую мораль за то, что она стремится быть утешением «во время болезненных кризисов и в час смерти», хотя теперь совершенно ясно, что жизни после смерти не существует. Антропосоциолог сформулировал «провокативный подход»: жизнь существует только за счёт смерти. Чтобы жить – нужно есть, чтобы есть – нужно убивать. При этом он выступал с пронацистских позиций, ратуя за рождение детей как способ соединения прошлого и будущего, обеспечения бессмертия.

Благодаря Ж. де Лапужу расово-антропологическая теория была применена на практике: биологический расизм получил «подкрепление» в виде концепции зависимости психических качеств, характера людей и их социального положения от формы черепа и величины головного указателя.

Подчеркнём, что расово-антропологические постулаты (рис. 3) неоднозначно воспринимались в академической среде и в обществе, а социокультурные условия – более позитивно (рис. 4). Нам видится необходимость сочетания данных подходов для выявления универсальных детерминант общественного развития через призму восприятия смертности.

ТАБЛИЦА 4
ГЛАВНЫЕ ЕВРОПЕЙСКИЕ РАСЫ
(ПО Ж. ДЕ ЛЯПУЖУ)

№ п/п	Название	Антропологическая характеристика	Психологические особенности
1	Homo europaeus	Длинноголовая (долихокефальная), светло-русая и высокорослая	Тщеславная, энергичная, умная, идеалистичная
2	Homo alpinus	Короткоголовая (брахицефальная), темноволосая, темноглазая и малорослая	Консервативная, осторожная и «малогениальная»
3	Homo mediterraneus	Длинноголовая (долихокефальная), черноволосая	Низкие моральные качества

TABLE 4
THE MAIN EUROPEAN RACES
(ACCORDING TO J. DE LAPOUGE)

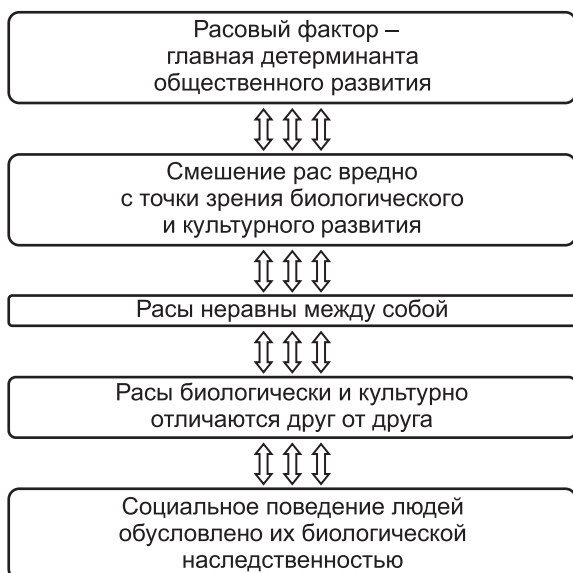


РИС. 3.

Постулаты расово-антропологического направления

FIG. 3.

Postulates of the racial-anthropological direction

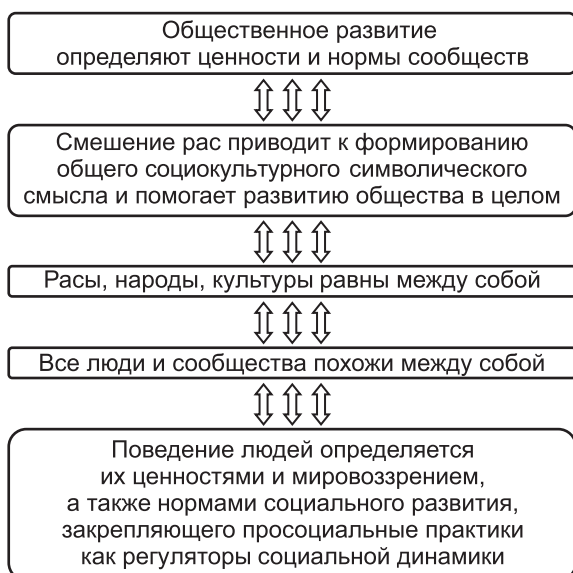


РИС. 4.

Постулаты социокультурного направления

FIG. 4.

Postulates of the sociocultural direction

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление просоциальных практик и конкретных трактовок смертности через единство и противостояние антропологического и социокультурного аспектов общественного воспроизводства.

МЕТОДЫ

В работе применялись данные системного анализа социально-антропологических и социокультурных явле-

ний общественного развития, а также опросник социального самочувствия, где выделялись антропологические и социокультурные условия развития сообществ. В исследовании приняло участие 1200 человек в возрасте от 18 до 65 лет, проживающих в разных регионах Российской Федерации (55 % женщин и 45 % мужчин). Также нами проводился контент-анализ материалов СМИ и сети Интернет на предмет фиксации оценок смерти и смертности в РФ за последние 5 лет. Всего проанализировано 1456 публикаций или информационных сообщений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Контент-анализ материалов СМИ и Интернет-ресурсов показал, что за последние 5 лет имеется существенная динамика восприятия смерти и смертности, и приемлемые просоциальные практики, транслируемые через информационные ресурсы как норма, задают контекст и условия приемлемого развития социальной среды. Разделение на расово-антропологические и социокультурные условия восприятия смертности нами осуществлялось по параметрам, заданным рамками самих этих подходов. К расово-антропологическим мы отнесли биологические и физиологические условия восприятия (при контент-анализе рассматривались такие единицы анализа смерти и смертности, как болезнь, экология, физиологические показатели сопротивляемости организма и адаптации к выживанию), к социокультурным – воспроизводимые рамками культурных и социальных норм представления (при контент-анализе рассматривались такие единицы анализа смерти и смертности, как социальное напряжение, войны, терроризм, экономические и политические кризисы) (табл. 5).

Безусловно, пандемия COVID-19 внесла существенные коррективы в оценку информационных сообщений в отношении смертности, и причины смертности смещены с 2020 года в сторону данного заболевания или осложнений после него, но в любом случае являются показательными для понимания общих трансформаций восприятия смертности.

В результате анализа данных установлено, что имеется прямая и обратная зависимость расово-антропологических условий и социокультурных предпосылок восприятия смертности (расово-антропологические условия влияют на социокультурные и наоборот). Просоциальные практики в этом случае выступают маркерами признания важности влияния внешних факторов на культурный контекст и условия выживания людей. В то же время выбор жизненного пути, ценностей и норм влияет на конкретный характер восприятия жизни и смерти.

Общество – это не просто биологическое определение совокупности людей, а пласт саморазвивающейся системы, которая позволяет видеть грани и границы жизни и смерти и восприятия смертности как социального явления. Поэтому при анализе ответов респондентов мы раскрывали смертность как категорию фиксации смыслов жизни конкретного человека и всего общества, несмотря на то, что разговор о смерти не является распространённой темой для обсуждения. Тема смерти чаще обсуждается

ТАБЛИЦА 5
КОНТЕНТ-АНАЛИЗ МАТЕРИАЛОВ СМИ И ИНТЕРНЕТ-РЕСУРСОВ ПО ВОСПРИЯТИЮ СМЕРТИ И СМЕРТНОСТИ

TABLE 5
CONTENT ANALYSIS OF MEDIA MATERIALS AND INTERNET RESOURCES ON THE PERCEPTION OF DEATH AND MORTALITY

Объекты и формы анализа		2017	2018	2019	2020	2021
Частота внимания	СМИ	57	42	44	124	156
	Интернет	153	164	188	199	214
Объём внимания	СМИ	66	79	113	156	198
	Интернет	155	188	235	342	375

ТАБЛИЦА 6
ЧАСТОТА ФИКСАЦИИ ВНИМАНИЯ НА ТЕМЕ СМЕРТИ И СМЕРТНОСТИ В СМИ И СЕТИ ИНТЕРНЕТ (%)

TABLE 6
FREQUENCY OF ATTENTION ARRESTING ON THE TOPIC OF DEATH AND MORTALITY IN THE MEDIA AND THE INTERNET (%)

Регулярность внимания	2017	2018	2019	2020	2021
Каждый день	25,5	26,9	29,5	27,5	22,5
Несколько раз в неделю	37,7	41,1	49,8	44,2	46,5
Несколько раз в месяц	31,2	25,4	14,7	21,1	22,9
Несколько раз в год	4,4	5,5	4,7	3,5	3,9
Никогда	1,2	1,1	1,3	2,2	2,5
Не помню	–	–	–	1,5	1,7

ТАБЛИЦА 7
ПАРАМЕТРЫ РЕАКЦИИ И ВОСПРИЯТИЯ СМЕРТИ И СМЕРТНОСТИ

TABLE 7
PARAMETERS OF REACTION AND PERCEPTION OF DEATH AND MORTALITY

Параметры	Пол	Среднее	Стандартное отклонение	F-критерий Фишера	p
Тревожность	жен.	14,4	5,6	28,1	0,05
	муж.	15,9	4,4		
Депрессивность	жен.	21,4	4,4	14,5	0,003
	муж.	18,9	4,5		
Страх	жен.	21,2	4,7	35,3	0,05
	муж.	23,5	4,7		
Безразличие	жен.	23,4	3,5	9,6	0,006
	муж.	22,1	3,7		
Сопереживание	жен.	14,5	4,6	6,5	0,007
	муж.	13,6	3,7		
Активность	жен.	15,6	5,2	3,4	0,003
	муж.	14,4	5,6		

в СМИ и Интернете, но она не является общераспространённой. Тему смерти и смертности как явления избегают.

В общественном сознании и личных коммуникациях мы блокируем эту тему, однако в СМИ очень много сюжетов о смерти, терроризме, поскольку люди хотят

их смотреть. Тема смерти непредсказуема и загадочна, но есть проблематизация через приближение и восприятие смертности. В таблице 6 представлены данные о том, как часто респонденты видят тему смерти и смертности в СМИ и сети Интернет.

Таблица 7 содержит параметры социально-психологической и общественной реакции на смерть и смертность.

Как видно из таблицы, страх более выражен среди мужчин ($F = 35,3$ при $p = 0,05$), как и депрессивность ($F = 14,5$ при $p = 0,003$) и активность ($F = 3,4$ при $p = 0,003$); для женщин более значимы тревожность ($F = 28,1$ при $p = 0,05$), безразличие ($F = 9,6$ при $p = 0,006$) и соперничество ($F = 6,5$ при $p = 0,007$). Таким образом, смертность – это явление, которое обусловлено социокультурно, но расово-антропологические условия выступают приоритетной нормой, регламентирующей и так неширокий выбор восприятия смерти и смертности в конкретном сообществе или обществе целом.

Анализируя тематику публикаций, а далее и материалов анкетирования, мы пришли к выводам об ограниченном тематическом круге смерти и смертности как социального явления, который фиксируется и транслируется в СМИ и сети Интернет, влияя на обывателей, а потом воплощаясь в конкретных просоциальных практиках. На основе этого выделили ключевые темы смертности.

1. Восприятие себя (личностно-идентификационный уровень). Как человек умирает? Человек гораздо раньше умирает социально, чем физиологически. Это стало актуально, когда продолжительность жизни возросла, а несчастные случаи минимизировались. После 45 лет становится более актуальна тематика разговоров о смерти и, следовательно, переосмысление жизни и её смыслов.

Среди россиян только 16,2 % думают и говорят об этом. Среди лиц старше 45 лет таких разговоров в три раза больше, чем среди тех, кто младше этого возраста. Чаще поводами для данных мыслей являются уход из жизни близких (как жизнь будет проходить без них?), болезни и ограничение возможностей организма. Вопросы проекции на себя лично того, как человек умирает, в два раза чаще задаются люди, имеющие высшее образование и более высокий социально-профессиональный уровень. Вероятно, уровень рефлексии и осознанности определяет то, какие смысло-жизненные ориентиры определяют значимые и актуальные перспективы развития.

2. Ритуалы смерти и смертности. Данные практики больше изучали антропологи, этнографы – они выявили те нормы, следуя которым, реализуется сама социально одобряемая практика смерти (то, что закреплено на культурном уровне и определяет духовные связи и смыслы деятельности).

Более половины респондентов (52,4 %) были когда-либо включены в данные практики. Чаще фигурирует формально-экономический подход (участие в организации похорон (финансово и организационно), присутствие в ритуальном зале и т. д.).

Просоциальные практики в данном аспекте закреплены через формально-экономические и культурно-традиционные связи.

Индустрия погребения олицетворяет это пространство социального развития. Экономика смерти развита в нашем обществе (задействован большой капитал). Это отражается в том, сколько стоят похороны близких людей, покупка гроба, венков, цветов, организация по-

минального стола и прочие традиционные практики, сегодня в 80 % случаев организуемые специальными сервисами и службами, а не лично родственниками и друзьями ушедших.

Большая часть опрошенных (78,3 %) считает эти процессы приемлемыми и правильными, так как это помогает пережить горе утраты, не тратя силы на организационные процессы. Традиционно же личное участие родственников в погребении обеспечивало социально-психологическую преемственность и трансформацию социальных ролей для всех членов семьи.

Также теряет свою значимость, но пока всё ещё остаются важным элементом просоциальных практик ритуалы оплакивания, провожания, воспоминаний (семейные альбомы, разговоры с близкими). Для 36,5 % опрошенных это значимое социальное взаимодействие.

Иными словами, участие в практиках смерти и оценивание смертности как социального явления позволяют констатировать, что с личностно-психологического уровня эта сфера социальной коммуникации переходит на социально-организационный, где всё ещё действуют традиционные нормы. Однако последние становятся формальными ритуалами, а не личными инсайтами и ритуалами перехода не только для умерших, но и для живых, получивших новые статусы и смыслы своей жизни.

3. Меморизация быстрой смерти. Это ещё один социальный смысл практик смертности. Например, это выражается в установке вдоль дорог памятников или знаков, указывающих на то, что в том или ином месте погиб человек. Или же, если погибали группы людей (в авто-, авиа-, железнодорожных катастрофах), возникают мемориалы памяти, которые заставляются цветами, плакатами. В данном случае активизируется как личное переживание и готовность включаться в приемлемые просоциальные практики (особенно если погибли близкие или знакомые люди), так и форма социального диалога с различными институтами (кто виноват в трагедиях?). Об этом говорила практически половина всех респондентов (52,7 %).

Рассматривая эти явления, мы можем сказать, что восприятие смертности более чётко определяется не столько через факты самой смерти людей, а через восприятие факта несправедливости смерти, и в данной ситуации включается поиск виноватых (социальный подтекст). При анализе материалов СМИ и сети Интернет были выявлены те же тематические блоки восприятия смерти и смертности.

ВЫВОДЫ

Итак, представители расово-антропологического направления, с одной стороны, основываясь на позициях биологического редукционизма, упрощённо трактовали процесс «вырождения» человеческих рас; с другой стороны, они способствовали освоению социологами прикладных методов исследования. Разработка проблемы смертности свидетельствует о том, что новое поколе-

ние социологов признавало контовский принцип взаимосвязи живых и мёртвых, однако проведённые исследования отличает неубедительность исходных теоретических постулатов.

Эту конструкцию дополняет социокультурный подход, раскрывающий системный взгляд на универсальные принципы воспроизводства социальных систем, а также социальных процессов интеграции через социальные практики. Смертность как конечное явление ставит приоритеты в личном и социальном развитии, так как предполагает следование истерическим, культурным, духовным условиям общественного взаимодействия, актуального для определённого сообщества в конкретном времени.

Антропологические условия смертности противостоят социокультурным символическим смыслам, которые определяют поведение людей и наполняют смыслом их просоциальные практики. Смерть и смертность перестают быть только физиологическим актом; в любой культуре они несут смыслы, раскрывающие повседневность сообщества и его членов.

Выявленные условия прямой и обратной связи расово-антропологических и социокультурных аспектов определяют условия и механизмы восприятия смертности. В нашей культуре траур и скорбь не могут быть вечными, но память о смерти и явлении смертности выявляет ключевые просоциальные практики, выделяющие ключевые символы на первые места.

Чем старше человек, тем больше тема смертности волнует людей. Это формализуется через восприятие себя в условиях смерти, включённость в приемлемые в обществе ритуалы смерти и смертности и мемориализацию смерти в формальных действиях.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов. Статья ранее не публиковалась. Авторы гарантируют достоверность данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Левченко И.Е. Расово-антропологические трактовки смертности. *Глобальные и региональные воздействия в системе современных обществ: сборник научных трудов*. Иркутск: ИГУ; 2021: 86-92.
2. Полюшкевич О.А. Просоциальное поведение в постпандемическом обществе. *Глобальные вызовы и региональное развитие в зеркале социологических измерений: Материалы VI международной научно-практической интернет-конференции*. Вологда; 2021: 20-23.
3. Полюшкевич О.А. Современное прочтение социологии морали. *Гуманитарный вектор*. 2021; 16(5): 50-58. doi: 10.21209/1996-7853-2021-16-5-50-58
4. Зубов А.А. Проблема термина «раса» и расовых классификаций в современной физической антропологии. *Этнографическое обозрение*. 1996; 1: 15-24.
5. Новикова О.В. Раса как социальный конструкт и расизм как философская проблема. *Проблема соотношения*

естественного и социального в обществе и человеке. 2021; 12: 98-105.

6. Скворцов Н.Г. Этничность, раса, способ производства: неомарксистская перспектива. *Журнал социологии и социальной антропологии*. 1998; 1(1): 53-71.
7. Mitchel BR. *European historical statistics, 1750–1988*; 3rd ed. New York: Stockton Press; 1992.
8. Миронов Б.Н. *Российская модернизация и революция*. СПб.: Дмитрий Буланин; 2019.
9. Эрлихман В.В. *Потери народонаселения в XX веке: справочник*. М.: Русская панорама; 2004.
10. Козлов С.Л. Эволюция французской образовательной модели в XIX веке. *Отечественные записки*. 2013; 4: 60-84.
11. Артамошин С.В. *Идейные истоки национал-социализма*. Брянск: Издательство Брянского государственного университета; 2002.
12. Клейн Л. Расизм и «психология народов». *Развитие личности*. 2009; 4: 57-89.
13. Де Гобино Ж.А. *Опыт о неравенстве человеческих рас*; пер. с фр. М.: Олма-пресс; 2001.
14. Snyder LL. *Race. A history of modern ethnic theories*. New York – Toronto: Longmans, Green and Co, Alliance Book Corporation; 1939.
15. Chantre E. Notice nécrologique de Charles Letourneau. *Bulletin de la Société d'anthropologie de Lyon*. 1902; 21: 119-124.
16. Гершензон М.О. (сост.). *Архив Огаревых*. М.: Юрайт; 2018.
17. Достоевский Ф.М. *Собрание сочинений*; в 15 томах. СПб.: Наука, 1984; 13.
18. Желвакова И.А. Лиза Герцен. *Литературное наследство*. 1997; 99(2): 544-555.
19. Летурно Ш.Ж. *Нравственность. Развитие её с древнейших времен и до наших дней*. СПб.: Книгоиздательство Н.С. Аскарян; 1909.
20. Критика и обозрение. *Этнографическое обозрение*. 1896; 2-3: 266-269.
21. Hecht JM, Vacher de Lapouge and the rise of Nazi science. *J Hist Ideas*. 2000; 61(2): 285-304.
22. Vacher de Lapouge G. The fundamental laws of anthroposociology. *Journal of Political Economy*. 1897; 6(1): 54-92.
23. Vacher De Lapouge G. *Les selections sociales*. Paris: Librairie Thorin & Fils; 1896.
24. Де Лапуж Ж. *Ариец и его социальная роль*; пер. с фр. М.: Кучково поле; 2014.

REFERENCES

1. Levchenko IE. Racial-anthropological interpretations of mortality. *Global'nye i regional'nye vozdeystviya v sisteme sovremennykh obshchestv: sbornik nauchnykh trudov*. Irkutsk: IGU; 2021: 86-92. (In Russ.).
2. Polyushkevich OA. Prosocial behavior in a post-pandemic society. *Global'nye vyzovy i regional'noe razvitie v zerkale sotsiologicheskikh izmereniy: Materialy VI mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy internet-konferentsii*. Vologda; 2021: 20-23. (In Russ.).
3. Polyushkevich OA. Modern reading of the sociology of morality *Humanitarian Vector*. 2021; 16(5): 50-58. (In Russ.). doi: 10.21209/1996-7853-2021-16-5-50-58

4. Zubov AA. The problem of the term "race" and racial classifications in modern physical anthropology. *Etnograficheskoe obozrenie*. 1996; 1: 15-24. (In Russ.).
5. Novikova OV. Race as a social construct and racism as a philosophical problem. *Problema sootnosheniya estestvennogo i sotsial'nogo v obshchestve i cheloveke*. 2021; 12: 98-105. (In Russ.).
6. Skvortsov NG. Ethnicity, race, mode of production: A neo-Marxist perspective. *Zhurnal sotsiologii i sotsialnoy antropologii*. 1998; 1(1): 53-71. (In Russ.).
7. Mitchel BR. *European historical statistics, 1750–1988*; 3rd ed. New York: Stockton Press; 1992.
8. Mironov BN. *Russian modernization and revolution*. Saint Petersburg: Dmitry Bulanin; 2019. (In Russ.).
9. Erlikhman VV. *Population loss in the 20th century: handbook*. Moscow: Russkaya panorama; 2004. (In Russ.).
10. Kozlov SL. Evolution of the French educational system in the 19th century. *Otechestvennye zapiski*. 2013; 4: 60-84. (In Russ.).
11. Artamoshin S.V. *The ideological origins of National Socialism*. Bryansk: Izdatel'stvo Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta; 2002. (In Russ.).
12. Klejn L. Racism and cultural psychology. *Personal Development*. 2009; 4: 57-89. (In Russ.).
13. De Gobineau JA. *An essay on the inequality of the human races*. Moscow: Olma-press; 2001. (In Russ.).
14. Snyder LL. *Race. A history of modern ethnic theories*. New York – Toronto: Longmans, Green and Co, Alliance Book Corporation; 1939.
15. Chantre E. Notice nécrologique de Charles Letourneau. *Bulletin de la Société d'anthropologie de Lyon*. 1902; 21: 119-124.
16. Gershenzon MO. (comp.). *Archive of the Ogarevs*. Moscow: Yurait; 2018. (In Russ.).
17. Dostoevsky FM. *Collected works*; 15 volumes. Saint Petersburg: Nauka, 1984; 13. (In Russ.).
18. Zhelvakova IA. Lisa Herzen. *Literaturnoe nasledstvo*. 1997; 99(2): 544-555. (In Russ.).
19. Letourneau CJ. *Moral. Its development from ancient times to the present day*. Saint Petersburg: Knigoizdatel'stvo N.S. Askarkhanova; 1909. (In Russ.).
20. Criticism and review. *Etnograficheskoe obozrenie*. 1896; 2-3: 266-269.
21. Hecht JM, Vachery de Lapouge and the rise of Nazi science. *J Hist Ideas*. 2000; 61(2): 285-304.
22. Vacher de Lapouge G. The fundamental laws of anthroposociology. *Journal of Political Economy*. 1897; 6(1): 54-92.
23. Vacher De Lapouge G. *Les selections sociales*. Paris: Librairie Thorin & Fils; 1896.
24. De Lapouge G. *The Aryan: His social role*. Moscow: Kuchkovo pole; 2014. (In Russ.).

Сведения об авторах

Левченко Илья Евгеньевич – кандидат философских наук, доцент, доцент кафедры политических наук, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», e-mail: ilevchenko08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3619-4797>

Полушкевич Оксана Александровна – кандидат философских наук, доцент, доцент кафедры государственного и муниципального управления Института социальных наук, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: okwook@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7924-9305>

Information about the authors

Ilya E. Levchenko – Cand. Sc. (Philos.), Docent, Associate Professor at the Department of Political Sciences, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: ilevchenko08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3619-4797>

Oksana A. Polyushkevich – Cand. Sc. (Philos.), Docent, Associate Professor at the Department of State and Public Administration, Institute of Social Sciences, Irkutsk State University, e-mail: okwook@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7924-9305>

Статья опубликована в рамках Международной научно-практической конференции «Взаимосвязь глобальных и региональных воздействий в системе современных обществ: трансформации социальных пространств, социально-демографические изменения и пандемические процессы»

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ

Кононова Л.И.¹,
Лемкина Л.М.¹,
Коробов В.П.^{1,2}

¹ Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН –
филиал ФГБУН Пермского федерального
исследовательского центра УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

² ФГАОУ ВО «Пермский национальный
исследовательский политехнический
университет» (614990, г. Пермь,
Комсомольский просп., 29, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кононова Людмила Ивановна,
e-mail: kononova_l@iegm.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Возрастающая роль коагулазонегативных стафилококков в возникновении стафилококковых инфекций приводит к необходимости пристального внимания к ним. Требуется особый контроль над чувствительностью бактерий к антибиотикам и распространением метициллинрезистентности как признака множественной устойчивости к антибактериальным препаратам. Важным является и выявление факторов вирулентности коагулазонегативных стафилококков, определяющих их поведение в среде обитания.

Цель исследования. Оценить чувствительность штаммов коагулазонегативных стафилококков к клинически значимым антибиотикам даптомицину, ванкомицину, линезолиду и оксациллину и лантибиотику варнерину.

Методы. Определение минимальных подавляющих рост клинических штаммов коагулазонегативных стафилококков концентраций антибактериальных соединений стандартными методами серийных разведений и диффузионным методом. Выявление феномена сниженной чувствительности бактерий к ванкомицину популяционным анализом и градиентом концентраций. Липидный анализ методом тонкослойной хроматографии.

Результаты. Показана высокая антибактериальная активность ванкомицина, даптомицина и линезолида в отношении клинических штаммов коагулазонегативных стафилококков. Выявлен верхний предел минимальных подавляющих концентраций ванкомицина в рамках чувствительного фенотипа и расширение диапазонов минимальных подавляющих концентраций даптомицина и варнерина в сторону увеличения оксациллинрезистентных изолятов. Установлен гетерогенный характер чувствительности к ванкомицину культур исследованных штаммов и возможность быстрого обогащения их субпопуляциями с пониженной чувствительностью к этому антибиотiku. Селекция резистентности коагулазонегативных стафилококков к ванкомицину сопровождалась усилением синтеза лизилфосфатидилглицерина и снижением их чувствительности к катионным пептидным соединениям.

Заключение. Обнаруженное преобладание метициллинрезистентного фенотипа клинических штаммов коагулазонегативных стафилококков, наряду с наличием в липидном спектре универсального фактора устойчивости к катионным антибактериальным соединениям, лизилфосфатидилглицерина, влечёт необходимость в новых методологических решениях диагностики инфекций, вызванных коагулазонегативными стафилококками.

Ключевые слова: гетерорезистентность, ванкомицин, варнерин, даптомицин, лантибиотики, лизилфосфатидилглицерин, линезолид, оксациллин, стафилококки, хоминин

Статья получена: 16.03.2022

Статья принята: 11.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Кононова Л.И., Лемкина Л.М., Коробов В.П. Анализ чувствительности к антибиотикам клинических изолятов коагулазонегативных стафилококков. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 75-89. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.9

ANTIBIOTIC SENSITIVITY ANALYSIS OF CLINICAL COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI

Kononova L.I.¹,
Lemkina L.M.¹,
Korobov V.P.^{1,2}

¹ Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Ural Branch Russian
Academy of Sciences (Goleva str. 13,
Perm 614081, Russian Federation)

² Perm National Research Polytechnic
University (Komsomolsky ave. 29, Perm
614990, Russian Federation)

Corresponding author:
Lyudmila I. Kononova,
e-mail: kononova_l@iegm.ru

ABSTRACT

Background. The increasing role of coagulase-negative staphylococci in the occurrence of staphylococcal infections leads to the need for close attention to them. Special control is required over the sensitivity of bacteria to antibiotics and the spread of methicillin resistance, as a sign of multiple resistance to antibacterial drugs. It is also important to identify the virulence factors of coagulase-negative staphylococci, which determine their behavior in the environment.

The aim. To evaluate the sensitivity of strains of coagulase-negative staphylococci to clinically significant antibiotics daptomycin, vancomycin, linezolid and oxacillin and lantibiotic warnerin.

Methods. Determination of the minimal inhibitory concentrations of antibacterial compounds for clinical coagulase-negative staphylococci by standard methods of serial dilutions and disc diffusion. Identification of the phenomenon of decreased susceptibility of bacteria to vancomycin by population analysis and concentration gradient. Lipid analysis by thin layer chromatography.

Results. High antibacterial activity of vancomycin, daptomycin and linezolid against clinical strains of coagulase-negative staphylococci was shown. The upper limit of the minimum inhibitory concentrations of vancomycin within the sensitive phenotype and the expansion of the ranges of the minimum inhibitory concentrations of daptomycin and warnerin towards an increase in oxacillin-resistant isolates were revealed. The heterogeneous nature of sensitivity to vancomycin of the cultures of the studied strains and the possibility of their rapid enrichment with subpopulations with reduced sensitivity to this antibiotic have been established. The selection of resistance of coagulase-negative staphylococci to vancomycin was accompanied by an increase in the synthesis of lysylphosphatidylglycerol and a decrease in their sensitivity to cationic peptide compounds.

Conclusion. The revealed prevalence of the methicillin-resistant phenotype of clinical strains of coagulase-negative staphylococci, along with the presence in the lipid spectrum of the universal factor of resistance to cationic antibacterial compounds, lysylphosphatidylglycerol, entails the need for new methodological solutions for diagnosing infections caused by coagulase-negative staphylococci.

Key words: heteroresistance, vancomycin, warnerin, daptomycin, lantibiotics, lysylphosphatidylglycerol, linezolid, oxacillin, staphylococci, hominin

Received: 16.03.2022
Accepted: 11.05.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Kononova L.I., Lemkina L.M., Korobov V.P. Antibiotic sensitivity analysis of clinical coagulase-negative staphylococci. *Acta biomedical scientifica*. 2022; 7(3): 75-89. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.9

Высокая частота выявлений метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* (MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), как в России, так и в других странах [1], представляет собой серьёзную угрозу их быстрой диссеминации. Несмотря на то, что в последние годы в стационарах России отмечено значительное снижение распространённости устойчивых к метициллину (оксациллину) штаммов *S. aureus*, MRSA сохраняют более высокие по сравнению с MSSA (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*) уровни резистентности к не-β-лактамам антибиотикам [2]. Кроме того, MRSA являются своеобразными предшественниками гетерогенных по устойчивости к ванкомицину штаммов *S. aureus* [3], что, в свою очередь, может приводить к неблагоприятному исходу лечения этим антибиотиком как MRSA-инфекций [4], так и инфекций, вызванных коагулазонегативными стафилококками (КНС) [5, 6].

Обнаружена определённая связь снижения чувствительности стафилококков к ванкомицину с потерей их чувствительности к катионному антибиотику даптомицину [7], что обусловлено многочисленными изменениями структуры и функций цитоплазматических мембран бактериальных клеток, вызванных, в частности, мутациями в гене *mprF*, определяющем величину их электрического заряда. Было установлено, что продукт этого гена белок MprF является лизилфосфатидилглицеринсинтазой [8].

Метициллинрезистентные коагулазопозитивные стафилококки, как обладающие множественной устойчивостью, включены в список приоритетных бактериальных патогенов [9], однако известно, что частота выявления метициллинрезистентности среди КНС намного превышает таковую среди штаммов *S. aureus* [10]. Штаммы КНС обладают также более высокой устойчивостью к антибиотикам, дезинфектантам и антисептикам, и характеризуются также высокой способностью к образованию биоплёнок [11]. Возрастающая роль КНС как возбудителей внутрибольничных инфекций требует более пристального контроля, поскольку эта группа микроорганизмов недостаточно охвачена соответствующим вниманием исследователей.

В течение нескольких десятилетий проблема формирования резистентности бактерий к антибиотикам приобрела глобальные масштабы и достигла критического уровня ввиду отсутствия новых эффективных антибактериальных соединений. По последним данным Всемирной организации здравоохранения, 43 антибиотических препарата, проходящих в настоящее время клинические испытания в различных странах, по-видимому, не решают в достаточной степени проблемы устойчивости самых опасных в мире бактерий к лекарственным средствам [9], что указывает на острую необходимость разработки нетрадиционных антибактериальных соединений.

Выбор антибактериальных препаратов для тестирования чувствительности к ним стафилококков ограничен антибиотиками, обладающими выраженной активностью в отношении этой группы микроорганизмов. Наиболее часто для этих целей используются β-лактамы антибиотиков: бензилпенициллин (для оценки продук-

ции β-лактамаз) и оксациллин (для оценки наличия дополнительного пенициллинсвязывающего белка ПСБ2а). В качестве альтернативных антибиотиков исследуются также макролиды и линкозамиды, фторхинолоны, ванкомицин, линезолид, даптомицин и хинупристин/далфопристин [12].

Критерии чувствительности КНС к антибиотикам выражаются в значениях минимальных ингибиторных концентраций (МИК), (мкг/мл), определяемых методами серийных разведений в агаре или бульоне, а также в диаметрах зон подавления роста бактерий (мм) в диффузионных методах. Так, пограничные значения МИК оксациллина могут быть выражены как: ≤ 0,25 мкг/мл – чувствительные, ≥ 0,5 мкг/мл – устойчивые; ванкомицина: ≤ 4 мкг/мл – чувствительные, 8–16 мкг/мл – обладающие средним уровнем устойчивости, ≥ 32 мкг/мл – устойчивые; даптомицина (для *Staphylococcus spp.*): ≤ 1 мкг/мл – чувствительные, ≥ 1 мкг/мл – нечувствительные; линезолида (для *Staphylococcus spp.*): ≤ 4 мкг/мл (≥ 21 мм) – чувствительные, ≥ 8 мкг/мл (≤ 20 мм) – устойчивые [12]. Критерии чувствительности к варнерину для *Staphylococcus spp.* составляют: ≤ 0,25 мкг/мл – чувствительные, > 0,25 мкг/мл – обладающие пониженной чувствительностью [13].

Целью работы явилось изучение *in vitro* антибактериальной активности оксациллина, ванкомицина, даптомицина, линезолида и антибиотика варнерина в отношении клинических штаммов КНС и выявление корреляции устойчивости этих штаммов с наличием в их клеточных мембранах фосфолипида лизилфосфатидилглицерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе изучено 47 из более 2500 клинических штаммов КНС, выделенных в 2015–2016 гг. от пациентов родильных домов г. Перми и идентифицированных в лаборатории клинической диагностики ЦКБ № 7 как *S. haemolyticus* (63 %), *S. cohnii* (27 %), *S. warneri* (6 %) и другие КНС. Один из изолятов был идентифицирован также методом MALDI-TOF MS как *S. haemolyticus*. Культивированием бактерий этого штамма по методу, представленному в ранней работе [14], на питательной среде LB (г/л: триптон (ДИА М, Россия) – 10, дрожжевой экстракт (ДИА М, Россия) – 5, KCl (Biotech, Россия) – 6,4, pH 7,2) с повышающимися концентрациями ванкомицина был получен производный штамм *S. haemolyticus* 18₃₃, цифры в названии которого отражают номер изолята и концентрацию ванкомицина (мкг/мл), к которой он адаптирован. Индуцированные ванкомицином производные *S. haemolyticus* 18 штаммы, адаптированные к 16 и 27 мкг/мл ванкомицина, обозначенные как *S. haemolyticus* 18₁₆ и *S. haemolyticus* 18₂₇, использовались для изучения динамики спектров полярных липидов.

Бактерии *S. cohnii* ВКМ В-3165 и *S. aureus* ATCC 25923 использовались как контроли при определении чувствительности к антибактериальным препаратам.

Бактерии выращивали на среде LB в колбах с перемешиванием на орбитальном шейкере при 150 об./мин и температуре 37 °C.

МИК антибактериальных препаратов ванкомицина (Sigma, США), даптомицина (Novartis Pharma AG, Швейцария), оксациллина (Синтез, Россия), варнерина [15] и хоминина [16] определяли методом двукратных серийных разведений в 96-луночных полистироловых иммунологических планшетах (Медполимер, Россия) с использованием бульона Мюллера – Хинтона (Becton, Dickinson and Company, США) [17]. Инокуляты бактерий готовили из агаровых культур (18–24 ч) при доведении клеточных суспензий до плотности ~0,15 при 600 нм (10^8 КОЕ/мл) на спектрофотометре PD-303 (APEL, Япония), используя кюветы с длиной оптического пути 1 см, и добавляли в лунки планшетов до конечной концентрации 10^5 КОЕ/мл. Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 ч. Минимальные концентрации антибактериальных препаратов, при которых отсутствовал видимый рост бактерий, принимали как МИК. Для характеристики чувствительности штаммов к линезолиду использовали метод диффузии с дисков (НИЦФ, Россия, 30 мкг) с использованием агара Мюллера – Хинтона (Becton, Dickinson and Company, США) [12].

МИК антибактериальных соединений для 50 и 90 % исследованных штаммов обозначали как МИК₅₀ и МИК₉₀ соответственно.

Выявление штаммов КНС, потенциально обладающих пониженной чувствительностью к ванкомицину, проводили, модифицируя метод Wootton [18] посевом произвольно выбранного ряда штаммов с различными уровнями устойчивости к антибактериальным препаратам на градиент концентрации ванкомицина (от 0 до 6 мкг/мл) в геле. Градиент концентраций ванкомицина в агаризованной питательной среде BHI (Oxoid, Англия) готовили путём внесения в чашку Петри 20 мл расплавленной среды с 6 мкг/мл ванкомицина. Чашку устанавливали под углом 10° до застывания питательной среды. Затем чашку ставили горизонтально и заполняли 20 мл расплавленного и охлаждённого до 45 °C BHI-агара. После затвердевания среды чашку выдерживали при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего производили посев бактерий с помощью стерильных зондампонов из стандартных суспензий, приготовленных из жидких ночных культур. Учёт результатов проводили через 48 ч инкубации при 37 °C, сравнивая рост бактерий вдоль градиента. Бактерии *S. cohnii* ВКМ В-3165 использовали в качестве отрицательного контроля.

Гетерогенный характер устойчивости бактерий разных штаммов КНС к ванкомицину подтверждали с помощью популяционного анализа [19]. Инокуляты бактерий готовили как для градиента ванкомицина и высевали стандартные клеточные суспензии и их десятикратные серийные разведения на чашки с BHI-агаром, содержащим ванкомицин в различных концентрациях (0, 1, 2, 4, 6, 8 и 16 мкг/мл). Образовавшееся количество колоний было подсчитано через 48 ч инкубации при 37 °C. Для построения графика зависимости \log_{10} КОЕ/мл от концентрации ванкомицина и определения площади под кри-

вой (AUC) использовали программу GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., США). Минимальную концентрацию ванкомицина, ингибирующую появление 99,9 % бактериальных колоний, принимали как МИК [20].

In vitro селекцию бактериальных субпопуляций клинического штамма *S. saprophyticus* 30, обладающих сниженной чувствительностью к ванкомицину, осуществляли путём отбора колоний, выросших на чашках с 6 мкг/мл ванкомицина через 48 ч инкубации в методе популяционного анализа. Эти колонии, обозначенные как субпопуляция 30_с, были отобраны с чашек, ресуспендированы в среде LB и использованы в качестве инокулятов для получения ночных LB-культур с добавлением 1 мкг/мл ванкомицина и без ванкомицина и проведения последующего популяционного анализа. В результате были получены колонии на чашках с 8 мкг/мл ванкомицина и обозначены как субпопуляция 30_с. Далее эти колонии снова были использованы в качестве инокулятов для получения ночных LB-культур (с 2 мкг/мл ванкомицина и без ванкомицина) и постановки нового анализа чувствительности популяции к ванкомицину.

Экстракцию липидов из бактерий проводили по методу Bligh и Dyer [21]. Для тонкослойной хроматографии использовали пластины Sorbfil (сорбент – силикагель, толщина слоя – 110 мкм) (Сорбполимер, Россия). Разделение смеси липидов проводили в системе растворителей «хлороформ – метанол – вода» (65 : 25 : 4 по объёму). После разделения липидов пластины окрашивали раствором 3%-го ацетата меди в 8%-й серной кислоте [22] для определения общего состава липидов, 0,25 % нингидрином в ацетоне – липидов, содержащих свободные аминокислоты, реактивом Цинцаде – фосфолипидов, α -нафтолом – гликолипидов [23].

Статистический и графический анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., США). Данные представляли в виде $M \pm SD$ трёх независимых экспериментов. Для величин МИК значения указаны в пределах точности $\pm 1 \log_2$ разведения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ чувствительности клинических штаммов КНС к антибиотикам (табл. 1) показал, что все они обладали чувствительностью к гликопептидному антибиотику ванкомицину с МИК от $\leq 0,5$ до 4 мкг/мл, причём для 50 % изолятов МИК ванкомицина составляла 2 мкг/мл. Другие клинически значимые препараты для лечения стафилококковых инфекций – липопептидный антибиотик даптомицин (~90 % чувствительных) и линезолид (~81 % чувствительных) – также обладали высокой антибактериальной активностью в отношении исследованных штаммов КНС. Наименьшая активность действия была установлена для оксациллина (~30 % чувствительных) и лантибиотика варнерина (~6 % чувствительных).

Важно отметить двукратное возрастание МИК₅₀ и МИК₉₀ ванкомицина для оксациллинустойчивых штаммов по сравнению с чувствительными к этому антибио-

ТАБЛИЦА 1
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В РАБОТЕ
КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ ($n = 47$)
К АНТИБИОТИКАМ

TABLE 1
SENSITIVITY OF THE COAGULASE-NEGATIVE
STAPHYLOCOCCI USED IN THE WORK ($n = 47$)
TO ANTIBIOTICS

Антибиотик	Диапазон значений МИК (мкг/мл)	% чувствительных	МИК (мкг/мл)	
			50 %	90 %
Ванкомицин	0,5–4	100	2	4
Оксациллин	$\leq 0,25 - \geq 512$	29,8	32	≥ 512
Даптомицин	$\leq 0,25-4$	88	0,5	1
Варнерин	$\leq 0,25 - \geq 512$	6,4	8	64
Линезолид*	$\leq 4 - \geq 8$	80,9	≤ 4	≥ 8

Примечание. * – здесь и далее: интерпретация результатов дискодиффузионного теста.

ТАБЛИЦА 2
АКТИВНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ
ОКСАЦИЛЛИНЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ($n = 14$)
И ОКСАЦИЛЛИНУСТОЙЧИВЫХ ($n = 33$)
КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ

TABLE 2
ACTIVITY OF ANTIBIOTICS AGAINST OXACILLIN-SENSITIVE
($n = 14$) AND OXACILLIN-RESISTANT ($n = 33$)
COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI

Антибиотик	Диапазон значений МИК (мкг/мл)	% чувствительных	МИК (мкг/мл)	
			50 %	90 %
Чувствительные к оксациллину (n = 14)				
Ванкомицин	0,5–2	100	1	2
Даптомицин	≤ 0,25–2	85,7	0,5	1
Варнерин	≤ 0,25–128	14,3	8	32
Линезолид	≤ 4 – ≥ 8	78,5	≤ 4	≥ 8
Устойчивые к оксациллину (n = 33)				
Ванкомицин	0,5–4	100	2	4
Даптомицин	≤ 0,25–4	87,9	0,5	1
Варнерин	≤ 0,25 – ≥ 512	3	8	256
Линезолид	≤ 4 – ≥ 8	84,8	≤ 4	≥ 8

тику бактериями (табл. 2), для оксациллинустойчивых также выявлено восьмикратное увеличение МИК₉₀ варнерина.

Установлено перекрёстное увеличение МИК оксациллина и варнерина для КНС при возрастании МИК ванкомицина. Так, в таблице 3 представлены три группы штаммов: с МИК ванкомицина ≤ 1 мкг/мл ($n = 12$; 25,5 %), среди которых ~67 % штаммов чувствительны к оксациллину и 16,7 % – к варнерину; с МИК ванкомицина 2 мкг/мл ($n = 27$; 57,4 %) – 22 и 3,7 % штаммов чувствительны к оксациллину и варнерину, соответственно; стафилококки, для которых МИК ванкомицина составляет 4 мкг/мл ($n = 8$; 17 %), резистентны к оксациллину и варнерину.

При исследовании мембранных липидов клинических стафилококков выявлено наличие в них лизилфос-

фатидилглицерина (лизил-ФГ+) у 93,6 % ($n = 44$) штаммов, для которых характерно кроме устойчивости к варнерину (8 и 64 мкг/мл, МИК₅₀ и МИК₉₀ варнерина соответственно) и снижение чувствительности ко всем исследуемым антибиотикам в сравнении со стафилококками, не содержащими в липидном составе этого фосфолипид (лизил-ФГ–) (табл. 4). Сравнительный анализ липидного состава мембран исследованных штаммов стафилококков представлен на рисунке 1, из которого видно, что общими главными липидными компонентами мембран являются фосфатидилглицерин, кардиолипин и гликолипиды, при этом присутствие в их липидном составе принципиального фосфолипида лизил-ФГ придаёт им устойчивость к варнерину, характерную для бактерий *S. aureus*.

ТАБЛИЦА 3
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ
КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ ($n = 47$)
С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ВАНКОМИЦИНУ

TABLE 3
ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF COAGULASE-NEGATIVE
STAPHYLOCOCCI ($n = 47$) WITH VARYING SUSCEPTIBILITY
TO VANCOMYCIN

Антибиотик	Диапазон значений МИК (мкг/мл)	% чувствительных	МИК (мкг/мл)		
			50 %	90 %	
	Штаммы с МИК ванкомицина ≤ 1 мкг/мл (n = 12)				
	Оксациллин	≤ 0,25–64	66,7	≤ 0,25	64
	Даптомицин	≤ 0,25–1	100	≤ 0,25	1
	Варнерин	≤ 0,25–128	16,7	8	32
	Линезолид	≤ 4 – ≥ 8	75	≤ 4	≥ 8
	Штаммы с МИК ванкомицина 2 мкг/мл (n = 27)				
	Оксациллин	≤ 0,25 – ≥ 512	22,2	256	≥ 512
	Даптомицин	≤ 0,25–4	81,4	0,5	2
	Варнерин	≤ 0,25–128	3,7	8	64
	Линезолид	≤ 4 – ≥ 8	77,8	≤ 4	≥ 8
	Штаммы с МИК ванкомицина 4 мкг/мл (n = 8)				
	Оксациллин	8 – ≥ 512	0	≥ 512	≥ 512
Даптомицин	≤ 0,25–2	87,5	0,5	2	
Варнерин	2 – ≥ 512	0	8	≥ 512	
Линезолид	≤ 4	100	≤ 4	≤ 4	

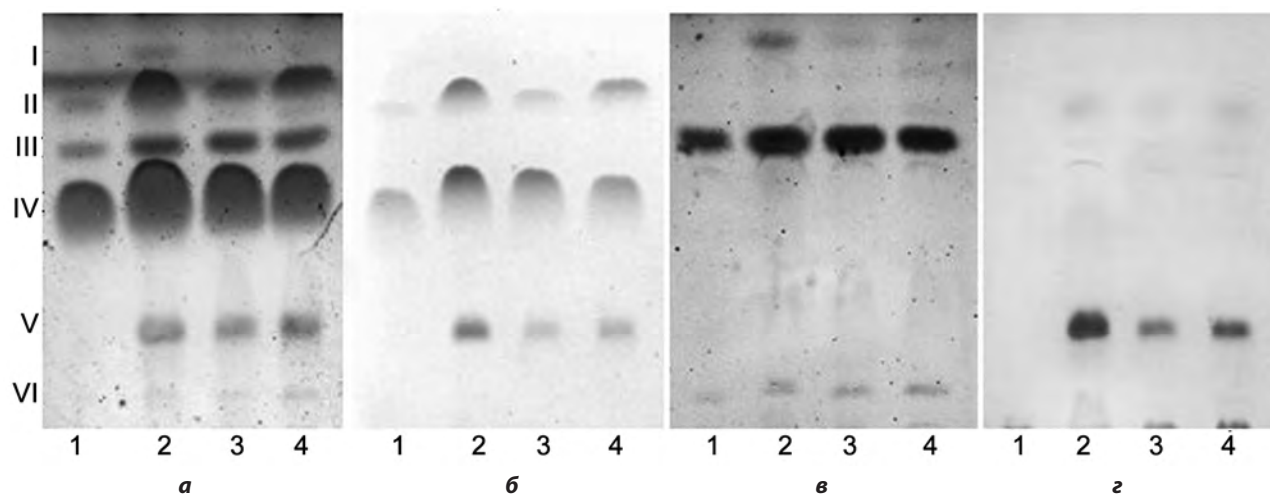


РИС. 1.
Тонкослойная хроматография полярных липидов стафи-
лококков *S. cohnii* VKM B-3165 (1), *S. aureus* ATCC 25923 (2),
S. haemolyticus 18 (3), *S. saprophyticus* 19 (4); окрашивание
на общие липиды (а), фосфолипиды (б), гликолипиды (в), ли-
пиды, содержащие первичную аминогруппу (г); гликолипид (I),
кардиолипид (II), гликолипид (III), фосфатидилглицерин (IV),
лизилфосфатидилглицерин (V), гликолипид (VI)

FIG. 1.
Thin-layer chromatography of polar lipids of *S. cohnii* VKM B-3165
(1), *S. aureus* ATCC 25923 (2), *S. haemolyticus* 18 (3), *S. saprophyti-*
cus 19 (4); staining for total lipids (а), phospholipids (б), glycolipids
(в), lipids containing a primary amino group (г); glycolipid (I), cardi-
olipin (II), glycolipid (III), phosphatidylglycerol (IV), lysylphosphati-
dylglycerol (V), glycolipid (VI)

ТАБЛИЦА 4
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ
КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ
(n = 47) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ
ЛИЗИЛФОСФАТИДИЛГЛИЦЕРИНА (ЛИЗИЛ-ФГ)

TABLE 4
ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF COAGULASE-NEGATIVE
STAPHYLOCOCCI (n = 47) DEPENDING ON THE PRESENCE
OF LYSYLPHOSPHATIDYLGLYCEROL (LYSYL-PG)

Антибиотик	Диапазон значений МИК (мкг/мл)	% чувствительных	МИК (мкг/мл)		
			50 %	90 %	
Штаммы, лизил-ФГ– (n = 3)					
	Оксациллин	≤ 0,25–4	66,7	≤ 0,25	4
	Даптомицин	≤ 0,25–1	100	0,5	1
	Ванкомицин	≤ 0,25–1	100	0,5	1
	Варнерин	≤ 0,25	100	≤ 0,25	≤ 0,25
	Линезолид	≤ 4	100	≤ 4	≤ 4
Штаммы, лизил-ФГ+ (n = 44)					
	Оксациллин	≤ 0,25 – ≥ 512	25	64	≥ 512
	Даптомицин	≤ 0,25 – 4	88,6	0,5	2
	Ванкомицин	0,5–4	100	2	4
	Варнерин	1 – ≥ 512	0	8	64
	Линезолид	≤ 4 – ≥ 8	75,9	≤ 4	≥ 8

Исследование чувствительности к антибиотикам при формировании устойчивости к ванкомицину клинического изолята *S. haemolyticus* 18 показало (табл. 5), что оба штамма, исходный и производный, устойчивый ванкомицину (*S. haemolyticus* 18₃₃), обладают одинаковой чувствительностью к фузидину, линкомицину, хлорамфениколу, линезолиду, тетрациклину и рифампицину и характеризуются перекрёстной устойчивостью к группе β-лактамов, аминогликозидам, макролидам и хинолонам. Они также обладают резистентностью к лантибиотикам варнерину и хоминину. Изучение динамики липидного состава клинического штамма *S. haemolyticus* 18 при формировании его устойчивости к ванкомицину выявило постепенное увеличение площадей и интенсивности окрашивания пятен лизил-ФГ на пластинах ТСХ, свидетельствующее о возрастании его содержания в составе мембран по сравнению с базовым уровнем, характерным для родительского штамма (рис. 2). Это, вероятно, определяет более чем двукратное повышение МИК лантибиотиков варнерина и хоминина и антибиотика даптомицина для производного штамма *S. haemolyticus* 18₃₃. Интересно отметить появление гликолипидов в липидных спектрах производных штаммов, что может также способствовать приобретению ими новых свойств, не типичных для родительского штамма *S. haemolyticus* 18.

Гетерогенная природа чувствительности к ванкомицину была выявлена у трёх из пяти произвольно выбранных клинических КНС, МИК антибиотиков которых представ-

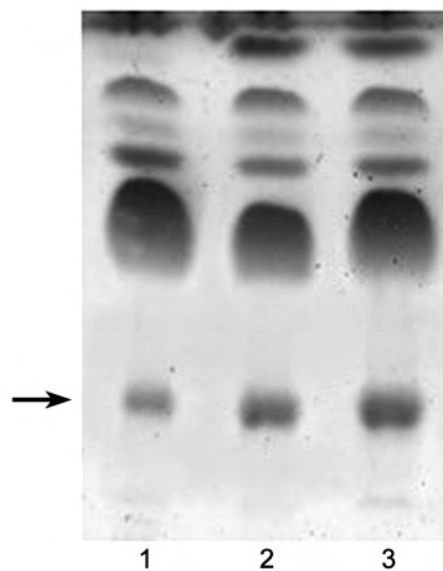


РИС. 2.

Визуализация увеличения концентрации лизилфосфатидилглицерина при формировании устойчивости к ванкомицину бактерий *S. haemolyticus* 18 (1), *S. haemolyticus* 18₁₆ (2), *S. haemolyticus* 18₂₇ (3)

FIG. 2.

Visualization of increasing concentration of lysylphosphatidylglycerol during the development of resistance to vancomycin in bacteria *S. haemolyticus* 18 (1), *S. haemolyticus* 18₁₆ (2), *S. haemolyticus* 18₂₇ (3)

ТАБЛИЦА 5
МИНИМАЛЬНЫЕ ИНГИБИТОРНЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ
АНТИБИОТИКОВ И ЛАНТИБИОТИКОВ ДЛЯ БАКТЕРИЙ
***S. HAEMOLYTICUS* 18, ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И УСТОЙЧИВЫХ**
К ВАНКОМИЦИНУ

TABLE 5
MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATIONS OF ANTIBIOTICS
AND LANTIBIOTICS FOR *S. HAEMOLYTICUS* 18 BACTERIA
SENSITIVE AND RESISTANT TO VANCOMYCIN

Антибиотик	МИК (мкг/мл)	
	<i>S. haemolyticus</i> 18	<i>S. haemolyticus</i> 18 ₃₃
Гликопептиды		
Ванкомицин	2	16
В-лактамы		
Бензилпенициллин	≥ 0,25	≥ 0,25
Цефалексин	≥ 32	≥ 32
Оксациллин	≥ 512	≥ 512
Фузидин	≤ 0,25	≤ 0,25
Аминогликозиды		
Гентамицин	≥ 16	≥ 16
Макролиды		
Эритромицин	≥ 8	≥ 8
Линкозамиды		
Линкомицин	≤ 2	≤ 2
Фениколы		
Хлорамфеникол	6,25	6,25
Оксазолидиноны		
Линезолид	≤ 4	≤ 4
Хинолоны		
Ципрофлоксацин	≥ 4	≥ 4
Тетрациклин	≤ 4	≤ 4
Рифампицин	0,0005	0,0005
Даптомицин	0,5	1,5
Варнерин	≥ 256	≥ 512
Хоминин	≥ 80	≥ 300

ТАБЛИЦА 6
АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ
КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ,
ИССЛЕДОВАННЫХ МЕТОДОМ ПОПУЛЯЦИОННОГО
АНАЛИЗА

TABLE 6
ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF COAGULASE-NEGATIVE
STAPHYLOCOCCI STUDIED BY POPULATION ANALYSIS

Штамм	МИК (мкг/мл)			
	Оксациллин	Даптомицин	Варнерин	Ванкомицин*
<i>S. cohnii</i> BKM B-3165	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 0,25	1 (1,5)
<i>S. haemolyticus</i> 18	≥ 512	≤ 0,5	≥ 256	2 (2)
<i>S. saprophyticus</i> 19	≥ 512	≤ 0,5	≥ 8	2 (3)
<i>S. saprophyticus</i> 30	≥ 512	≤ 0,25	≥ 1	2 (4)
<i>S. saprophyticus</i> 34	≤ 0,25	≤ 2	≥ 8	2 (3)
<i>S. saprophyticus</i> 42	≤ 0,25	≤ 1	≤ 0,25	2 (3,5)

Примечание. * – МИК ванкомицина, установленная методом двукратных разведений (в скобках – МИК ванкомицина, установленная популяционным анализом)

лены в таблице 6. На диаграммах популяционного анализа видно, что в культурах *S. saprophyticus* 30, *S. saprophyticus* 34 и *S. saprophyticus* 42 присутствуют бактерии с частотой $< 10^{-7}$, способные к росту на среде с 6 мкг/мл ванкомицина (рис. 3в, г, д). Бактерии этих же штаммов были способны к росту вдоль градиента концентраций ванкомицина за пределами роста чувствительных бактерий *S. cohnii* VKM B-3165. При расчёте площади гистограмм (AUC), прямо пропорционально отражающей степень гетерогенно-

сти популяций, показано, что для стафилококков, способных к росту в широком диапазоне концентраций ванкомицина, значение AUC существенно превышает AUC чувствительных бактерий *S. cohnii* VKM B-3165.

Обогащение культуры *S. saprophyticus* 30 субпопуляциями клеток с пониженной чувствительностью к ванкомицину происходило довольно быстро, популяционный анализ селективно полученных культур представлен на рис. 4. Для бактерий субпопуляции *S. saprophyticus* 30,

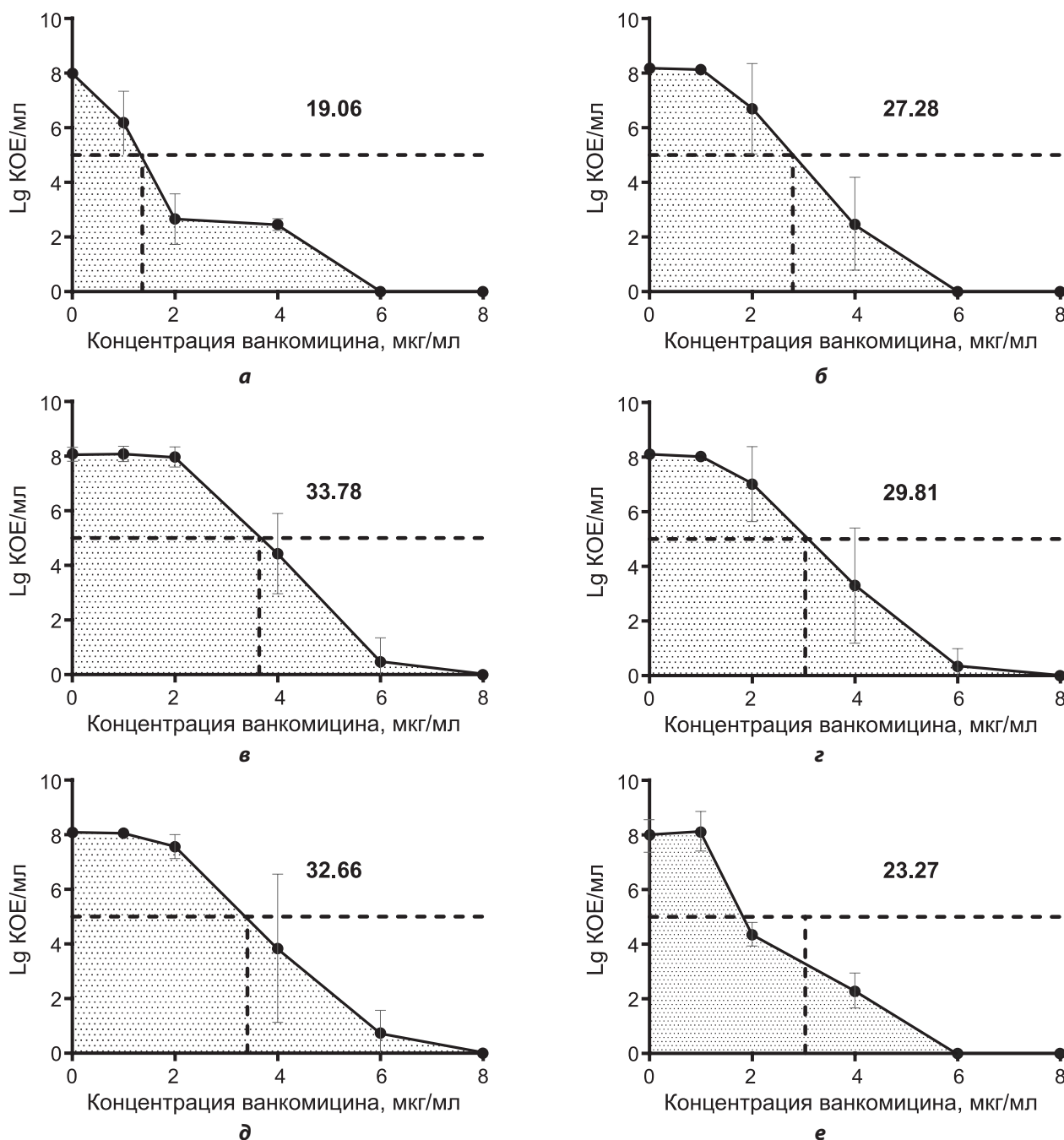


РИС. 3.

Популяционный анализ чувствительности к ванкомицину коагулазонегативных стафилококков *S. cohnii* VKM B-3165 (а), *S. saprophyticus* 19 (б), *S. saprophyticus* 30 (в), *S. saprophyticus* 34 (г), *S. saprophyticus* 42 (д), *S. haemolyticus* 18 (е); значения AUC нанесены на графики

FIG. 3.

Population analysis of sensitivity to vancomycin of coagulase-negative staphylococci *S. cohnii* VKM B-3165 (a), *S. saprophyticus* 19 (б), *S. saprophyticus* 30 (в), *S. saprophyticus* 34 (г), *S. saprophyticus* 42 (д), *S. haemolyticus* 18 (е); AUC values plotted on graphs

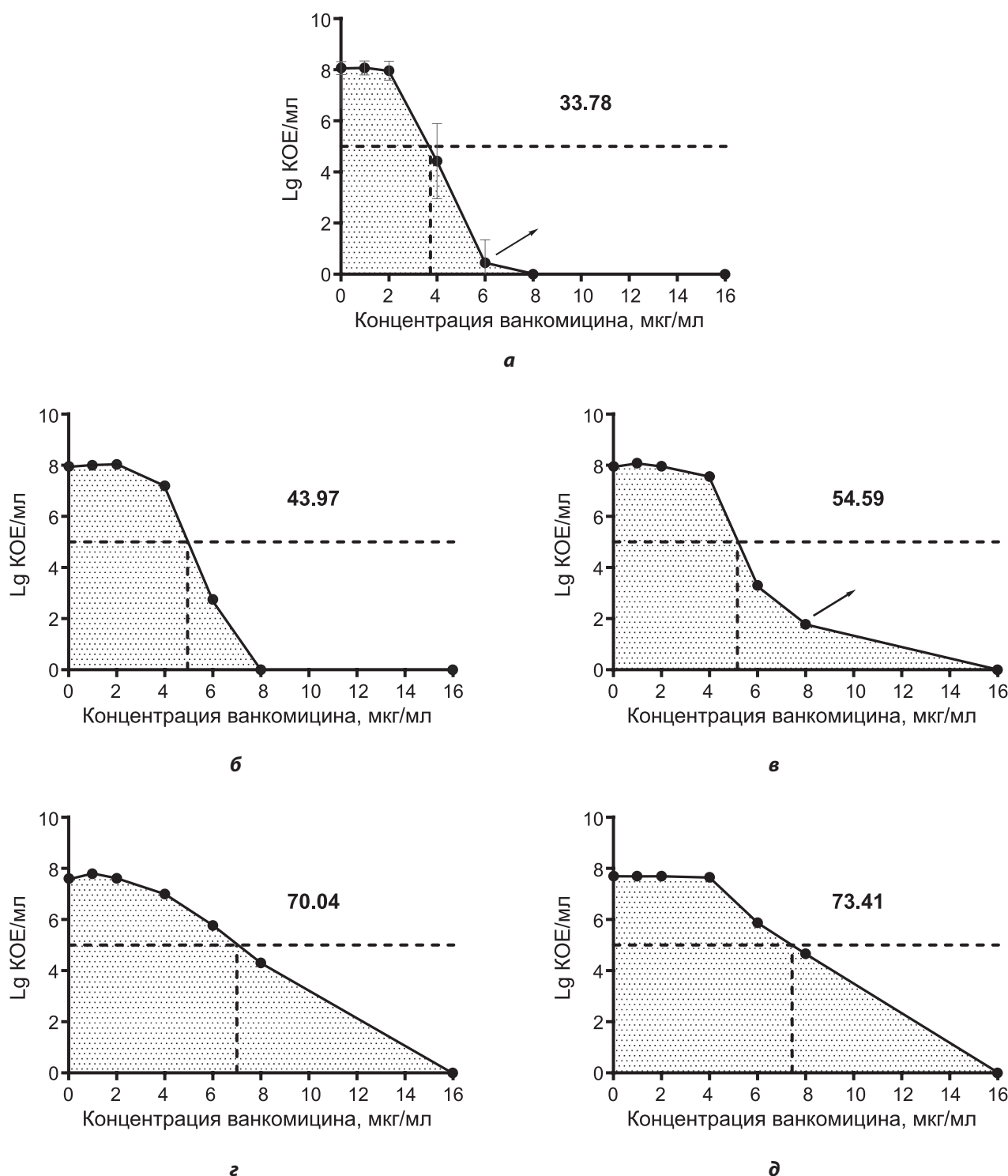


РИС. 4.

Селекция резистентных к ванкомицину бактерий *S. saprophyticus* 30: популяционный анализ исходной культуры (а), субпопуляции *S. saprophyticus* 30₆ без предынкубации с ванкомицином (б), субпопуляции *S. saprophyticus* 30₆ с предварительным культивированием в присутствии 1 мкг/мл ванкомицина (в), субпопуляции *S. saprophyticus* 30₈ без предынкубации с ванкомицином (г), субпопуляции *S. saprophyticus* 30₈ с предварительным культивированием в присутствии 2 мкг/мл ванкомицина (д); моменты отбора колоний обозначены стрелками; значения AUC нанесены на графики

FIG. 4.

Selection of vancomycin-resistant bacteria *S. saprophyticus* 30: population analysis of the initial culture (а), subpopulation of *S. saprophyticus* 30₆ without preincubation with vancomycin (б), subpopulation of *S. saprophyticus* 30₆ with precultivation in the presence of 1 μg/ml vancomycin (в), subpopulations of *S. saprophyticus* 30₈ without preincubation with vancomycin (г), subpopulations of *S. saprophyticus* 30₈ with preculture in the presence of 2 μg/ml vancomycin (д); the moments of selection of colonies are indicated by arrows; AUC values plotted on graphs

ТАБЛИЦА 7

СЕЛЕКЦИЯ *IN VITRO* СУБПОПУЛЯЦИЙ
S. SAPROPHYTICUS 30, ОБЛАДАЮЩИХ ПОНИЖЕННОЙ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ВАНКОМИЦИНУ

TABLE 7

IN VITRO SELECTION OF SUBPOPULATIONS
OF *S. SAPROPHYTICUS* 30 WITH REDUCED SENSITIVITY
TO VANCOMYCIN

Бактерии		МИК ванкомицина (мкг/мл)			
		Метод двукратных разведений		Популяционный анализ, 48 ч	AUC
		24 ч	48 ч		
<i>S. saprophyticus</i> 30		2	2	4	33,78
30 ₆	без предынкубации с ванкомицином	2,5	2,5	5	43,97
30 ₆	предынкубация с ванкомицином, 1 мкг/мл	2,5	2,5	5,5	54,59
30 ₈	без предынкубации с ванкомицином	2,5	5	7	70,04
30 ₈	предынкубация с ванкомицином, 2 мкг/мл	2,5	5	7,5	73,41

МИК ванкомицина составляла 5 мкг/мл, а частота обнаружения бактерий, способных к росту, на среде с концентрацией ванкомицина 6 мкг/мл возрастала до 10^{-5} (рис. 4б, в). Кроме того, инкубация *S. saprophyticus* 30₆ в присутствии ванкомицина приводила к появлению бактерий, способных расти на среде с концентрацией ванкомицина 8 мкг/мл (рис. 4б). Для бактерий субпопуляции *S. saprophyticus* 30₈ МИК ванкомицина составляла уже 7 мкг/мл, а частота появления клеток, способных к образованию колоний, в присутствии 8 мкг/мл ванкомицина возрастала до 10^{-3} (рис. 4г, д). Таким образом, значения МИК ванкомицина для субпопуляций бактерий со сниженной чувствительностью к этому гликопептиду, установленные методом двукратных разведений, оказались существенно ниже значений МИК, полученных популяционным анализом (табл. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результатами наших исследований антибиотикорезистентности клинических КНС, выделенных от пациентов ряда стационаров г. Перми, показана прямая зависимость чувствительности стафилококков к лантибиотикам и гликопептиду ванкомицину от уровня их чувствительности к оксациллину.

Подобное явление не является редким для клинических КНС. Так, стафилококки, выделенные от пациентов кардиохирургического стационара, обладали устойчивостью к оксациллину ($\geq 70\%$ изолятов). Вместе с тем данные изоляты обладали перекрёстной устойчивостью к антибиотикам из других групп: аминогликозидам, макролидам и фторхинолонам, но были чувствительны к ванкомицину, линезолиду, даптомицину и тигециклину. Однако среди этих штаммов присутствовал изолят *S. warneri* с МИК ванкомицина ≥ 32 мкг/мл, устойчивый ко всем исследованным антибиотикам, кроме тигециклина [24].

Стафилококки с пониженной чувствительностью к гликопептидным антибиотикам, как правило, обладают

устойчивостью к нескольким антибактериальным препаратам [25]. Метициллинрезистентные стафилококки обладают пониженной чувствительностью к гликопептидным антибиотикам [26, 27]. В связи с этим, перед исследователями перманентно стоит задача по разработке стратегий подавления стафилококковых инфекций. Для этого проводится разработка новых антибиотических препаратов [28–30] и поиск комбинаций антибиотиков, действующих бактерицидно на клетки полирезистентных микроорганизмов [31].

Одним из перспективных направлений решения проблемы антибиотикорезистентности является стратегия воздействия на ключевые факторы вирулентности бактерий. Одним из таких факторов является белок MprF (multiple peptide resistance factor) [32]. Это интегральный белок, осуществляющий две функции в клетках *S. aureus*: синтез лизил-ФГ посредством переноса положительно заряженной аминокислоты лизина с т-РНК на ФГ внутренней стороны клеточной мембраны, а также перенос зрелого лизил-ФГ на её внешнюю сторону. Благодаря этому процессу происходит «разбавление» общего отрицательного заряда бактериальной клетки, способствующего снижению сродства бактериальной поверхности к амфипатическим катионным антибактериальным соединениям. Подобные MprF белки, обнаруженные в широком ряду грамположительных и грамотрицательных бактерий, также участвуют в синтезе аминокислотированных производных фосфатидилглицерина, что обеспечивает им устойчивость в стрессовых условиях [33].

В нашем исследовании также показано абсолютное преобладание среди изученных клинических стафилококков бактерий, имеющих лизил-ФГ в клеточных мембранах. Для этих штаммов КНС установлено очевидное увеличение диапазонов МИК в сторону повышения для всех использованных в работе антибактериальных препаратов по сравнению с МИК антибиотиков для штаммов, не обладающих этим фосфолипидом. Более того, нами было выявлено увеличение уровня лизил-ФГ в клетках штамма *S. haemolyticus* 18 при его

адаптации к росту на средах с повышающимися концентрациями ванкомицина. Это в очередной раз доказывает роль лизил-ФГ в формировании особых свойств поверхности бактерий, способствующих снижению общего отрицательного заряда. Вследствие этого возникает устойчивость бактерий к катионным антибактериальным соединениям, как это показано для золотистых стафилококков [34].

Выявление клинических штаммов стафилококков со сниженной чувствительностью к ванкомицину представляет определённую трудность в связи с тем, что обычные методы определения чувствительности к этому антибиотику (диффузионный, разведений в агаре или бульоне) не способны обнаружить малочисленные субпопуляции резистентных к нему клеток [35, 36]. Однако использование инокулятов с большей концентрацией клеток, богатых питательных сред и более длительного времени культивирования для тестирования чувствительности к ванкомицину приводит к выявлению в бактериальных популяциях гетерорезистентности по данному признаку. Надёжными для выявления *S. aureus* (но не КНС) со сниженной чувствительностью к ванкомицину методами, являются скрининг на ВНИ агаре с 4 [4] и 6 мкг/мл ванкомицина [17], а также градиент его концентраций в геле, Е-тест [37] и популяционный анализ. Для повышения степени воспроизводимости результатов популяционного анализа предложены некоторые его вариации, заключающиеся в использовании автоматических устройств для инокулирования и последующего подсчёта колоний [18]. Модификацией дискдиффузионного метода для обнаружения гетерогенного фенотипа чувствительности стафилококков к ванкомицину является снижение количества ванкомицина в диске, что способствует увеличению чувствительности и специфичности метода по сравнению с использованием стандартных дисков [38]. Также целесообразно определение способности стафилококков к продукции δ -гемолизина, поскольку они являются маркерной характеристикой стафилококков, обладающих сниженной чувствительностью к ванкомицину [39]. Интерпретация результатов всех перечисленных методов должна производиться на основании характеристик штаммов *S. aureus* Mu 3 и Mu 50, которые являются образцами гетерогенного (h-VRSA) и интермедиатного фенотипа (VISA) соответственно [4].

Ввиду отсутствия разработанных критериев для определения гетерогенной природы устойчивости бактерий КНС к ванкомицину, метод популяционного анализа, несмотря на его трудоёмкость, является наиболее демонстративным. Выявленные в настоящей работе резистентные к ванкомицину субпопуляции нескольких штаммов КНС позволяют предположить, что гетерорезистентность к ванкомицину среди стафилококков является распространённым феноменом. Однако данное заключение требует проведения аналогичного популяционного анализа на более обширных выборках клинических изолятов КНС и разработки алгоритма детекции гетерогенных по чувствительности к ванкомицину штаммов КНС.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды», регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119112290009-1.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Авторы выражают признательность старшему научному сотруднику лаборатории биохимии развития микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН», к.б.н. Полудовой Татьяне Вячеславовне за помощь в написании статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дехнич А.В., Никулин А.А., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Козлов Р.С. и др. Эпидемиология резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов в ОРИТ российских стационаров: результаты многоцентрового исследования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2008; 10(4): 333-344.
2. Романов А.В., Дехнич А.В., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Эйдельштейн М.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «Марафон» в 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(1): 57-62.
3. Зайцев А.А., Карпов О.И., Сидоренко С.В. Стафилококки и ванкомицин: тенденции противостояния. *Антибиотики и химиотерапия*. 2003; 48(6): 20-26.
4. Hiramoto K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet*. 1997; 350(9092): 1670-1673. doi: 10.1016/S0140-6736(97)07324-8
5. Center KJ, Rebolli AC, Hubler R, Rodgers GL, Long SS. Decreased vancomycin susceptibility of coagulase-negative staphylococci in a neonatal intensive care unit: Evidence of spread of *Staphylococcus warneri*. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(10): 4660-4665. doi: 10.1128/JCM.41.10.4660-4665.2003
6. Cremniter J, Slassi A, Quincampoix JC, Sivadon-Tardy V, Bauer T, Porcher R, et al. Decreased susceptibility to teicoplanin and vancomycin in coagulase-negative staphylococci isolated from orthopedic-device-associated infections. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(4): 1428-14231. doi: 10.1128/JCM.02098-09
7. Jones T, Yeaman MR, Sakoulas G, Yang SJ, Proctor RA, Sahl HG, et al. Failures in clinical treatment of *Staphylococcus aureus* infection with daptomycin are associated with alterations in surface charge, membrane phospholipid asymmetry, and drug binding. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(1): 269-278. doi: 10.1128/AAC.00719-07
8. Oku Y, Kurokawa K, Ichihashi N, Sekimizu K. Characterization of the *Staphylococcus aureus* mprF gene, involved in lysinylation of phosphatidylglycerol. *Microbiology (Reading)*. 2004; 150(1): 45-51. doi: 10.1099/mic.0.26706-0

9. World Health Organization, Antimicrobial Resistance Division. 2020 antibacterial agents in clinical and preclinical development: An overview and analysis. Geneva, Switzerland; 2021. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240021303> [date of access: 11.05.2022].
10. Сабирова Е.В., Гординская Н.А., Абрамова Н.В., Некаева Е.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus* spp., выделенных в ожоговом центре в 2002–2008 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2010; 12(1): 77-81.
11. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27(4): 870-926. doi: 10.1128/CMR.00109-13
12. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement*. 2014: 34(1).
13. Полюдова Т.В., Лемкина Л.М., Лихацкая Г.Н., Коробов В.П. Оптимизация условий получения и моделирование 3D-структуры нового антибактериального пептида семейства лантибиотиков. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017; 53(1): 47-54. doi: 10.7868/S0555109917010147
14. Кононова Л.И., Коробов В.П. Физиологические особенности устойчивого к ванкомицину штамма *Staphylococcus epidermidis* 33 GISK VAN R. *Микробиология*. 2015; 84(1): 58-67. doi: 10.7868/S0026365615010061
15. Коробов В.П., Лемкина Л.М., Полюдова Т.В., Акименко В.К. Выделение и характеристика нового низкомолекулярного антибактериального пептида семейства лантибиотиков. *Микробиология*. 2010; 79(2): 228-238.
16. Коробов В.П., Лемкина Л.М., Полюдова Т.В. *Антибактериальный пептид хоминин KLP-1 широкого спектра действия*: Патент № 2528055 Рос. Федерация; МПК C07K 14/31 (2006.01), A61K 38/16 (2006.01), C12R 1/44 (2006.01); заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук. № 2012125512/10; заявл. 19.06.2012; опубл. 10.09.2014. 2014; (25).
17. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard; 9th edition*. 2012: 32(2).
18. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 47(4): 399-403. doi: 10.1093/jac/47.4.399
19. Hanaki H, Hiramatsu K. Detection methods of glycopeptideresistant *Staphylococcus aureus* I: Susceptibility testing. *Antibiotic Resistance. Methods in Molecular Medicine™*. Ed. SH Gillespie. Humana Press; 2001; 48: 85-92. doi: 10.1385/1-59259-077-2:85
20. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *New Engl J Med*. 1999; 340(7): 517-523. doi: 10.1056/NEJM199902183400704
21. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959; 37(8): 911-917. doi: 10.1139/o59-099
22. Fewster ME, Burns BJ, Mead JF. Quantitative densitometric thin-layer chromatography of lipids using copper acetate reagent. *J Chromatogr*. 1969; 43(1): 120-126. doi: 10.1016/s0021-9673(00)99173-8
23. Кейтс М. *Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов*. М.: Мир; 1975.
24. Граничная Н.В., Зайцева Е.А., Переломова О.В. Резистентность коагулазонегативных стафилококков, выделенных из различного биоматериала у пациентов кардиохирургического профиля. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019; 2(76): 38-42. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2019.2.28-42
25. Kelley PG, Gao W, Ward PB, Howden BP. Daptomycin non-susceptibility in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous-VISA (hVISA): Implications for therapy after vancomycin treatment failure. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(5): 1057-1060. doi: 10.1093/jac/dkr066
26. Howden BP, Johnson PDR, Ward PB, Stinear TP, Davies JK. Isolates with low-level vancomycin resistance associated with persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(9): 3039-3047. doi: 10.1128/AAC.00422-06
27. Pinheiro L, Brito CI, Pereira VC, de Oliveira A, Camargo CH, Cunha M de L. Reduced susceptibility to vancomycin and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from blood cultures. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014; 109(7): 871-878. doi: 10.1590/0074-0276140120
28. Barber KE, Werth BJ, Ireland CE, Stone NE, Nonejuie P, Sakoulas G, et al. Potent synergy of ceftobiprole plus daptomycin against multiple strains of *Staphylococcus aureus* with various resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69(11): 3006-3010. doi: 10.1093/jac/dku236
29. Chopra L, Singh G, Taggar R, Dwivedi A, Nandal J, Kumar P, et al. Antimicrobial peptides from bacterial origin: Potential alternative to conventional antibiotics. *High Value Fermentation Products*; ed. by S. Saran, V. Babu, A. Chuabey. Scrivener; 2019: 193-204. doi: 10.1002/9781119460053.ch8
30. Werth BJ, Vidaillac C, Murray KP, Newton KL, Sakoulas G, Nonejuie P, et al. Novel combinations of vancomycin plus ceftaroline or oxacillin against methicillin-resistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous VISA. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013; 57(5): 2376-2379. doi: 10.1128/AAC.02354-12
31. Mun S-H, Kang O-H, Joung D-K, Kim S-B, Choi J-G, Shin D-W, et al. In vitro anti-MRSA activity of carvone with gentamicin. *Exp Ther Med*. 2014; 7(4): 891-896. doi: 10.3892/etm.2014.1498
32. Ernst CM, Peschel A. Broad-spectrum antimicrobial peptide resistance by MprF-mediated aminoacylation and flipping of phospholipids. *Mol Microbiol*. 2011; 80(2): 290-299. doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07576.x
33. Geiger O, González-Silva N, López-Lara IM, Sohlenkamp C. Amino acid-containing membrane lipids in bacteria. *Prog Lipid Res*. 2010; 49(1): 46-60. doi: 10.1016/j.plipres.2009.08.002
34. Peschel A, Jack RW, Otto M, Collins LV, Staubitz P, Nicholson G, et al. *Staphylococcus aureus* resistance to human defensins and evasion of neutrophil killing via the novel virulence factor MprF is based on modification of membrane lipids with L-lysine. *J Exp Med*. 2001; 193(9): 1067-1076. doi: 10.1084/jem.193.9.1067
35. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, Patel JB. Comparison of detection methods for heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, with the population analysis profile method as the reference method. *J Clin Microbiol*. 2011; 49(1): 177-183. doi: 10.1128/JCM.01128-10

36. Sieradzki K, Villari P, Tomasz A. Decreased susceptibilities to teicoplanin and vancomycin among coagulase-negative methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42(1): 100-107. doi: 10.1128/AAC.42.1.100
37. Walsh TR, Bolmstrom A, Qwarnstrom A, Ho P, Wootton M, Howe RA, et al. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(7): 2439-2444. doi: 10.1128/JCM.39.7.2439-2444.2001
38. Lulitanond A, Chanawong A, Sribenjalux P, Kaewkes W, Vorachit M, Chongtrakool P, et al. Detection of heterogeneous, intermediate-vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (hVISA) using low-concentration vancomycin disks. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2006; 37(4): 761-767.
39. Cafiso V, Bertuccio T, Spina D, Purrello S, Campanile F, Di Pietro C, et al. Modulating activity of vancomycin and daptomycin on the expression of autolysis cell-wall turnover and membrane charge genes in hVISA and VISA strains. *PLoS One.* 2012; 7(1): e29573. doi: 10.1371/journal.pone.0029573

REFERENCES

1. Dekhnich AV, Nikulin AA, Rjabkova EL, Krechikova OL, Suhorukova MV, Kozlov RS, et al. Epidemiology of antimicrobial resistance of *S. aureus* isolated from ICU patients in Russia: Results of prospective multicenter study. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2008; 10(4): 333-344. (In Russ.).
2. Romanov AV, Dekhnich AV, Sukhorukova MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Edelstein MV, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013-2014. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2017; 19(1): 57-62. (In Russ.).
3. Zaitsev AA, Karpov OL, Sidorenko SV. Staphylococci and vancomycin: Trends in confrontation. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2003; 48(6): 20-26. (In Russ.).
4. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet.* 1997; 350(9092): 1670-1673. doi: 10.1016/S0140-6736(97)07324-8
5. Center KJ, Reboli AC, Hubler R, Rodgers GL, Long SS. Decreased vancomycin susceptibility of coagulase-negative staphylococci in a neonatal intensive care unit: evidence of spread of *Staphylococcus warneri*. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(10): 4660-4665. doi: 10.1128/JCM.41.10.4660-4665.2003
6. Cremniter J, Slassi A, Quincampoix JC, Sivadon-Tardy V, Bauer T, Porcher R, et al. Decreased susceptibility to teicoplanin and vancomycin in coagulase-negative staphylococci isolated from orthopedic-device-associated infections. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(4): 1428-14231. doi: 10.1128/JCM.02098-09
7. Jones T, Yeaman MR, Sakoulas G, Yang SJ, Proctor RA, Sahl HG, et al. Failures in clinical treatment of *Staphylococcus aureus* infection with daptomycin are associated with alterations in surface charge, membrane phospholipid asymmetry, and drug binding. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(1): 269-278. doi: 10.1128/AAC.00719-07
8. Oku Y, Kurokawa K, Ichihashi N, Sekimizu K. Characterization of the *Staphylococcus aureus* mprF gene, involved in lysinylation of phosphatidylglycerol. *Microbiology (Reading).* 2004; 150(1): 45-51. doi: 10.1099/mic.0.26706-0
9. World Health Organization, Antimicrobial Resistance Division. 2020 antibacterial agents in clinical and preclinical development: An overview and analysis. Geneva, Switzerland; 2021. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240021303> [date of access: 11.05.2022].
10. Sabirova EV, Gordinskaya NA, Abramova NV, Nekaeva ES. Antimicrobial resistance of nosocomial staphylococci isolated from burn center patients in 2002-2008. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2010; 12(1): 77-81. (In Russ.).
11. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 2014; 27(4): 870-926. doi: 10.1128/CMR.00109-13
12. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.* 2014: 34(1).
13. Polyudova TV, Lemkina LM, Korobov VP, Likhatskaya GN. Optimization of production conditions and 3D-structure modeling of novel antibacterial peptide of lantibiotic family. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2017; 53(1): 40-46. (In Russ.). doi: 10.1134/S0003683817010148
14. Kononova LI, Korobov VP. Physiological properties of the vancomycin-resistant strain *Staphylococcus epidermidis* 33 GISK VANR. *Microbiology (Mikrobiologiya).* 2015; 84(1): 41-48. (In Russ.). doi: 10.7868/S0026365615010061
15. Korobov VP, Lemkina LM, Polyudova TV, Akimenko VK. Isolation and characterization of a new low-molecular antibacterial peptide of the lantibiotics family. *Microbiology (Mikrobiologiya).* 2010; 79(2): 206-215. (In Russ.).
16. Korobov VP, Lemkina LM, Polyudova TV. Broad spectrum antibacterial peptide hominin KLP-1: Patent N 2528055 of the Russian Federation. 2014; (25). (In Russ.).
17. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard; 9th edition.* 2012: 32(2).
18. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2001; 47(4): 399-403. doi: 10.1093/jac/47.4.399
19. Hanaki H, Hiramatsu K. Detection methods of glycopeptideresistant *Staphylococcus aureus* I: Susceptibility testing. *Antibiotic Resistance. Methods in Molecular Medicine™.* Ed. SH Gillespie. Humana Press; 2001; 48: 85-92. doi: 10.1385/1-59259-077-2:85
20. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *New Engl J Med.* 1999; 340(7): 517-523. doi: 10.1056/NEJM199902183400704
21. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959; 37(8): 911-917. doi: 10.1139/o59-099
22. Fewster ME, Burns BJ, Mead JF. Quantitative densitometric thin-layer chromatography of lipids using copper acetate reagent. *J Chromatogr.* 1969; 43(1): 120-126. doi: 10.1016/s0021-9673(00)99173-8
23. Kates M. *Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids.* Moscow: Mir Publishing House; 1975. (In Russ.).

24. Granichnaya NV, Zaytseva EA, Perelomova OV. Resistance of coagulase negative staphylococci recovered from different biomaterials in cardiac patients. *Pacific Medical Journal*. 2019; 2(76): 38-42. (In Russ.). doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2019.2.28-42
25. Kelley PG, Gao W, Ward PB, Howden BP. Daptomycin non-susceptibility in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous-VISA (hVISA): Implications for therapy after vancomycin treatment failure. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(5): 1057-1060. doi: 10.1093/jac/dkr066
26. Howden BP, Johnson PDR, Ward PB, Stinear TP, Davies JK. Isolates with low-level vancomycin resistance associated with persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(9): 3039-3047. doi: 10.1128/AAC.00422-06
27. Pinheiro L, Brito CI, Pereira VC, de Oliveira A, Camargo CH, Cunha M de L. Reduced susceptibility to vancomycin and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from blood cultures. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014; 109(7): 871-878. doi: 10.1590/0074-0276140120
28. Barber KE, Werth BJ, Ireland CE, Stone NE, Nonejuie P, Sakoulas G, et al. Potent synergy of ceftobiprole plus daptomycin against multiple strains of *Staphylococcus aureus* with various resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69(11): 3006-3010. doi: 10.1093/jac/dku236
29. Chopra L, Singh G, Taggar R, Dwivedi A, Nandal J, Kumar P, et al. Antimicrobial peptides from bacterial origin: Potential alternative to conventional antibiotics. *High Value Fermentation Products*; ed. by S. Saran, V. Babu, A. Chuabey. Scrivener; 2019: 193-204. doi: 10.1002/9781119460053.ch8
30. Werth BJ, Vidallac C, Murray KP, Newton KL, Sakoulas G, Nonejuie P, et al. Novel combinations of vancomycin plus ceftaroline or oxacillin against methicillin-resistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous VISA. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013; 57(5): 2376-2379. doi: 10.1128/AAC.02354-12
31. Mun S-H, Kang O-H, Joung D-K, Kim S-B, Choi J-G, Shin D-W, et al. In vitro anti-MRSA activity of carvone with gentamicin. *Exp Ther Med*. 2014; 7(4): 891-896. doi: 10.3892/etm.2014.1498
32. Ernst CM, Peschel A. Broad-spectrum antimicrobial peptide resistance by MprF-mediated aminoacylation and flipping of phospholipids. *Mol Microbiol*. 2011; 80(2): 290-299. doi: 10.1111/j.1365-2958.2011.07576.x
33. Geiger O, González-Silva N, López-Lara IM, Sohlenkamp C. Amino acid-containing membrane lipids in bacteria. *Prog Lipid Res*. 2010; 49(1): 46-60. doi: 10.1016/j.plipres.2009.08.002
34. Peschel A, Jack RW, Otto M, Collins LV, Staubitz P, Nicholson G, et al. *Staphylococcus aureus* resistance to human defensins and evasion of neutrophil killing via the novel virulence factor MprF is based on modification of membrane lipids with L-lysine. *J Exp Med*. 2001; 193(9): 1067-1076. doi: 10.1084/jem.193.9.1067
35. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, Patel JB. Comparison of detection methods for heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, with the population analysis profile method as the reference method. *J Clin Microbiol*. 2011; 49(1): 177-183. doi: 10.1128/JCM.01128-10
36. Sieradzki K, Villari P, Tomasz A. Decreased susceptibilities to teicoplanin and vancomycin among coagulase-negative methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998; 42(1): 100-107. doi: 10.1128/AAC.42.1.100
37. Walsh TR, Bolmstrom A, Qvarnstrom A, Ho P, Wootton M, Howe RA, et al. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(7): 2439-2444. doi: 10.1128/JCM.39.7.2439-2444.2001
38. Lulitanond A, Chanawong A, Sribenjalux P, Kaewkes W, Vorachit M, Chongtrakool P, et al. Detection of heterogeneous, intermediate-vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (hVISA) using low-concentration vancomycin disks. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006; 37(4): 761-767.
39. Cafiso V, Bertuccio T, Spina D, Purrello S, Campanile F, Di Pietro C, et al. Modulating activity of vancomycin and daptomycin on the expression of autolysis cell-wall turnover and membrane charge genes in hVISA and VISA strains. *PLoS One*. 2012; 7(1): e29573. doi: 10.1371/journal.pone.0029573

Сведения об авторах

Кононова Людмила Ивановна – ведущий инженер лаборатории биохимии развития микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: kononova_l@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5056-8177>

Лемкина Лариса Марковна – старший научный сотрудник лаборатории биохимии развития микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: l.lemkina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8473-771X>

Коробов Владимир Павлович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры химии и биотехнологии, ФGAOY BO «Пермский национальный исследовательский политехнический университет»; заведующий лабораторией биохимии развития микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: korobov@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3475-8285>

Information about the authors

Lyudmila I. Kononova – Leading Engineer at the Laboratory of Biochemistry of Microbial Development, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: kononova_l@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5056-8177>

Larisa M. Lemkina – Senior Research Officer at the Laboratory of Biochemistry of Microbial Development, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: l.lemkina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8473-771X>

Vladimir P. Korobov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University; Head of the Laboratory of Biochemistry of the Development of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: korobov@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3475-8285>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРИЧИН ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ ВСПЫШКИ, ВЫЗВАВШЕЙ МАССОВУЮ ГИБЕЛЬ ТУПИКОВ-НОСОГОВ НА ПОБЕРЕЖЬЕ ЯПОНСКОГО МОРЯ В ЮЖНОЙ ЧАСТИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ (ИЮЛЬ 2021 г.)

Дунаева М.Н.^{1, 2, 3},
Панкратов Д.В.²,
Суровый А.Л.⁴,
Цыганков В.Ю.³,
Беланов М.А.³,
Фоменко П.В.⁵,
Щелканов М.Ю.^{1, 2, 3, 6}

¹ ФГБУН «Федеральный научный центр биологического разнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН (690022, г. Владивосток, просп. 100-летия Владивостоку, 159/1, Россия)

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1, Россия)

³ ФГАУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (690922, г. Владивосток, остров Русский, п. Аякс, 10, Россия)

⁴ Управление по охране объектов животного мира и особо охраняемых природных территорий, Правительство Приморского края (690090, г. Владивосток, ул. Алеутская, 45, Россия)

⁵ Амурский филиал Всемирного фонда дикой природы (690003, г. Владивосток, ул. Верхнепортовая, 18А, Россия)

⁶ ФГБУН «Национальный научный Центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН (690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дунаева Мария Николаевна,
e-mail: mariadunaeva29@yandex.ru

Статья получена: 15.03.2022

Статья принята: 16.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

РЕЗЮМЕ

Введение. В июле 2021 г. на побережье Японского моря в Хасанском районе Приморского края произошёл массовый падеж морских птиц неясной этиологии. По данным управления по охране объектов животного мира и особо охраняемых природных территорий Приморского края, на побережье было обнаружено свыше тысячи погибших птиц. Основной падеж пришёлся на популяцию птиц Тупик-носорог сем. Чистиковые (*Cerorhinca monocerata*, *Alcidae*), также среди погибших птиц были найдены несколько десятков чаек (*Larus spp.*) и крачек (*Sterna spp.*), единичные особи других видов. Пик смертности в популяциях птиц пришёлся на даты 13–17.07.2021. Указанная территория является рекреационной зоной, в летние месяцы здесь отдыхает большое количество людей. Сложившаяся ситуация вызвала повышенное внимание всего научного сообщества, а также организаций, осуществляющих охрану здоровья граждан и окружающей среды.

Цель исследования: установить возможную этиологию эпизоотической вспышки и охарактеризовать причину гибели птиц.

Материалы и методы. Применялось комплексное обследование с использованием классических методов вирусологии, микробиологии и токсикологии, а также самых современных методов исследований, таких как MALDI TOF-масс-спектрометрия и NGS.

Заключение. В результате проведённых исследований было определено, что причиной гибели птиц явился инфекционный перитонит с синдромом эндогенной интоксикации, вызванный комплексом патогенных микроорганизмов, таких как энтеропатогенная *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, *Enterococcus faecalis* и *Wickerhamomyces anomalus*, родственный *Candida pelliculosa*.

Ключевые слова: болезни птиц, *Cerorhinca monocerata*, эпизоотия, *Escherichia coli*, энтеробактериальные инфекционные заболевания, коинфекция, бактериальные инфекции, хлорорганические соединения, циркулирует гусей (GoCV), дикая природа, Японское море, Приморский край

Для цитирования: Дунаева М.Н., Панкратов Д.В., Суровый А.Л., Цыганков В.Ю., Беланов М.А., Фоменко П.В., Щелканов М.Ю. Выявление причин эпизоотической вспышки, вызвавшей массовую гибель тупиков-носорогов на побережье Японского моря в южной части Приморского края (июль 2021 г.). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 90-97. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.10

RECONSTRUCTION OF EPIZOOTIC OUTBREAK PROVOKED THE LARGE-SCALE DEATH OF RHINOCEROS AUKLET ON THE COAST OF THE JAPAN SEA IN THE SOUTHERN PART OF PRIMORSKY KRAI (JULY, 2021)

Dunaeva M.N.^{1, 2, 3},
Pankratov D.V.²,
Surovyi A.L.⁴,
Tsygankov V.Yu.³,
Belanov M.A.³,
Fomenko P.V.⁵,
Shchelkanov M.Yu.^{1, 2, 3, 6}

¹ Federal Scientific Center
of the East Asia Terrestrial Biodiversity,
Far Eastern Branch of Russian Academy
of Sciences (Stoletiya Vladivostoku ave.
159/1, Vladivostok 690022,
Russian Federation)

² Scientific Research Institute
of Epidemiology and Microbiology
named after G.P. Somov
of Rospotrebnadzor (Selskaya str. 1,
Vladivostok 690087,
Russian Federation)

³ Far Eastern Federal University
(Ajaks settlement 10, Russky island,
Vladivostok 690922,
Russian Federation)

⁴ Department for Protection of Wildlife
and Specially Protected Natural
Territories, Government of Primorsky
Krai (Aleutskaya str. 45A, Vladivostok
690090, Russian Federation)

⁵ Amur Branch of the World Wildlife
Fund (Verkhneportovaya str. 18A,
Vladivostok 690003,
Russian Federation)

⁶ A.V. Zhirmunsky National Scientific
Center of Marine Biology, Far Eastern
Branch of Russian Academy of Sciences
(Palchevskogo str. 17, Vladivostok
690041, Russian Federation)

Corresponding author:

Maria N. Dunaeva,

e-mail: mariadunaeva29@yandex.ru

Received: 15.03.2022

Accepted: 16.05.2022

Published: 05.07.2022

ABSTRACT

Introduction. In July 2021, a mass mortality of seabirds of unclear etiology occurred on the coast of the Sea of Japan in the Khasansky district of Primorsky Krai. According to the Department for Protection of Wildlife and Specially Protected Natural Territories of Primorsky Krai, over a thousand dead birds were found on the coast. The main case occurred in the population of birds Rhinoceros auklets (*Cerorhinca monocerata*, Alcidae), also among the dead birds were found several dozens of gulls (*Larus spp.*) and terns (*Sterna spp.*), single individuals of other species. The peak of mortality in bird populations occurred on July 13–17, 2021. This territory is a recreational area, in the summer months a large number of people rest there. The current situation has caused increased attention of the entire scientific community, as well as organizations that protect the citizens health and the environment.

The aim. To establish possible etiology of the epizootic outbreak and describe the cause of birds' death.

Materials and methods. Comprehensive examination using classical methods of virology, microbiology and toxicology, as well as the most modern research methods such as MALDI TOF-mass spectrometry and NGS.

Conclusion. As a result of the studies, it was determined that the cause of birds' death was infectious peritonitis with endogenous intoxication syndrome induced by a complex of pathogenic microorganisms, such as enteropathogenic *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, *Enterococcus faecalis* and *Wickerhamomyces anomalus*, related to *Candida pelliculosa*.

Key words: avian diseases, *Cerorhinca monocerata*, epizootic, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* infectious diseases, coinfection, bacterial infections, organochlorine compounds, goose circovirus (GoCV), wildlife, Sea of Japan, Primorsky Krai

For citation: Dunaeva M.N., Pankratov D.V., Surovyi A.L., Tsygankov V.Yu., Belanov M.A., Fomenko P.V., Shchelkanov M.Yu. Reconstruction of epizootic outbreak provoked the large-scale death of Rhinoceros auklet on the coast of the Japan Sea in the Southern part of Primorsky Krai (July, 2021). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 90-97. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.10

ВВЕДЕНИЕ

Детерминанты здоровья для каждого биологического уровня организации определяются безопасностью окружающей среды, в которой они обитают. Среда обитания едина для сообщества людей, флоры и фауны. Изменения, которые в ней происходят, влияют на многие уровни организации живых систем и не могут быть разграничены. Биологические системы функционируют согласно концепции «Единого или общего для всех здоровья», то есть не изолированно, а в прямой зависимости, создавая общие условия обитания друг для друга, что обуславливает целостность и сбалансированность биогеоценозов. Любые отклонения от сложившихся годами и десятилетиями характеристик окружающей среды приводят к внезапным нарушениям в функционировании таких сбалансированных систем, подобные изменения чаще всего служат причиной гибели разных уровней организаций в сформировавшейся системе. Согласно концепции «Единого здоровья» птицы и животные в дикой природе могут служить системами раннего предупреждения потенциальных заболеваний человека [1–10].

Причины и следствия нарушений экологического равновесия часто наблюдаются в дикой природе. В случаях, когда фактором таких изменений служит инфекционный патоген, рассматриваются всевозможные варианты происхождения инфекции, и проводятся меры по предотвращению её распространения.

13 июля 2021 г. на побережье Японского моря на юге Хасанского района Приморского края была зафиксирована массовая гибель тупиков-носорогов (*Cerorhinca monocerata*). По данным департамента лесного и охотничьего хозяйства Приморского края, в период 13–17.07.2021 было выявлено более тысячи погибших особей указанного вида, а также несколько десятков чаек (*Larus spp.*) и крачек (*Sterna spp.*).

Подобные эпизоотические вспышки представляют собой чрезвычайные ситуации экологического характера, которые могут быть следствием как антропогенных факторов, так и других экологических факторов, вызывающих изменения окружающей среды [1–3, 11–13]. Экстремальные погодные явления, такие как увеличение среднемесячных температур, изменение уровня осадков в эпизоотических очагах и примыкающих к ним территориях могут вызывать многочисленные преобразования биоценологических связей и модулировать популяционные взаимодействия патогенов и их хозяев [11–15]. Расшифровка эпизоотий является обязательным элементом исключения последствий подобных ситуаций и организации охранных мероприятий [4–6, 15, 16].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить возможные этиологические агенты эпизоотии и причину гибели птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В лабораторию были доставлены с сохранением холодовой цепочки (4 °C) 31 тушка погибших тупиков-носорогов, у которых были отобраны клоакальные смывы и пулы внутренних органов (мозг, печень, селезёнка, сгусток крови), а также мышцы, перья и печень по отдельности, проведено вскрытие кишечника и желудка на обнаружение гельминтных инвазий [17, 18].

Токсикологическое исследование грудных мышц, перьев и печени проводили с целью определения содержания стойких органических загрязняющих веществ (СОЗ): хлорорганических пестицидов (ХОП) и полихлорированных бифенилов (ПХБ) в биоматериале на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GC MS-QP 2010 Ultra (Япония). В исследованных образцах определяли: α -, β - и γ -гексахлорциклогексан (ГХЦГ), p,p' -дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), o,p' -ДДТ, p,p' -ДДД, o,p' -ДДД, p,p' -дихлордифенилдихлорэтилен (ДДЕ), o,p' -ДДЕ и конгенеры ПХБ-28, -52, -101, -118, -153, -138, -180 [19].

Клоакальные смывы исследовали на наличие вирусов методом инокуляции в 9-дневные куриные эмбрионы, пулы внутренних органов – методом NGS-секвенирования. Также было проведено ПЦР-исследование на высокопатогенные вирусы птиц, такие как грипп А, болезнь Ньюкасла, а также пастереллёз (наборы ВНИИЗЖ, Россия).

Бактериологическое исследование было проведено путём посевов собранного материала на дифференциально-диагностические среды: мясопептонный агар, кровяной агар, Эндо, Сабуро и Чапека [16, 20, 21]: выросшие в течение 24 ч колонии при температуре 37 °C были исследованы методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на анализаторе MALDI Biotyper (Bruker, Германия) [22]. Патогенетическое типирование *Escherichia coli* осуществляли с помощью ПЦР-тест-системы «АмплиСенс Эшерихиозы-FL» (ЦНИИЭ, Россия) [23–30].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основными версиями столь массовой гибели птиц были токсическое отравление либо заражение патогенными микроорганизмами. Для целей выявления причин гибели собранный материал обследовали согласно этим версиям с использованием методов токсикологии, вирусологии и бактериологии.

В результате первичного осмотра погибших птиц вокруг анальных отверстий были обнаружены остатки жидких и кашицеобразных испражнений. Вскрытие показало, что кишечника птиц полностью опорожнены, остатков пищи не обнаружено. Гельминты не обнаружены. Кровь в крупных кровеносных сосудах по всей их длине была в виде плотных сгустков.

Токсикологическое исследование выявило стойкие органические загрязняющие вещества во всех исследованных образцах. Однако обнаруженные концентрации СОЗ (Σ ХОП + Σ ПХБ) в птицах не могли стать

причиной гибели: концентрации данных соединений были ниже или на уровне концентраций, обнаруженных во время ранее проведённых исследований в этом районе [19], что указывает на существование глобального фона CO₂ и циркуляцию поллютантов в морских экосистемах.

Первоначально во время вспышки при помощи метода ПЦР, где в качестве образцов служили клоакальные смывы, были исключены высокопатогенные вирусы птиц, такие как грипп А, болезнь Ньюкасла, а также исключён пастереллёз.

При вирусологическом исследовании на инокулированных куриных эмбрионах гемагглютинирующие агенты в хорион-аллантоисной жидкости выявлены не были. С помощью NGS в 10 (32,3 %) пробах обнаружен циркулярный вирус гусей (GoCV – Goose circovirus) (Circovirales: Circoviridae, *Circovirus*). Цирковирусы птиц вызывают снижение иммунитета, нарушение кожных покровов, оперения, клюва, когтей, и не описаны в качестве причины массовой гибели хозяев [1, 9]. Поэтому GoCV можно исключить из списка возможных этиологических факторов массового падежа тупиков-носорогов.

Микробиологический анализ с использованием методов MALDI-TOF показал наличие патогенной *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *P. penneri*, *P. mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Wickerhamomyces anomalus* (*Candida pelliculosa*).

ПЦР-детекция является одним из важнейших доказательных методов обнаружения патогенов, которые мы использовали в своей работе для верификации обнаруженной инфекции. ПЦР-типирование выявило принадлежность *E. coli* к энтеропатогенному типу. Метод выделения чистых культур с дальнейшим пассажем на кровяной агар выявил способность выделенной *Escherichia coli* к гемолизу в 35 % случаев.

Энтеропатогенные *E. coli* – грамотрицательные палочковидные бактерии сем. *Enterobacteriaceae*, которые вызывают желудочно-кишечные инфекции с диарейным синдромом и сопутствующим токсическим поражением внутренних органов и способны привести к массовой гибели птиц. Основные пути заражения – алиментарный, аэрогенный, а также трансовариальный путь. В ослабленном организме *E. coli* размножается быстро, вызывая септические проявления при попадании в кровь и лимфу. Поражение кишечника происходит алиментарным путём. При остром течении колибактериозов в условиях сельскохозяйственных предприятий наблюдается высокая смертность птиц (10–30 %) [9, 20, 26–30]. Условия дикой природы в указанном случае являются осложняющими факторами и могут способствовать высокой смертности в силу сложности обеспечения необходимых требований для выздоровления.

Многими авторами показано, что колибактериозы часто являются вторичными инфекциями, способными приводить к смертельному исходу в случае возникновения причин, обусловивших снижение иммунитета. Такими причинами могут служить загрязнение воды и пищи химическими веществами, бактериальными или вирусными патогенами [1–4, 8–15, 19, 20, 26–31].

Взрослые животные и птицы способны самостоятельно восстанавливаться после заражения патогенными эшерихиями в том случае, когда они проиммунизированы, а также есть доступ к чистой воде и пище. Эшерихиозы или колибактериозы представляют серьёзную проблему для сельскохозяйственных птиц, хотя их роль в заболеваемости и смертности диких птиц изучена недостаточно.

P. vulgaris, *P. penneri*, *P. mirabilis* – грамотрицательные подвижные палочковидные бактерии сем. *Enterobacteriaceae*, являющиеся причиной гнойно-воспалительных заболеваний и пищевых токсикоинфекций и выделяющие эндотоксины с гемолитическими свойствами.

En. faecalis – грамположительные кокковидные бактерии в виде цепочек или отдельных скоплений сем. *Enterococcaceae*, их чаще относят к представителям нормальной бактериальной флоры кишечника, но они способны приводить к патологическим состояниям при увеличении их числа.

W. anomalus (*Candida pelliculosa*) – широко распространённый в дикой природе грибковый патоген, способный вызывать системные грибковые заболевания при явлениях иммуносупрессии.

Все выявленные возбудители имеют фекально-оральный механизм передачи, что предполагает заражение воды или пищи данными патогенными микроорганизмами [3, 9, 20, 26–30]. Микроорганизмы способны жить в смешанных микробных сообществах, устанавливая между собой межвидовые конкурентные или симбиотические отношения [32]. По-видимому, сочетание указанных видов патогенной и условно-патогенной флоры вызвали острое поражение желудочно-кишечного тракта птиц с последующей их гибелью. Выявленные специфические микробные комплексы наблюдались у всех павших птиц. Наиболее вероятным фактором инфекционного заражения является употребление заражённой пищи. Результатом подобных выводов помимо лабораторных исследований служат факты присутствия следов диареи и рвотных масс на теле погибших птиц, полное опорожнение и обсеменение желудочно-кишечного тракта птиц патогенными микроорганизмами, а также длительность вспышки эпизоотии (порядка двух недель).

В указанный период времени, а также в течение всего летнего периода, на исследуемой территории более не наблюдалось вынесенных морем погибших животных и птиц. Территория акватории Японского моря Приморского края является зоной постоянного экологического контроля: надзор содержания токсических веществ и патогенных микроорганизмов в морской воде, а также в организмах морской флоры и фауны ведётся регулярно. Предполагаемая изначально причина отравления токсическими веществами была отклонена по причинам отсутствия повышения концентраций контролируемых CO₂, а также отсутствия признаков отравления других водных животных на наблюдаемой территории.

Необходимо отметить, что летний период 2021 г. отличался повышенными температурами на всей территории края, пик которых пришёлся на середину июля 2021 г., когда произошёл случай массовой гибели птиц.

Вероятно, повышение температуры вызвало размножение патогенных бактерий в ареале обитания.

Escherichia coli является серьёзной угрозой как для здоровья животных, так и здоровья людей. Бактерия поражает птиц всех видов, имеет важное инфекционное значение в птицеводстве. Данный патоген обладает высокой способностью проникать во внутренние органы, ослабленный организм является более подверженным развитию данной инфекции. Инкубационный период эшерихиозных инфекций составляет от 1 до 5 дней, что соответствует началу и окончанию периода вспышки данного заболевания в указанном очаге. В инфекционном процессе у больных эшерихиозом птиц часто наблюдается присоединение оппортунистических инфекций, таких как *Proteus*, *Enterococcus*, *Candida*, что мы наблюдали в образцах каждой погибшей птицы. Характер поражения внутренних органов соответствует картине бактериального инфекционного заболевания с признаками генерализации процесса и симптомами септического шока, что определило выбор методического подхода для установки и подтверждения диагноза.

В рамках наших исследований проводятся дальнейшие изучения возбудителей данной эпизоотической вспышки диких птиц на указанной территории.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что причиной гибели птиц явился инфекционный перитонит с синдромом эндогенной интоксикации и полиорганной недостаточностью, вызванный комплексом патогенных микроорганизмов: энтеропатогенными вариантами *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, *En. faecalis* и *W. anomalus* (*Candida pelliculosa*).

Данное исследование является одним из элементов планового комплексного эколого-микробиологического мониторинга, осуществляемого НИИЭМ Г.П. Сомова Роспотребнадзора (г. Владивосток), сочетающего классические вирусологические, бактериологические, паразитологические и токсикологические методы, а также современные молекулярно-генетические технологии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К. (ред.). *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013.
2. Львов Д.К. (ред.). *Медицинская вирусология*. М.: МИА; 2008.
3. Андрюков Б.Г., Беседнова Н.Н., Калинин А.В., Запорожец Т.С., Котельников В.Н., Крыжановский С.П., и др. *Биологическая и химическая безопасность*. Владивосток: Дальнаука; 2019.
4. Щелканов М.Ю., Галкина И.В., Ананьев В.Ю., Самарский С.С., Лиенхо В.Ю., Дедков В.Г., и др. Экологическая обстановка на о. Тюлений в акватории Охотского моря (2015 г.):

популяционные взаимодействия между ластоногими, птицами, иксодовыми клещами и вирусами. *Юг России: экология, развитие*. 2017; 12(1): 30-43. doi: 10.18470/1992-1098-2017-1-30-43

5. Львов Д.К., Прилипов А.Г., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Шилов А.А., Гребенникова Т.В., и др. Молекулярно-генетический анализ биологических свойств высокопатогенных штаммов вируса гриппа А / H5N1, изолированных от диких и домашних птиц в период эпизоотии в Западной Сибири (июль 2005 г.). *Вопросы вирусологии*. 2006; 51(2): 15-19.

6. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Прилипов А.Г., Дерябин П.Г., Федякина И.Т., Галкина И.В., и др. Расшифровка эпизоотической вспышки среди диких и домашних птиц на юге европейской части России в декабре 2007 г. *Вопросы вирусологии*. 2008; 53(4): 18-23.

7. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., и др. Изоляция высокопатогенных (HPAI) штаммов вируса гриппа А/H5N1 от диких птиц в очаге эпизоотии на озере Убсу-Нур (июнь 2006 г.) и их депонирование в Государственную Коллекцию вирусов РФ (03 июля 2006 г.). *Вопросы вирусологии*. 2006; 51(6): 14-18.

8. Kelly TR, Machalaba C, Karesh WB, Crook PZ, Gilardi K, Nziza J, et al. Implementing One Health approaches to confront emerging and re-emerging zoonotic disease threats: Lessons from predict. *One Health Outlook*. 2020; 2: 1. doi: 10.1186/s42522-019-0007-9

9. Кузьмин В.А., Святковский А.В. (ред.). *Эпизоотология с микробиологией*. СПб.: Лань; 2019.

10. Lvov DK, Shchelkanov MYu, Alkhovsky SV, Deryabin PG. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology*. Academic Press; 2015.

11. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л. Влияние климатических факторов на циркуляцию природноочаговых вирусных инфекций в Северной Евразии. *Изменение климата и здоровье населения России в XXI веке: Сборник трудов международного семинара (Москва, 5–6 апреля 2004 г.)*. М.: АдамантЪ; 2004: 84-105.

12. Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л., Львов Д.К. Роль эколого-вирусологического районирования в прогнозировании влияния климатических изменений на ареалы арбовирусов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2006; 2: 22-24.

13. Щелканов М.Ю., Усачев Е.В., Федякина И.Т., Киреев Д.Е., Ананьев В.Ю., Санков М.Н., и др. Вирус болезни Ньюкасла в популяциях диких птиц на территории юга Приморского края в период осенних миграций 2001-2004 гг. *Вопросы вирусологии*. 2006; 51(4): 37-41.

14. Разумова Ю.В., Щелканов М.Ю., Дурыманова А.А., Золотых С.И., Терновой В.А., Славский А.А., и др. Молекулярно-генетическое разнообразие вируса гриппа А в популяциях диких птиц на юге Западной Сибири. *Вопросы вирусологии*. 2005; 50(4): 31-35.

15. Кононова Ю.В., Терновой В.А., Щелканов М.Ю., Протопопова Е.В., Золотых С.И., Юрлов А.К., и др. Генотипирование вируса Западного Нила в популяциях диких птиц наземного и древесно-кустарникового комплексов на территориях Барабинской лесостепи и Кулундинской степи (2003–2004 гг.). *Вопросы вирусологии*. 2006; 51(4): 19-23.

16. Дунаева М.Н., Панкратов Д.В., Раков А.В., Суровый А.Л., Щелканов М.Ю. Сочетание вирусологических и бактериологи-

ческих методов в процессе мониторинга патогенных микроорганизмов в популяциях мигрирующих птиц. *Актуальные вопросы обеспечения эпидемиологического благополучия в трансграничных природных очагах чумы и других опасных инфекционных болезней: Материалы XV Межгосударственной научно-практической конференции (Иркутск, 5–6 октября 2021 г.)*. Иркутск; 2021: 97–99.

17. Боряева Ю.А., Родин В.Н. *Вскрытие и патологоанатомическая диагностика болезней животных и птиц*. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та; 2020.

18. *Методические указания по патоморфологической диагностике болезней животных, птиц и рыб в ветеринарных лабораториях* N 13-7-2/2137. Приказ департамента ветеринарии Минсельхозпрода России от 11.09.2000. М.: Минсельхозпрод РФ; 2000.

19. Tsygankov VYu, Lukyanova ON, Boyarova MD. Organochlorine pesticide accumulation in seabirds and marine mammals from the Northwest Pacific. *Mar Pollut Bull.* 2018; 128: 208–213. doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.01.027

20. Новикова О.Б., Павлова М.А. Микрофлора, выделяемая в птицеводствах различного технологического направления и контроль бактериальных болезней птиц. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2018; 3: 34–36.

21. Покровский В.И., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. (ред.). *Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник*. М.: БИНОМ; 2013.

22. Попов Д.А., Овсеев С.Т., Вострикова Т.Ю. Применение метода MALDI-TOF MS в современной микробиологической лаборатории. *Поликлиника*. 2016; 8: 53–56.

23. Карцев Н.Н., Ершова М.Г., Пинчук А.С., Леонова Е.С., Абросимова Г.Н., Фурсова Н.К., и др. Выделение диареогенных эшерихий от детей в возрасте до 5 лет. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(3): 38.

24. Соколова Е.Д., Галтаева А.М., Замурий О.Ю., Дидиченко О.В., Соколова Ю.В., Муратова В.А., и др. Полимеразная цепная реакция в диагностике острых кишечных инфекций в детском инфекционном стационаре: возможности и проблемы. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(3): 225–231.

25. Коновалова Т.А., Бондарева А.В., Подколзин А.Т., Костенко Е.М., Хорошилова Т.В., Юдицкая Н.М. Результаты применения методов амплификации нуклеиновых кислот для выявления диарогенных *E. coli*. *Молекулярная диагностика – 2010: Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. М.; 2010; 2: 348–350.

26. Курятова Е.В., Герасимова М.В., Тюкавкина О.Н., Гаврилов Ю.А., Гаврилова Г.А. Этиология возникновения гастроэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных в условиях Амурской области. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2018; 1(45): 60–66. doi: 10.24411/1999-6837-2018-11010

27. Счисленко С.А., Ковальчук Н.М. Этиологическая структура возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ) птиц в птицеводческих хозяйствах Красноярского края. *Вестник КрасГАУ*. 2010; 8(47): 94–97.

28. Hu J, Torres AG. Enteropathogenic *Escherichia coli*: Foe or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21(8): 729–734. doi: 10.1016/j.cmi.2015.01.015

29. Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet Res.* 1999; 30(2–3): 299–316.

30. Kathayat D, Lokesh D, Ranjit S, Rajashekara G. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC): An overview of virulence and pathogenesis factors, zoonotic potential, and control strategies. *Pathogens.* 2021; 10(4): 467. doi: 10.3390/pathogens10040467

31. Шилов Г.Ю., Смирнова Е.А. Анализ заболеваемости острыми кишечными инфекциями в Российской Федерации, США и странах Евросоюза. *Пищевая промышленность*. 2013; 10: 50–54.

32. Яковлев А.А., Раков А.В., Поздеева Е.С. Значение межвидовых и внутривидовых взаимодействий микроорганизмов как суборганизменного уровня в иерархии эпидемического процесса. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2020; 25(3): 118–128. doi: 10.17816/EID50013

REFERENCES

1. Lvov DK (ed.). *Virology guide. Viruses and viral infections of humans and animals*. Moscow: MIA Publishing House; 2013. (In Russ.).

2. Lvov DK (ed.). *Medical virology*. Moscow: MIA Publishing House; 2008. (In Russ.).

3. Andryukov BG, Besednova NN, Kalinin AV, Zaporozhets TS, Kotelnikov VN, Kryzhanovskiy SP, et al. *Biological and Chemical Safety*. Vladivostok: Dalnauka Publishing House; 2019. (In Russ.).

4. Shchelkanov MYu, Galkina IV, Ananiev VYu, Samarskiy SS, Lienkho VYu, Dedkov VG, et al. Ecological situation on the Tyuleniy Island in the Okhotsk Sea (2015): Population interactions between pinnipeds, birds, ixodid ticks and viruses. *South of Russia: Ecology, Development.* 2017; 12(1): 30–43. (In Russ.). doi: 10.18470/1992-1098-2017-1-30-43

5. Lvov DK, Prilipov AG, Shchelkanov MYu, Deryabin PG, Shilov AA, Grebennikova TV, et al. Molecular genetic analysis of the biological properties of highly pathogenic influenza A / H5N1 virus strains isolated from wild and domestic birds during an epizootic in Western Siberia (July 2005). *Problems of Virology.* 2006; 51(2): 15–19. (In Russ.).

6. Lvov DK, Shchelkanov MYu, Prilipov AG, Deryabin PG, Fedyakina IT, Galkina IV, et al. Reconstruction of the epizootic outbreak among wild and domestic birds in the south of the European part of Russia in December 2007. *Problems of Virology.* 2008; 53(4): 18–23. (In Russ.).

7. Lvov DK, Shchelkanov MYu, Deryabin PG, Fedyakina IT, Burtseva EI, Prilipov AG, et al. Isolation of highly pathogenic (HPAI) strains of A/H5N1 influenza virus from wild birds in the focus of epizootic on Lake Ubsu-Nur (June 2006) and their deposition in the State Collection of Viruses of the Russian Federation (July 03, 2006). *Problems of Virology.* 2006; 51(6): 14–18. (In Russ.).

8. Kelly TR, Machalaba C, Karesh WB, Crook PZ, Gilardi K, Nziza J, et al. Implementing One Health approaches to confront emerging and re-emerging zoonotic disease threats: Lessons from predict. *One Health Outlook.* 2020; 2: 1. doi: 10.1186/s42522-019-0007-9

9. Kuzmin VA, Svyatkovsky AV (eds). *Epizootology with microbiology*. Saint Petersburg: Lan' Publishing House; 2019. (In Russ.).

10. Lvov DK, Shchelkanov MYu, Alkhovsky SV, Deryabin PG. *Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and ecology*. Academic Press; 2015.

11. Lvov DK, Shchelkanov MYu, Gromashevskiy VL. Influence of climatic factors on the circulation of natural focal viral infections

in Northern Eurasia. *Izmenenie klimata i zdorov'e naseleniya Rossii v XXI veke: Sbornik trudov mezhdunarodnogo seminara (Moskva, 5–6 aprelya 2004 g.)*. Moscow: Adamant Publishing House; 2004: 84–105. (In Russ.).

12. Shchelkanov MYu, Gromashevskiy VL, Lvov D.K. The role of ecological-virological zoning in predicting the impact of climate change on the ranges of arboviruses. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2006; 2: 22–24. (In Russ.).

13. Shchelkanov MYu, Usachev EV, Fedyakina IT, Kireev DE, Ananiev VYu, Sankov MN, et al. Newcastle disease virus in populations of wild birds in the south of Primorsky Krai during autumn migrations of 2001–2004. *Problems of Virology*. 2006; 51(4): 37–41. (In Russ.).

14. Razumova YuV, Shchelkanov MYu, Durymanova AA, Zolotykh SI, Ternovoy VA, Slavskiy AA, et al. Molecular and genetic diversity of influenza A virus in wild bird populations in the south of Western Siberia. *Problems of Virology*. 2005; 50(4): 31–35. (In Russ.).

15. Kononova YuV, Ternovoy VA, Shchelkanov MYu, Protopopova EV, Zolotykh SI, Yurlov AK, et al. Genotyping of the West Nile virus in the populations of wild birds of the ground and tree-shrub complexes in the territories of the Baraba forest-steppe and the Kulunda steppe (2003–2004). *Problems of Virology*. 2006; 51(4): 19–23. (In Russ.).

16. Dunaeva MN, Pankratov DV, Rakov AV, Surovyy AL, Shchelkanov MYu. Combination of virological and bacteriological methods in the process of pathogenic microorganisms monitoring in populations of migratory birds. *Aktual'nye voprosy obespecheniya epidemiologicheskogo blagopoluchiya v transgranichnykh prirodnykh ochagakh chumy i drugikh opasnykh infektsionnykh bolezney: Materialy XV Mezhsudarstvennoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (Irkutsk, 5–6 oktyabrya 2021 g.)*. Irkutsk: 2021; 97–99. (In Russ.).

17. Boryaeva YuA, Rodin VN. *Autopsy and pathoanatomical diagnosis of diseases of animals and birds: Textbook*. Saransk: Publishing House of Mordovsky University; 2020. (In Russ.).

18. *Guidelines for the pathomorphological diagnosis of animals, birds' and fish diseases in veterinary laboratories, № 13-7-2 / 2137. Order of the Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of Russia, dated 11.09.00*. Moscow; 2000. (In Russ.).

19. Tsygankov VYu, Lukyanova ON, Boyarova MD. Organochlorine pesticide accumulation in seabirds and marine mammals from the Northwest Pacific. *Mar Pollut Bull*. 2018; 128: 208–213. doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.01.027

20. Novikova OB, Pavlova MA. Microflora isolated in poultry farms of various technological directions and control of bacterial birds' diseases. *Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2018; 3: 34–36. (In Russ.).

21. Pokrovsky VI, Tvorogova MG, Shipulin GA (eds). *Laboratory diagnostics of infectious diseases. Guideline*. Ed. BI Pokrovsky et al. Moscow: BINOM Publishing House; 2013. (In Russ.).

22. Popov DA, Ovseenko ST, Vostrikova TYu. Application of the MALDI-TOF MS method in a modern microbiological laboratory. *Poliklinika*. 2016; 8: 53–56 (In Russ.).

23. Kartsev NN, Ershova MG, Pinchuk AS, Leonova ES, Abrosimova GN, Fursova NK, et al. Isolation of diarrheagenic *Escherichia* from children under the age of 5 years. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2016; 6(3): 38. (In Russ.).

24. Sokolova ED, Galtaeva AM, Zamuriy OYu, Didichenko OV, Sokolova YuV, Muratova VA, et al. Polymerase chain reaction in the diagnosis of acute intestinal infections in a children's infectious diseases hospital: opportunities and problems. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2016; 6(3): 225–231. (In Russ.).

25. Konovalova TA, Bondareva AV, Podkolzin AT, Kostenko EM, Khoroshilova TV, Yuditskaya NM. Results of the application of nucleic acid amplification methods for the detection of diarrheagenic *E. coli*. *Molekulyarnaya diagnostika – 2010: Materialy VII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*. Moscow; 2010; 2: 348–350. (In Russ.).

26. Kuryatova EV, Gerasimova MV, Tyukavkina ON, Gavrilov YuA, Gavrilova GA. The etiology of the occurrence of gastroenteritis in young farm animals in the conditions of the Amur Region. *Agricultural Journal in the Far East Federal District*. 2018; 1(45): 60–66. (In Russ.). doi: 10.24411/1999-6837-2018-11010

27. Schislenko SA, Kovalchuk NM. The etiological structure of causative agents of acute intestinal infections (AII) of birds in poultry farms of the Krasnoyarsk Territory. *The Bulletin of KrasGAU*. 2010; 8(47): 94–97. (In Russ.).

28. Hu J, Torres AG. Enteropathogenic *Escherichia coli*: Foe or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect*. 2015; 21(8): 729–734. doi: 10.1016/j.cmi.2015.01.015

29. Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet Res*. 1999; 30(2-3): 299–316.

30. Kathayat D, Lokesh D, Ranjit S, Rajashekara G. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC): An overview of virulence and pathogenesis factors, zoonotic potential, and control strategies. *Pathogens*. 2021; 10(4): 467. doi: 10.3390/pathogens10040467

31. Shilov GYu, Smirnova EA. Analysis of the incidence of acute intestinal infections in the Russian Federation, USA and EU countries. *Food Processing Industry*. 2013; 10: 50–54. (In Russ.).

32. Yakovlev AA, Rakov AV, Pozdeeva ES. The significance of interspecific and intraspecific interactions of microorganisms as a suborganismal level in the hierarchy of the epidemic process. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2020; 25(3): 118–128. (In Russ.). doi: 10.17816/EID50013

Сведения об авторах

Дунаева Мария Николаевна – аспирант и ведущий инженер лаборатории вирусологии, ФГБУН «Федеральный научный центр биологического разнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН; младший научный сотрудник лаборатории зоонозных инфекций, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; преподаватель Школы биомедицины, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», e-mail: mariadunaeva29@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1728-1852>

Панкратов Дмитрий Васильевич – заместитель директора по полевым исследованиям, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, e-mail: pandm08@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0115-5384>

Суровый Алексей Леонидович – первый заместитель министра лесного хозяйства и охраны объектов животного мира Приморского края, Управление по охране объектов животного мира и особо охраняемых природных территорий, Правительство Приморского края, e-mail: asurovyyi@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4022-2738>

Цыганков Василий Юрьевич – кандидат биологических наук, доцент международной кафедры ЮНЕСКО «Морская экология», заместитель директора Института Мирового океана по науке и инновациям, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», e-mail: tsygankov.vyu@dvfu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5095-7260>

Беланов Максим Андреевич – студент международной кафедры ЮНЕСКО «Морская экология» Института Мирового океана, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», e-mail: belanov.ma@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0974-9176>

Фоменко Павел Васильевич – руководитель отдела, Амурский филиал Всемирного фонда дикой природы, e-mail: pfomenko@wwf.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3777-4718>

Щелканов Михаил Юрьевич – доктор биологических наук, директор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; заведующий лабораторией экологии микроорганизмов с Международным научно-образовательным центром биологической безопасности Школы биомедицины, ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»; заведующий лабораторией вирусологии, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологического разнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН; ведущий научный сотрудник лаборатории морских млекопитающих, ФГБНУ «Национальный научный Центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, e-mail: adorob@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Information about the authors

Maria N. Dunaeva – Postgraduate and Leading Engineer at the Laboratory of Virology, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences; Junior Research Officer at the Laboratory of Zoonotic Infections, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov of Rospotrebnadzor; Lecturer at the School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, e-mail: mariadunaeva29@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1728-1852>

Dmitry V. Pankratov – Deputy Director for Field Research, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov of Rospotrebnadzor, e-mail: pandm08@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0115-5384>

Aleksey L. Surovyy – First Deputy Minister, Department for Protection of Wildlife and Specially Protected Natural Territories, Government of Primorsky Krai, e-mail: asurovyy@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4022-2738>

Vasily Yu. Tsygankov – Cand. Sc. (Biol.), Deputy Director of the Institute of the World Ocean for Science and Innovation, Lecturer at the School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, e-mail: tsygankov.vyu@dvfu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5095-7260>

Maxim A. Belanov – Student at the International UNESCO Chair “Marine Ecology” of the Institute of the World Ocean, Far Eastern Federal University, e-mail: belanov.ma@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0974-9176>

Pavel V. Fomenko – Head of the Department, Amur Branch of the World Wildlife Fund, e-mail: pfomenko@wwf.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3777-4718>

Mikhail Yu. Shchelkanov – Dr. Sc. (Biol.), Director, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov of Rospotrebnadzor; Head of the Laboratory of Microbial Ecology with the International Scientific and Educational Center for Biological Safety of the School of Biomedicine, Far Eastern Federal University; Head of the Laboratory of Virology, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences; Leading Research Officer at the Laboratory of Marine Mammals, A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: adorob@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЯЖЕСТИ ВИРУСНОГО БРОНХИОЛИТА У ДЕТЕЙ

Бочкарева Л.С.,
Мироманова Н.А.,
Мироманов А.М.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная
медицинская академия» Минздрава
России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мироманова Наталья Анатольевна,
e-mail: detinf-chita@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Острый вирусный бронхиолит одна из частых причин госпитализации и смертности, особенно среди детей первого года жизни, имеющих факторы риска (недоношенность, врождённые пороки сердца, бронхолёгочная дисплазия, иммуносупрессия). В качестве факторов, ассоциированных с тяжестью бронхиолита, наряду с традиционными, могут рассматриваться однонуклеотидные полиморфизмы генов молекул иммунного ответа.

Цель исследования. На основе анализа клинико-лабораторных и молекулярно-генетических параметров выявить прогностические критерии тяжёлого острого вирусного бронхиолита у детей.

Материалы и методы. В исследование включено 106 детей с острым вирусным бронхиолитом (тяжёлой степени – 34, нетяжёлой степени – 72), этиологией которого в 67,9% явился респираторно-синцитиальный вирус. В качестве прогностических критериев оценивалось 47 анамнестических, клинических, традиционных лабораторных и молекулярно-генетических параметров. Определение SNP генов цитокинов IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-592A), IL-10 (C-819T), TNF- α (G-308A), IL-17A (G197A), IL-17F (His161Arg), TLR2-753ArgGln, TLR6-Ser249Pro в венозной крови осуществляли методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. Дополнительным критерием риска развития тяжёлого бронхиолита может служить мутантный генотип (AA) SNP гена IL-10 (C-592A), выявлявшийся исключительно в группе больных тяжёлым бронхиолитом, увеличивая риск развития тяжёлого заболевания в 16,11 раза (ОШ = 16,11; 95% ДИ: 0,81–121,22, $p = 0,02$) в совокупности с уже установленными модифицирующими факторами: наличием врождённого порока сердца, бронхолёгочной дисплазии, недоношенностью, массой тела при рождении < 1500 г. На основании комплексной оценки установленных факторов риска разработан метод, позволяющий рассчитать вероятность развития тяжёлого острого вирусного бронхиолита.

Заключение. Использование разработанного способа прогнозирования позволит не только повысить вероятность развития тяжёлого острого вирусного бронхиолита у детей, но и определить приоритетную группу среди детей с предикторами тяжёлого развития вирусного бронхиолита для первоочередной иммунопрофилактики против РС-вирусной инфекции. Ключевые слова: бронхиолит, тяжесть, факторы риска, дети, полиморфизм, цитокины

Статья получена: 09.11.2021
Статья принята: 29.03.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Бочкарева Л.С., Мироманова Н.А., Мироманов А.М. Прогнозирование тяжести вирусного бронхиолита у детей. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 98-109. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.11

PREDICTING THE SEVERITY OF VIRAL BRONCHIOLITIS IN CHILDREN

**Bochkareva L.S.,
Miromanova N.A.,
Miromanov A.M.**

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39a, Chita 672000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalya A. Miromanova,
e-mail: detinf-chita@mail.ru

ABSTRACT

Acute viral bronchiolitis is one of the common causes of hospitalization and mortality, especially among children in the first year of life who have risk factors (prematurity, congenital heart defects, bronchopulmonary dysplasia, immunosuppression). As factors associated with the severe course of bronchiolitis, along with the traditional ones, single nucleotide polymorphisms of the genes of the immune response molecules can be considered.

The aim. *Based on the analysis of clinical, laboratory and molecular genetic parameters, to identify prognostic criteria for the severe course of acute viral bronchiolitis in children.*

Materials and methods. *The study included 106 children with acute viral bronchiolitis (severe course – 34, mild course – 72), the etiology of which in 67.9 % was respiratory syncytial virus. Forty-seven anamnestic, clinical, traditional laboratory and molecular genetic parameters were assessed as prognostic criteria. Determination of SNP genes of cytokines IL-4 (C-589T), IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-592A), IL-10 (C-819T), TNF- α (G-308A), IL-17A (G197A), IL-17F (His161Arg), TLR2-753ArgGln, TLR6-Ser249Pro in venous blood was carried out by the polymerase chain reaction method.*

Results. *An additional criterion for the risk of developing a severe course of bronchiolitis can be the mutant genotype (AA) SNP of the IL-10 gene (C-592A), which was detected exclusively in the group of patients with severe bronchiolitis, increasing the risk of developing a severe disease by 16.11 times (OR = 16.11; 95 % CI: 0.81–121.22, $p = 0.02$) in conjunction with already established modifying factors: the presence of congenital heart disease, bronchopulmonary dysplasia, prematurity, birth weight < 1500 g. Based on a comprehensive assessment of the established risk factors, a method has been developed that allows calculate the likelihood of developing a severe course of acute viral bronchiolitis.*

Conclusion. *The use of the developed prediction method will not only increase the likelihood of developing severe acute viral bronchiolitis in children, but also determine the priority group among children with predictors of severe viral bronchiolitis for priority immunoprophylaxis against RS-virus infection.*

Key words: bronchiolitis, severity, risk factors, children, polymorphism, cytokine

Received: 09.11.2021
Accepted: 29.03.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Bochkareva L.S., Miromanova N.A., Miromanov A.M. Predicting the severity of viral bronchiolitis in children. *Acta biomedical scientifica*. 2022; 7(3): 98–109. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.11

ВВЕДЕНИЕ

Согласно принятой в России классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей, острый бронхолит (J21) определяется как воспалительное заболевание нижних дыхательных путей с преимущественным поражением мелких бронхов и бронхиол, развивающееся в основном у детей первого года жизни на фоне острых респираторных инфекций [1].

Этиологическим лидером бронхолита является респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус) [2, 3]. Среди детей первых 5 лет жизни ежегодно регистрируется около 34 млн новых случаев инфекций нижних дыхательных путей, вызванных РС-вирусом, при этом 3,4 млн из них требуют госпитализации и до 199 тыс. детей умирают от тяжёлого поражения нижних дыхательных путей, преимущественно в развивающихся странах [4]. В структуре этиологических причин вирусного бронхолита меньшее значение отводится другим респираторным вирусам (риновирусам, метапневмовирусу, вирусам гриппа и парагриппа, аденовирусам, сезонным коронавирусам) [3]. Однако практически у трети младенцев отмечается инфицирование более чем одним респираторным вирусом [5–7].

У большинства детей РС-инфекция протекает в нетяжёлых клинических вариантах и, как правило, не требует госпитализации [8, 9]. Однако, чем младше ребёнок, тем выше вероятность развития тяжёлого течения РС-вирусной инфекции и бронхолит, по-прежнему, считается самой частой причиной госпитализации детей первого года жизни [3, 10].

Однако вероятность развития тяжёлого бронхолита в популяции детей, даже одинакового возраста, неодинакова. К настоящему времени установлено, что вирусный бронхолит обуславливает высокую смертность среди детей раннего возраста (4 на 10 тыс. госпитализированных пациентов первых пяти лет жизни), преимущественно в случае присутствия одного или нескольких факторов, наибольшее значение из которых имеют: недоношенность (рождение на сроке гестации 32 недели и менее), врождённые пороки развития, преимущественно врождённые пороки сердца (ВПС), хронические заболевания лёгких (бронхолегочная дисплазия, БЛД), иммуносупрессивные состояния, увеличивая риск развития тяжёлого течения заболевания и осложнений, в том числе пневмонии [3, 11, 12].

Учитывая разнообразие клинических форм РС-вирусной инфекции, обусловленное прежде всего различиями иммунного реагирования на инфекцию, что в свою очередь может определяться индивидуализацией экспрессии белковых молекул соответствующих генов, в качестве дополнительных прогностических факторов тяжёлого течения вирусного бронхолита могут рассматриваться однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов цитокинов и ряда эффекторных молекул, принимающих участие в иммунном ответе [13–17]. К настоящему моменту удалось установить взаимосвязь аллели интерлейкина (*IL*)-4 -589Т с тяжёлым течением бронхолита, но не во всех этнических группах; полиморфная молекула -1112С гена *IL*-13, промотора -137G/С и -133 C/GIL-18 ассоциирована с тяжё-

лым течением инфекции, а дети гомозиготные по аллели -592С и -592А полиморфизма гена *IL*-10 чаще требовали госпитализации по поводу РС-бронхолита, чем гомозиготные носители [16, 17]. N. Marr et al. (2014) установили связь однонуклеотидных (SNP) полиморфизмов интерлейкина-4 (*IL*-4-590 C/T и -33 C/T) с восприимчивостью к РС-вирусу и тяжестью инфекции [18]. Изменение экспрессии цитокинов макрофагами, активированными респираторными вирусами, при разных промоторных вариантах полиморфизма генов цитокинов выявлено в работах J.A. Patel et al., в которых показано, что повышенная выработка цитокинов наблюдалась при генотипах GC и CC-174 гена *IL*-6, GA и AA -308 гена *TNF-α* в случаях респираторных инфекций, вызванных аденовирусами, вирусами гриппа или РС-вирусом [19]. Кроме того, различные исследования обозначили, что преждевременно рождённые младенцы могут иметь как функциональную, так и генетическую предрасположенность к инфекционным агентам инфекций нижних дыхательных путей, а также последующему развитию хронической обструктивной болезни лёгких, выявив в качестве фактора, предрасполагающего к тяжёлому течению бронхолита, связь SNP-полиморфизмов в гене *IL*-10 [20, 21, 22]. Значительные ассоциации с тяжестью острого вирусного бронхолита в группе бразильских младенцев показали варианты полиморфизма *IL*-8 (rs 2227543) и *IL*-17 (rs2275913) [23]. Однако анализ доступной литературы в области иммуногенетики при РС-инфекции продемонстрировал, что данная проблема разрабатывается без учёта совокупности анамнестических, клинических, лабораторных и молекулярно-генетических факторов, которые могут влиять на точность прогнозирования тяжести заболевания.

В связи с чем, **целью исследования** явилось выявление на основе анализа клинико-лабораторных и молекулярно-генетических параметров прогностических критериев развития тяжёлого острого вирусного бронхолита у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 106 детей с острым вирусным бронхолитом, проходившие стационарное лечение в ГУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» (Забайкальский край) в период с 2018–2019 гг., и 100 здоровых детей обоего пола (возраст $8,2 \pm 2,4$ мес.), составивших группу контроля.

Критериями включения в основную группу исследования явились: наличие клинических признаков острого вирус-индуцированного бронхолита, возраст ребёнка менее 1 года жизни. Критериями исключения служили: наличие конкурирующих инфекционных заболеваний, не позволяющих верно оценить тяжесть и характер течения острого бронхолита; отсутствие согласия законных представителей пациента на участие в исследовании.

Диагноз острого вирусного бронхолита устанавливался на основании эпидемиологического анамнеза, комплекса характерных клинических симптомов [1]. Этиология бронхолита верифицировалась методом по-

лимеразной цепной реакции (ПЦР) путём обнаружения в назофарингеальных мазках РНК вирусов парагриппа 1–4-го типа, РС-вируса, риновирусов, метапневмовируса, бокавируса, коронавируса (NL63, 229E, NKU-1, OC 43), вирусов гриппа А и В, ДНК аденовирусов. В 71,7 % ($n = 76$) случаев подтверждена вирусная этиология бронхиолита: моноинфекция респираторного тракта, вызванная РС-вирусом, наблюдалась у 56,6 % больных, риновирусом – у 3,8 %. У 11,3 % детей наблюдалась вирусно-вирусная ассоциация (сочетание РС-вируса с одним из вирусов: рино-, адено-, бока-, метапневмовирусом).

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki) (1964, 2013 гг. – поправки) и Правилам клинической практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003). Законные представители пациентов подписывали формы добровольного согласия на участие в исследовании; протокол исследования утверждён локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО ЧГМА Минздрава России (№ 86 от 01.11.2017).

Все пациенты с вирусным бронхиолитом по клиническому критерию «тяжесть заболевания» распределены в две группы: основную группу составили 34 ребёнка с тяжёлым течением бронхиолита, группа сравнения представлена 72 детьми со среднетяжёлым течением заболевания. Исследуемые в группах не различались по полу, при этом статистически значимые различия выявлены по возрасту пациентов, подтверждая факт частого развития тяжёлого бронхиолита у детей меньшего возраста (табл. 1).

При формировании стратификации пациентов основной группы по степени тяжести острого вирусного бронхиолита руководствовались выраженностью дыхательной недостаточности, необходимостью госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии, потребностью в механической вентиляции лёгких. Дополнительным критерием тяжести при вирусном бронхиолите считали эпизоды апноэ даже при наличии в момент госпитализации признаков компенсированной дыхательной недостаточности.

В качестве поиска прогностических критериев развития тяжёлого вирусного бронхиолита в исследуемых группах оценивалось 47 анамнестических (в том числе пол и возраст), клинических, лабораторных и молеку-

лярно-генетических параметров. Для молекулярно-генетического исследования использовали цельную венозную кровь, образцы которой получали в начале заболевания (1–2-й день стационарного лечения). Определение SNP генов *IL-4* (C-589T), *IL-10* (G-1082A), *IL-10* (C-592A), *IL-10* (C-819T), *TNF-α* (G-308A), *IL-17A* (G197A), *IL-17F* (His161Arg), *TLR2-753ArgGln*, *TLR6-Ser249Pro* осуществлялось методом ПЦР с использованием стандартных наборов НПФ «Литех» (Москва). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь», затем проводилась реакция амплификации в термочиклере (модель «Бис»-M111, ООО «Бис-Н», Новосибирск). Детекцию продукта амплификации проводили в 3%-м агарозном геле.

При проведении статистического анализа руководствовались рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» [24]. Нормальность распределения признаков, учитывая численность основной группы менее 50 человек, оценивалась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Принимая во внимание распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей: $Me [Q_1; Q_3]$. Для сравнения двух независимых групп по одному количественному признаку применяли критерий Манна – Уитни (U) [25]. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных исследования проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую исследуемую группу, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы [26]. Во всех случаях статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Учитывая ретроспективный анализ результатов (тяжесть заболевания) и факторных признаков, оценка значимости различий показателей проводилась за счёт определения отношения шансов. Статистическая значимость отношения шансов (p) оценивалась исходя из значений 95%-го доверительного интервала (95% ДИ) [27]. Прогностическая модель построена путём применения бинарной логистической регрессии [28]. Для установления ценности прогностической модели использовал-

ТАБЛИЦА 1
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ВИРУСНЫМ БРОНХИОЛИТОМ ПО ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПОЛУ И ВОЗРАСТУ

TABLE 1
DISTRIBUTION OF PATIENTS WITH ACUTE VIRAL BRONCHIOLITIS BY DISEASE SEVERITY, SEX AND AGE

Признак	Исследуемые группы		Статистическая значимость различий между группами, p
	Тяжёлый бронхиолит ($n = 34$)	Нетяжёлый бронхиолит ($n = 72$)	
Мужской пол, абс. (%)	23 (67,6 %)	37 (51,4 %)	$p = 0,172$
Женский пол, абс. (%)	11 (32,4 %)	35 (48,6 %)	
Возраст (мес.), $Me [Q_1; Q_3]$	4,0 [1,8; 5,9]	8,0 [3,8; 9,2]	$p = 0,0001$

ся ROC-анализ [29]. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе первичного анализа статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения установлены по следующим параметрам: длительность нахождения в стационаре, в том числе в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), уровень палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, показателю насыщения кислородом гемо-

глобина периферической крови (SpO_2), наличие моноинфекции РС-вирусом, ВПС, БЛД, масса тела при рождении менее 1500 г, проявления дыхательной недостаточности любой степени тяжести, необходимость пребывания в ОРИТ, потребность в неинвазивной и инвазивной вентиляции лёгких, а также наличие осложнений заболевания в виде пневмонии (табл. 2, 3).

В результате проведённого молекулярно-генетического исследования определены все аллели и генотипы выбранного полиморфизма генов, как в группе больных острым вирусным бронхолитом, так и у здоровых исследуемых, большая часть из которых не отклонялось от равновесия Харди – Вайнберга. Для выявления ассоциации изучаемого генетического полиморфизма ге-

ТАБЛИЦА 2
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ВИРУСНЫМ БРОНХОЛИТОМ

TABLE 2
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF QUANTITATIVE INDICATORS IN PATIENTS WITH ACUTE VIRAL BRONCHIOLITIS

Показатели	Исследуемые группы		U	p
	Тяжёлый бронхолит (n = 34)	Нетяжёлый бронхолит (n = 72)		
Количество проведённых койко-дней в стационаре	13,0 [12,9; 16,3]	10,0 [8,8; 15,2]	456,0	0,001
Количество койко-дней в ОРИТ	8,0 [7,4; 10,8]	6,0 [0,7; 10,0]	48,5	0,001
Срок гестации к рождению, нед.	37,5 [34,7; 36,9]	39,0 [35,5; 41,2]	829,5	0,001
Вес при рождении, г	2253,5 [2231,3; 2679,8]	2700,0 [1160,5; 4052,9]	796,0	0,004
Вес в момент госпитализации, г	4400,0 [3385,7; 5424,9]	8900,0 [5020,7; 11091,3]	702,0	0,001
Температура тела, °C	37,6 [37,5; 37,9]	37,8 [37,3; 38,3]	1221,0	0,98
ЧДД, в мин	50,0 [47,9; 52,1]	40,0 [39,2; 43,5]	287,0	0,001
ЧСС, в мин	146,0 [144,8; 153,9]	138,0 [127,9; 152,1]	609,0	0,001
SpO_2 , %	85,0 [79,9; 85,0]	91,9 [87,7; 97,8]	139,0	0,01
Уровень лейкоцитов, $10^9/л$	9,8 [9,4; 10,7]	8,0 [6,4; 9,4]	1157,0	0,65
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,0 [0,8; 1,6]	0,0 [0,0; 0,9]	900,0	0,009
Сегментоядерные нейтрофилы, %	48,5 [45,7; 53,0]	45,0 [25,1; 54,2]	794,0	0,004
Лимфоциты, %	39,5 [37,1; 43,5]	53,0 [42,1; 67,2]	696,5	0,001
СОЭ, мм/ч	8,0 [7,2; 9,9]	8,0 [3,2; 13,4]	1180,5	0,77
С-реактивный белок, мг/л	10,0 [6,6; 10,0]	13,0 [1,6; 14,6]	935,0	0,04
Прокальцитонин, нг/мл	0,5 [0,4; 1,3]	0,5 [0,6; 2,7]	838,5	0,36
pH	7,40 [7,37; 7,41]	7,4 [7,38; 7,46]	50,0	0,43
pCO_2 , мм рт. ст.	44,5 [44,5; 51,9]	42,0 [31,6; 44,4]	39,0	0,19
pO_2 , мм рт. ст.	57,0 [56,0; 66,6]	71,0 [48,8; 105,2]	49,0	0,41
Лактат, ммоль/л	1,7 [1,6; 2,2]	1,2 [1,0; 1,3]	23,0	0,2
K^+ , ммоль/л	5,2 [5,1; 5,4]	4,5 [3,9; 5,8]	65,5	0,98
Na^{2+} , ммоль/л	140,0 [138,0; 140,0]	142,0 [139,1; 145,6]	38,0	0,17

Примечание. Статистическая разница между группами показана полужирным шрифтом.

ТАБЛИЦА 3
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ВИРУСНЫМ БРОНХИОЛИТОМ

TABLE 3
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF QUALITATIVE INDICATORS IN PATIENTS WITH ACUTE VIRAL BRONCHIOLITIS

Показатели	Исследуемые группы		Тестовая статистика, df = 1	
	Тяжёлый бронхиолит (n = 34)	Нетяжёлый бронхиолит (n = 72)	χ^2	p
Обнаружение РНК РС-вируса (моноинфекция)	85,3 % (29/34)	63,9 % (49/72)	5,114	0,024
Наличие пневмонии	50,0 % (17/34)	25,0 % (18/72)	6,526	0,011
ВПС	26,5 % (9/34)	6,9 % (5/72)	7,681	0,006
БЛД	29,4 % (10/34)	2,8 % (2/72)	16,319	0,001
Срок гестации менее 35 недель к рождению	32,4 % (11/34)	9,7 % (7/72)	8,810	0,003
Вес при рождении менее 1500 г	23,5 % (8/34)	4,2 % (3/72)	9,310	0,002
Ребёнок из двойни	0,0 % (0/34)	4,2 % (3/72)	1,452	0,227
Апноэ	8,8 % (3/34)	0 % (0/72)	15,107	0,001
Наличие дыхательной недостаточности (ДН)	100,0 % (34/34)	34,7 % (25/72)	39,875	0,001
ДН 1-й степени	8,8 % (3/34)	30,6 % (22/72)	6,052	0,014
ДН 2-й степени	64,7 % (22/34)	4,2 % (3/72)	46,964	0,001
ДН 3-й степени	36,5 % (9/34)	0,0 % (0/72)	20,827	0,001
Необходимость пребывания в ОРИТ	100,0 % (34/34)	5,6 % (4/72)	89,573	0,001
Потребность в ИВЛ	32,4 % (11/34)	0,0 % (0/72)	25,991	0,001
Потребность в неинвазивной ИВЛ	100,0 % (34/34)	6,9 % (5/72)	85,993	0,001

Примечание. Статистическая разница между группами показана полужирным шрифтом.

нов цитокинов и толл-рецепторов (*TLR*) с развитием тяжёлого течения острого бронхиолита проведён расчёт индивидуального участия каждого полиморфного маркера в формировании рисков развития заболевания.

Проведённое молекулярно-генетическое исследование показало, что из всех исследуемых полиморфизмов генов цитокинов и *TLR* статистически значимые различия между группами установлены только для SNP гена *IL10-592C>A*. При тяжёлом течении бронхиолита у детей чаще регистрировался генотип *CC* полиморфизма *IL10-592C>A*, а мутантный генотип (*AA*) выявлялся исключительно в этой группе больных, увеличивая риск развития тяжёлого заболевания в 16,11 раза ($ОШ = 16,11$; 95% ДИ: 0,81–121,22, $p = 0,02$) (табл. 4).

Принимая во внимание то, что в ходе первичного анализа статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения установлены по следующим анамнестическим параметрам (наличие ВПС, БЛД, масса тела при рождении менее 1500 г, генотип *AA* полиморфизма *IL10-592C>A*), именно эти критерии нами предложены в прогностическую модель развития тяжёлого вирусного бронхиолита. Такие параметры, как длительность нахождения в стационаре, в том числе в ОРИТ, показатель SpO_2 , проявления дыхательной недостаточ-

ности любой степени тяжести, необходимость пребывания в ОРИТ, потребность в неинвазивной и инвазивной вентиляции лёгких, а также наличие осложнений заболевания в виде пневмонии, тоже продемонстрировавшие статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения, характеризуют уже свершившееся событие (тяжёлый бронхиолит) и в прогностическую модель не включались.

На основании бинарной логистической регрессии составлено уравнение вероятности развития тяжёлого течения острого вирусного бронхиолита (SB):

$$SB = \frac{1}{1 + e^{1,284 - 1,136 \cdot \text{ВПС} - 2,835 \cdot \text{БЛД} - 0,098 \cdot \text{СГ} + 0,779 \cdot \text{МТР} - 0,084 \cdot \text{IL10}^{\circ}592AA}}$$

где 1,284 – константа (регрессионный коэффициент b_0); 1,136, 2,835, 0,098, 0,779, 0,084 – нестандартизованные коэффициенты b ; e – основание натурального логарифма ($\approx 2,72$); ВПС – врождённые пороки сердца; БЛД – бронхолёгочная дисплазия; СГ – срок гестации к рождению менее 35 недель; МТР – масса тела при рождении менее 1500 г. ВПС, БЛД, СГ, МТР принимали за значение «0» при отсутствии соответствующего фактора, за «1» – при его наличии. *IL10 592AA* – ген *IL10-592C>A*; при наличии генотипа *AA* принимали за значение «2», *CC* – «1», *CA* – «0».

ТАБЛИЦА 4
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ
ИССЛЕДУЕМЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ
ИММУННОГО ОТВЕТА СРЕДИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ
ВИРУСНЫМ БРОНХИОЛИТОМ

TABLE 4
FREQUENCY DISTRIBUTION OF GENOTYPES AND ALLELES
OF THE STUDIED POLYMORPHISMS OF IMMUNE
RESPONSE GENES AMONG PATIENTS WITH ACUTE VIRAL
BRONCHIOLITIS

Гены	SNP	Генотип, абс. (%)	Исследуемые группы		Статистическая значимость, df = 2	
			Тяжёлый бронхиолит (n = 34)	Нетяжёлый бронхиолит (n = 72)	χ^2	p
IL-4	589C>T	CC	29,4 % (10/34)	27,8 % (20/72)	0,208	0,901
		CT	64,7 % (22/34)	63,9 % (46/72)		
		TT	5,9 % (2/34)	8,3 % (6/72)		
IL-10	1082G>A	GG	32,4 % (11/34)	43,1 % (31/72)	1,493	0,474
		GA	61,8 % (21/34)	54,2 % (39/72)		
		AA	5,9 % (2/34)	2,8 % (2/72)		
	592C>A	CC	44,1 % (15/34)	36,1 % (26/72)	7,854	0,020
		CA	47,1 % (16/34)	63,9 % (46/72)		
		AA	8,8 % (3/34)	0,0 % (0/72)		
	819C>T	CC	39,4 % (10/34)	40,3 % (29/72)	1,779	0,411
		CT	50,0 % (17/34)	47,2 % (34/72)		
		TT	20,6 % (7/34)	12,5 % (9/72)		
TNF- α	308G>A	GG	55,9 % (19/34)	70,8 % (51/72)	2,302	0,129
		GA	44,1 % (15/34)	29,2 % (21/72)		
		AA	0,0 % (0/34)	0,0 % (0/72)		
IL-17A	197G>A	GG	44,1 % (15/34)	37,5 % (27/72)	0,984	0,611
		GA	47,1 % (16/34)	47,2 % (34/72)		
		AA	8,8 % (3/34)	15,3 % (11/72)		
IL-17F	161 His>Arg	HisHis	64,7 % (22/34)	72,2 % (52/72)	1,285	0,526
		HisArg	35,3 % (12/34)	26,4 % (19/72)		
		ArgArg	0,0 % (0/34)	1,4 % (1/72)		
TLR-2	753 Arg>Gln	ArgArg	85,3 % (29/34)	94,4 % (68/72)	2,489	0,115
		ArgGln	14,7 % (5/34)	5,6 % (4/72)		
		GlnGln	0,0 % (0/34)	0,0 % (0/72)		
TLR-6	249 Ser>Pro	SerSer	11,8 % (4/34)	9,7 % (7/72)	2,887	0,236
		SerPro	35,3 % (12/34)	52,8 % (38/72)		
		ProPro	52,9 % (18/34)	37,5 % (27/72)		

Примечание. Статистическая разница между группами показана полужирным шрифтом.

ТАБЛИЦА 5
ЗНАЧИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛОГИСТИЧЕСКОЙ РЕГРЕССИИ В СТРУКТУРЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ ТЯЖЁЛОГО ВИРУСНОГО БРОНХИОЛИТА

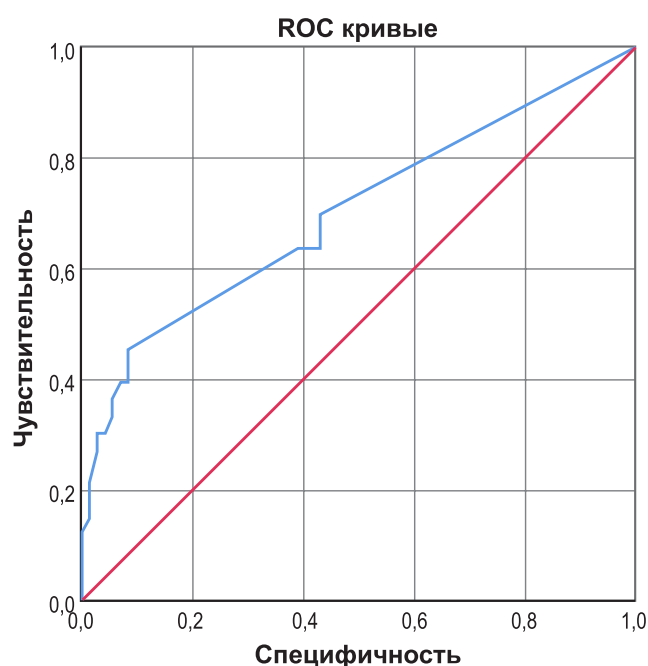
TABLE 5
SIGNIFICANCE OF LOGISTIC REGRESSION INDICATORS IN THE STRUCTURE OF THE DIAGNOSTIC MODEL FOR THE DEVELOPMENT OF SEVERE VIRAL BRONCHIOLITIS

Критерии	B	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	Exp (B)
ВПС	1,136	0,793	2,054	3,114
БЛД	2,835	1,321	4,601	17,023
Срок гестации менее 35 недель	0,098	0,864	0,013	1,103
Вес при рождении менее 1500 г	-0,779	1,357	0,330	0,459
<i>IL10-592C>A</i>	0,084	0,242	0,120	1,087
Константа	-1,284	0,317	16,364	0,277

Значение коэффициента SB, равное 0,26 и более, соответствует высокому риску развития у ребёнка тяжёлого течения острого вирусного бронхиолита.

На основании анализа уравнения логистической регрессии определена значимость показателей в структуре диагностической модели (табл. 5).

Чувствительность разработанной прогностической модели составляет 0,46, специфичность – 0,92. Площадь под ROC-кривой – 0,70 (95% ДИ: 0,59–0,82, $p < 0,001$). Стандартная ошибка – 0,06 (рис. 1).



Диагональные сегменты, сгенерированные связями

РИС. 1.
Площадь под ROC-кривой для разработанной модели развития у детей тяжёлого течения острого вирусного бронхиолита

FIG. 1.
The area under the ROC-curve for the developed model of development in children with a severe course of acute viral bronchiolitis

На основании предложенных критериев для прогнозирования вероятности развития тяжёлого течения острого вирусного бронхиолита у детей получено свидетельство о регистрации программы для ЭВМ (№ 2021680524 от 10.12.2021).

ОБСУЖДЕНИЕ

Немодифицируемые, в том числе, анамнестические факторы риска развития тяжёлого острого вирусного бронхиолита у детей, такие как рождение на сроке гестации менее 35 недель, недоношенность и прочее, хорошо известны; они используются для прогнозирования исхода бронхиолита, необходимости определения приоритетности госпитализации и обозначены как в отечественных, так и в зарубежных клинических рекомендациях [3, 29, 30].

Вместе с тем идентификация генетических маркеров различной степени тяжести течения вирусного бронхиолита может явиться новым направлением в медицине, поскольку вариабельность ответа на воздействие инфекционного агента обусловлена полиморфизмом генов, детерминирующим ключевые реакции врождённого и приобретённого иммунитета.

В разработанной многофакторной прогностической модели нами включены такие традиционные критерии, как недоношенность, БЛД, гемодинамически значимые пороки сердца, вес при рождении менее 1500 г, учитывая их статистически значимое преобладание в группе детей с тяжёлым течением бронхиолита и принимая во внимание данные ряда многоцентровых исследований по их значимости в определении тяжести болезни [31–34].

Результаты осуществлённого нами молекулярно-генетического исследования вариаций генов молекул иммунного ответа находят отражения в исследованиях, проведённых в Китае и Иране, в ходе которых установлено, что дети, гомозиготные по аллели -592C и -592A полиморфизма гена *IL-10*, чаще требовали госпитализации по поводу РС-бронхиолита, чем гомозиготные носите-

ли [16, 17]. Исследования, ранее проведённые в Тайване и Китае, подтверждают ассоциацию аллели С генов *IL10-592C>A*, *IL10-819C>T* с риском развития осложнений при респираторных инфекциях среди детей, в том числе с формированием острого респираторного дистресс-синдрома [35, 36].

Однако до настоящего момента поиск критериев прогнозирования тяжёлого бронхолита не включал совокупность изучаемых параметров (анамнестических, клинических и молекулярно-генетических факторов), которые могли повлиять на точность прогностической модели.

Интерес к изучению факторов риска исходов РС-вирусной инфекции у детей очевиден, и необходимы дополнительные исследования для выяснения факторов риска, связанных с тяжестью инфекции, формированием осложнений, неблагоприятными исходами, в том числе смертью при РС-вирусной инфекции с использованием многопараметрического анализа ведутся. Так, один из метаанализов, опубликованный в 2021 г., основанный на систематическом обзоре исследовательских данных по РС-вирусной инфекции с января 1995 по декабрь 2019 г., представил выводы по факторам риска тяжёлого течения, неблагоприятного исхода и смертности при данном инфекционном заболевании. Шесть факторов риска имели статистически значимую связь с плохим исходом РС-инфекции: любое сопутствующее заболевание (ОШ = 2,69; 95% ДИ: 1,89–3,83), ВПС (ОШ = 3,40; 95% ДИ: 2,14–5,40), недоношенность с гестационным возрастом (ГВ) < 37 недель (ОШ = 1,75; 95% ДИ: 1,31–2,36), недоношенность с ГВ ≤ 32 недель (ОШ = 2,68; 95% ДИ: 1,43–5,04), возраст < 3 месяцев (ОШ = 4,91; 95% ДИ: 1,64–14,71), возраст < 6 месяцев (ОШ = 2,02; 95% ДИ: 1,73–2,35) [37].

Таким образом, изучение генетического полиморфизма цитокинов, принимающих участие в миграции клеток, механизмах регуляции межклеточных взаимодействий, а также поиск генетических маркеров тяжести течения РС-вирусной инфекции, является перспективным в теоретическом и практическом отношениях. Полученные результаты позволяют установить генетические маркеры тяжёлого течения данного заболевания у детей, а также выявить приоритетную группу пациентов для первоочередной иммунопрофилактики против данной потенциально фатальной инфекции среди детей с известными факторами риска, расширив традиционные для педиатрического сообщества предикторы тяжести вирусного бронхолита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, прогностическая модель, учитывающая немодифицируемые факторы риска, в том числе молекулярные критерии в виде SNP генов молекул иммунного ответа, является информативной для прогнозирования индивидуального риска развития тяжёлого острого вирусного бронхолита наряду с оценкой традиционных параметров. Использование разработанного алгоритма позволит не только оценить вероятность развития тяжёлого бронхолита, но и определить приори-

тетную группу среди детей с предикторами тяжёлого развития вирусного бронхолита для первоочередной иммунопрофилактики против РС-вирусной инфекции.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Союз педиатров России. *Острый бронхолит: клинические рекомендации*. М.; 2021.
2. Smith DK, Seales S, Budzik C. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in children. *Am Fam Physician*. 2017; 95(2): 94-99.
3. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Bailey JE, Gadomski AM, et al. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014; 134(5): e1474-e1502. doi: 10.1542/peds.2014-2742
4. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: A systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2010; 375(9725): 1545-1555. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60206-1
5. Schroeder AR, Mansbach JM. Recent evidence on the management of bronchiolitis. *Curr Opin Pediatr*. 2014; 26(3): 328-333. doi: 10.1097/MOP.0000000000000090
6. Бочкарева Л.С., Мироманова Н.А., Казанцев В.Н., Прокопенко О.В. Особенности течения респираторно-синцитиальной вирусной инфекции среди госпитализированных пациентов детского возраста из групп риска. *Забайкальский медицинский журнал*. 2018; 2: 57-58.
7. Kenmoe S, Kengne-Nde C, Ebogo-Belobo JT, Mbaga DS, Fatawou Modiyinji A, Njoum R. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of common respiratory viruses in children < 2 years with bronchiolitis in the pre-COVID-19 pandemic era. *PLoS One*. 2020; 15(11): e0242302. doi: 10.1371/journal.pone.0242302
8. Dumas O, Mansbach JM, Jartti T, Hasegawa K, Sullivan AF, Piedra PA, et al. A clustering approach to identify severe bronchiolitis profiles in children. *Thorax*. 2016; 71(8): 712-718. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208535
9. Hasegawa K, Stewart CJ, Celedón JC, Mansbach JM, Tierney C, Camargo CA Jr. Circulating 25-hydroxyvitamin D, nasopharyngeal airway metabolome, and bronchiolitis severity. *Allergy*. 2018; 73(5): 1135-4110. doi: 10.1111/all.13379
10. Friedman JN, Rieder MJ, Walton JM. Bronchiolitis: recommendations for diagnosis, monitoring and management of children one to 24 months of age. *Paediatr Child Health*. 2014; 19(9): 485-498. doi: 10.1093/pch/19.9.485
11. Checchia PA, Paes B, Bont L, Manzoni P, Simões EAF, Fauroux B, et al. Defining the risk and associated morbidity and mortality of severe respiratory syncytial virus infection among infants with congenital heart disease. *Infect Dis Ther*. 2017; 6(1): 37-56. doi: 10.1007/s40121-016-0142-x
12. Manzoni P, Figueras-Aloy J, Simões EAF, Checchia PA, Fauroux B., Bont L, et al. Defining the incidence and associated morbidity and mortality of severe respiratory syncytial virus infection among children with chronic diseases. *Infect Dis Ther*. 2017; 6(3): 383-411. doi: 10.1007/s40121-017-0160-3

13. Siezen CL, Bont L, Hodemaekers HM, Ermers MJ, Doornbos G, Van't Slot R, et al. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm children is associated with airway remodeling genes and innate immune genes. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28(4): 333-335. doi: 10.1097/INF.0b013e31818e2aa9
14. Huang J, Zhang M, Zhang X, Lu A, Wang L, Chen C. IFN-gamma CA microsatellite polymorphism is associated with susceptibility to respiratory syncytial virus infection and severity. *Acta Paediatr*. 2014; 103(12): 544-547. doi: 10.1111/apa.12767
15. Faber TE, Schuurhof A, Vonk A, Koppelman GH, Hen-nus MP, Kimpen JLL, et al. IL1RL1 gene variants and nasopharyngeal IL1RL-a levels are associated with severe RSV bronchiolitis: A multicenter cohort study. *PLoS One*. 2012; 7(5): e34364. doi: 10.1371/journal.pone.0034364
16. Fan R, Wen B, Liu W, Zhang J, Liu C, Fan C, et al. Altered regulatory cytokine profiles in cases of pediatric respiratory syncytial virus infection. *Cytokine*. 2018; 103: 57-62. doi: 10.1016/j.cyto.2017.12.028
17. Darbeheshti F, Mahdiannasser M, Uhal BD, Ogino S, Gupta S, Rezaei N. Interindividual immunogenic variants: Susceptibility to coronavirus, respiratory syncytial virus and influenza virus. *Rev Med Virol*. 2021; 31(6): e22234. doi: 10.1002/rmv.2234
18. Marr N, Hirschfeld AF, Lam A, Wang S, Lavoie PM, Turvey SE. Assessment of genetic associations between common single nucleotide polymorphisms in RIG-I-like receptor and IL-4 signaling genes and severe respiratory syncytial virus infection in children: A candidate gene case-control study. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100269. doi: 10.1371/journal.pone.0100269
19. Patel JA, Nair S, Ochoa EE, Huda R, Roberts NJ, Chon-maitree T. Interleukin-6⁻¹⁷⁴ and tumor necrosis factor α ⁻³⁰⁸ polymorphisms enhance cytokine production by human macrophages exposed to respiratory viruses. *J Interferon Cytokine Res*. 2010; 30(12): 917-921. doi: 10.1089/jir.2010.0033
20. Drysdale SB, Alcazar M, Wilson T, Smith M, Zuckerman M, Hodemaekers HM, et al. Functional and genetic predisposition to rhinovirus lower respiratory tract infections in prematurely born infants. *Eur J Pediatr*. 2016; 175(12): 1943-1949. doi: 10.1007/s00431-016-2780-0
21. Korppi M, Nuolivirta K, Lauhkonen E, Holster A, Teräs-järvi J, Vuononvirta J, et al. IL-10 gene polymorphism is associated with preschool atopy and early-life recurrent wheezing after bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol*. 2017; 52(1): 14-20. doi: 10.1002/ppul.23489
22. Lauhkonen E, Koponen P, Teräs-järvi J, Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Vuononvirta J, Nuolivirta K, et al. IL-10 gene polymorphisms are associated with post-bronchiolitis lung function abnormalities at six years of age. *PLoS One*. 2015; 10(10): e0140799. doi: 10.1371/journal.pone.0140799
23. Pinto LA, DE Azeredo Leitão LA, Mocellin M, Acosta P, Caballero MT, Libster R, et al. IL-8/IL-17 gene variations and the susceptibility to severe viral bronchiolitis. *Epidemiol Infect*. 2017; 145(4): 642-646. doi: 10.1017/S0950268816002648
24. Lang TA, Altman DG. Statistical analyses and method in the published literature: The SAMPL guidelines. *Medical Writing*. 2016; 25(3): 31-36. doi: 10.18243/eon/2016.9.7.4
25. Мудров ВА. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 140-150. doi: 10.52485/19986173_2020_1_140
26. Мудров ВА. Алгоритмы статистического анализа качественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 151-163. doi: 10.52485/19986173_2020_1_151
27. Мудров ВА. Алгоритмы регрессионного анализа в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 2: 177-190. doi: 10.52485/19986173_2020_2_177
28. Мудров ВА. Алгоритмы применения ROC-анализа в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2021; 1: 148-153. doi: 10.52485/19986173_2021_1_148
29. Masarweh K, Gur M, Leiba R, Bar-Yoseph R, Toukan Y, Nir V, et al. Factors predicting length of stay in bronchiolitis. *Respir Med*. 2020; 161: 105824. doi: 10.1016/j.rmed.2019.105824
30. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Таточенко В.К., Давыдова И.В., Бакрадзе М.Д., Вишнёва Е.А. и др. Острый бронхит у детей. Современные подходы к диагностике и терапии. *Педиатрическая фармакология*. 2015; 12(4): 441-446. doi: 10.15690/pf.v12i4.1426
31. Fauroux B, Hascoët JM, Jarreau PH, Magny JF, Rozé JC, Saliba E, et al. Risk factors for bronchiolitis hospitalization in infants: A French nationwide retrospective cohort study over four consecutive seasons (2009-2013). *PLoS One*. 2020; 15(3): e0229766. doi: 10.1371/journal.pone.0229766
32. Robledo-Aceves M, Moreno-Peregrina MJ, Velarde-Rivera F, Ascencio-Esparza E, Preciado-Figueroa FM, Caniza MA, et al. Risk factors for severe bronchiolitis caused by respiratory virus infections among Mexican children in an emergency department. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(9): e0057. doi: 10.1097/MD.00000000000010057
33. Praznik A, Vinšek N, Prodan A, Erčulj V, Pokorn M, Mrvič T, et al. Risk factors for bronchiolitis severity: A retrospective review of patients admitted to the university hospital from central region of Slovenia. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018; 12(6): 765-771. doi: 10.1111/irv.12587
34. Murray J, Bottle A, Sharland M, Modi N, Aylin P, Majeed A, et al. Risk factors for hospital admission with RSV bronchiolitis in England: A population-based birth cohort study. *PLoS One*. 2014; 9(2): e8918. doi: 10.1371/journal.pone.0089186
35. Liu CH, Kuo SW, Ko WJ, Tsai PR, Wu SW, Lai CH, et al. Early measurement of IL-10 predicts the outcomes of patients with acute respiratory distress syndrome receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 1021. doi: 10.1038/s41598-017-01225-1
36. Xie M, Cheng B, Ding Y, Wang C, Chen J. Correlations of IL-17 and NF- κ B gene polymorphisms with susceptibility and prognosis in acute respiratory distress syndrome in a Chinese population. *Biosci Rep*. 2019; 39(2): BSR20181987. doi: 10.1042/BSR20181987
37. Shi T, Vennard S, Mahdy S, Nair H. Risk factors for RSV associated acute lower respiratory infection poor outcome and mortality in young children: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2021; jiaa751. doi: 10.1093/infdis/jiaa751

REFERENCES

1. Union of Pediatricians of Russia. *Acute bronchiolitis: Clinical guidelines*. Moscow; 2021. (In Russ.).

2. Smith DK, Seales S, Budzik C. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in children. *Am Fam Physician*. 2017; 95(2): 94-99.
3. Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Bailey JE, Gadowski AM, et al. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics*. 2014; 134(5): e1474-e1502. doi: 10.1542/peds.2014-2742
4. Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: A systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2010; 375(9725): 1545-1555. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60206-1
5. Schroeder AR, Mansbach JM. Recent evidence on the management of bronchiolitis. *Curr Opin Pediatr*. 2014; 26(3): 328-333. doi: 10.1097/MOP.0000000000000090
6. Bochkareva LS, Miromanova NA, Kazantsev VN, Prokopenko OV. Features of the course of respiratory syncytial viral infection among hospitalized pediatric patients from risk groups. *Zabaykal'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 2: 57-58. (In Russ.).
7. Kenmoe S, Kengne-Nde C, Ebogo-Belobo JT, Mbaga DS, Fatawou Modiyinji A, Njoum R. Systematic review and meta-analysis of the prevalence of common respiratory viruses in children < 2 years with bronchiolitis in the pre-COVID-19 pandemic era. *PLoS One*. 2020; 15(11): e0242302. doi: 10.1371/journal.pone.0242302
8. Dumas O, Mansbach JM, Jartti T, Hasegawa K, Sullivan AF, Piedra PA, et al. A clustering approach to identify severe bronchiolitis profiles in children. *Thorax*. 2016; 71(8): 712-718. doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208535
9. Hasegawa K, Stewart CJ, Celedón JC, Mansbach JM, Tierney C, Camargo CA Jr. Circulating 25-hydroxyvitamin D, nasopharyngeal airway metabolome, and bronchiolitis severity. *Allergy*. 2018; 73(5): 1135-1110. doi: 10.1111/all.13379
10. Friedman JN, Rieder MJ, Walton JM. Bronchiolitis: recommendations for diagnosis, monitoring and management of children one to 24 months of age. *Paediatr Child Health*. 2014; 19(9): 485-498. doi: 10.1093/pch/19.9.485
11. Checchia PA, Paes B, Bont L, Manzoni P, Simões EAF, Fauroux B, et al. Defining the risk and associated morbidity and mortality of severe respiratory syncytial virus infection among infants with congenital heart disease. *Infect Dis Ther*. 2017; 6(1): 37-56. doi: 10.1007/s40121-016-0142-x
12. Manzoni P, Figueras-Aloy J, Simões EAF, Checchia PA, Fauroux B., Bont L, et al. Defining the incidence and associated morbidity and mortality of severe respiratory syncytial virus infection among children with chronic diseases. *Infect Dis Ther*. 2017; 6(3): 383-411. doi: 10.1007/s40121-017-0160-3
13. Siezen CL, Bont L, Hodemaekers HM, Ermers MJ, Doornbos G, Van't Slot R, et al. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm children is associated with airway remodeling genes and innate immune genes. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28(4): 333-335. doi: 10.1097/INF.0b013e31818e2aa9
14. Huang J, Zhang M, Zhang X, Lu A, Wang L, Chen C. IFN-gamma CA microsatellite polymorphism is associated with susceptibility to respiratory syncytial virus infection and severity. *Acta Paediatr*. 2014; 103(12): 544-547. doi: 10.1111/apa.12767
15. Faber TE, Schuurhof A, Vonk A, Koppelman GH, Henneus MP, Kimpen JLL, et al. IL1RL1 gene variants and nasopharyngeal IL1RL1-a levels are associated with severe RSV bronchiolitis: A multicenter cohort study. *PLoS One*. 2012; 7(5): e34364. doi: 10.1371/journal.pone.0034364
16. Fan R, Wen B, Liu W, Zhang J, Liu C, Fan C, et al. Altered regulatory cytokine profiles in cases of pediatric respiratory syncytial virus infection. *Cytokine*. 2018; 103: 57-62. doi: 10.1016/j.cyt.2017.12.028
17. Darbeheshti F, Mahdiannasser M, Uhal BD, Ogino S, Gupta S, Rezaei N. Interindividual immunogenic variants: Susceptibility to coronavirus, respiratory syncytial virus and influenza virus. *Rev Med Virol*. 2021; 31(6): e22234. doi: 10.1002/rmv.2234
18. Marr N, Hirschfeld AF, Lam A, Wang S, Lavoie PM, Turvey SE. Assessment of genetic associations between common single nucleotide polymorphisms in RIG-I-like receptor and IL-4 signaling genes and severe respiratory syncytial virus infection in children: A candidate gene case-control study. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100269. doi: 10.1371/journal.pone.0100269
19. Patel JA, Nair S, Ochoa EE, Huda R, Roberts NJ, Chonmaitree T. Interleukin-6⁻¹⁷⁴ and tumor necrosis factor α ⁻³⁰⁸ polymorphisms enhance cytokine production by human macrophages exposed to respiratory viruses. *J Interferon Cytokine Res*. 2010; 30(12): 917-921. doi: 10.1089/jir.2010.0033
20. Drysdale SB, Alcazar M, Wilson T, Smith M, Zuckerman M, Hodemaekers HM, et al. Functional and genetic predisposition to rhinovirus lower respiratory tract infections in prematurely born infants. *Eur J Pediatr*. 2016; 175(12): 1943-1949. doi: 10.1007/s00431-016-2780-0
21. Korppi M, Nuolivilta K, Lauhkonen E, Holster A, Teräs-järvi J, Vuononvirta J, et al. IL-10 gene polymorphism is associated with preschool atopy and early-life recurrent wheezing after bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol*. 2017; 52(1): 14-20. doi: 10.1002/ppul.23489
22. Lauhkonen E, Koponen P, Teräs-järvi J, Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Vuononvirta J, Nuolivilta K, et al. IL-10 gene polymorphisms are associated with post-bronchiolitis lung function abnormalities at six years of age. *PLoS One*. 2015; 10(10): e0140799. doi: 10.1371/journal.pone.0140799
23. Pinto LA, DE Azeredo Leitão LA, Mocellin M, Acosta P, Caballero MT, Libster R, et al. IL-8/IL-17 gene variations and the susceptibility to severe viral bronchiolitis. *Epidemiol Infect*. 2017; 145(4): 642-646. doi: 10.1017/S0950268816002648
24. Lang TA, Altman DG. Statistical analyses and method in the published literature: The SAMPL guidelines. *Medical Writing*. 2016; 25(3): 31-36. doi: 10.18243/eon/2016.9.7.4
25. Mudrov VA. Algorithms for statistical analysis of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaykal'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 1: 140-150. (In Russ.). doi: 10.52485/19986173_2020_1_140
26. Mudrov VA. Algorithms for statistical analysis of qualitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaykal'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 1: 151-163. (In Russ.). doi: 10.52485/19986173_2020_1_151
27. Mudrov VA. Regression analysis algorithms in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaykal'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 2: 177-190. (In Russ.). doi: 10.52485/19986173_2020_2_177
28. Mudrov VA. Algorithms for the application of ROC analysis in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaykal'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2021; 1: 148-153. (In Russ.). doi: 10.52485/19986173_2021_1_148
29. Masarweh K, Gur M, Leiba R, Bar-Yoseph R, Toukan Y, Nir V, et al. Factors predicting length of stay in bronchiolitis. *Respir Med*. 2020; 161: 105824. doi: 10.1016/j.rmed.2019.105824

30. Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Tatochenko VK, Davydova IV, Bakradze MD, Vishneva EA, et al. Acute bronchiolitis in children. Modern approaches to diagnostics and therapy. *Pediatric Pharmacology*. 2015; 4(12): 441-446. (In Russ.). doi: 10.15690/pf.v12i4.1426
31. Fauroux B, Hascoët JM, Jarreau PH, Magny JF, Rozé JC, Saliba E, et al. Risk factors for bronchiolitis hospitalization in infants: A French nationwide retrospective cohort study over four consecutive seasons (2009-2013). *PLoS One*. 2020; 15(3): e0229766. doi: 10.1371/journal.pone.0229766
32. Robledo-Aceves M, Moreno-Peregrina MJ, Velarde-Rivera F, Ascencio-Esparza E, Preciado-Figueroa FM, Caniza MA, et al. Risk factors for severe bronchiolitis caused by respiratory virus infections among Mexican children in an emergency department. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(9): e0057. doi: 10.1097/MD.00000000000010057
33. Praznik A, Vinšek N, Prodan A, Erčulj V, Pokorn M, Mrvič T, et al. Risk factors for bronchiolitis severity: A retrospective review of patients admitted to the university hospital from central region of Slovenia. *Influenza Other Respir Viruses*. 2018; 12(6): 765-771. doi: 10.1111/irv.12587
34. Murray J, Bottle A, Sharland M, Modi N, Aylin P, Majeed A, et al. Risk factors for hospital admission with RSV bronchiolitis in England: A population-based birth cohort study. *PLoS One*. 2014; 9(2): e8918. doi: 10.1371/journal.pone.0089186
35. Liu CH, Kuo SW, Ko WJ, Tsai PR, Wu SW, Lai CH, et al. Early measurement of IL-10 predicts the outcomes of patients with acute respiratory distress syndrome receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 1021. doi: 10.1038/s41598-017-01225-1
36. Xie M, Cheng B, Ding Y, Wang C, Chen J. Correlations of IL-17 and NF-κB gene polymorphisms with susceptibility and prognosis in acute respiratory distress syndrome in a Chinese population. *Biosci Rep*. 2019; 39(2): BSR20181987. doi: 10.1042/BSR20181987
37. Shi T, Vennard S, Mahdy S, Nair H. Risk factors for RSV associated acute lower respiratory infection poor outcome and mortality in young children: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2021: jiaa751. doi: 10.1093/infdis/jiaa751

Сведения об авторах

Бочкарева Лариса Сергеевна – ассистент кафедры детских инфекций, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: larisa.bochkareva.1992@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2493-3740>

Миromanova Наталья Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой детских инфекций, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: detinf-chita@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2109-4643>

Миromanov Александр Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: miromanov_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1432-1844>

Information about the authors

Larisa S. Bochkareva – Teaching Assistant at the Department of Pediatric Infections, Chita State Medical Academy, e-mail: larisa.bochkareva.1992@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2493-3740>

Natalya A. Miromanova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Pediatric Infections, Chita State Medical Academy, e-mail: detinf-chita@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2109-4643>

Aleksandr M. Miromanov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Traumatology and Orthopedics, Chita State Medical Academy, e-mail: miromanov_a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1432-1844>

СТРУКТУРНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА ОРГАНОВ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ *YERSINIA PESTIS* EV В СОЧЕТАНИИ С СЕЛЕНОРГАНИЧЕСКИМ СОЕДИНЕНИЕМ 974ZH

Дубровина В.И.,
Старовойтова Т.П.,
Юрьева О.В.,
Витязева С.А.,
Пятидесятникова А.Б.,
Иванова Т.А.,
Корытов К.М.,
Мухтургин Г.Б.,
Балахонов С.В.

ФКУЗ Иркутский
научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск,
ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дубровина Валентина Ивановна,
e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Актуальным направлением является поиск средств, повышающих эффективность вакцины *Yersinia pestis* EV НИИЭГ и снижение вызванных ею побочных патологических проявлений. Селенорганические соединения обладают иммуностропными свойствами и повышают антиоксидантный потенциал организма, а также оказывают антидистрофический эффект и противоаллергическое действие. Представлены материалы исследования иммуномодулирующего действия экспериментального селеносодержащего соединения 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромида (974zh) на макроорганизм лабораторных животных.

Цель исследования. Оценить действие селенорганического соединения 974zh на структурную перестройку органов экспериментальных животных в динамике вакцинального процесса, вызванного *Y. pestis* EV.

Методы. Исследование проводили на 70 сертифицированных беспородных белых мышах. Гистологический материал (тимус, лимфатические узлы, селезенка, надпочечники, печень) заливали в парафин, полутонкие срезы окрашивали гематоксилином и эозином, тионином и по методу Браше. Оценивали степень выраженности патологических изменений в печени и надпочечниках, пролиферацию плазматических клеток и структурное изменение в иммунокомпетентных органах (тимус, лимфатические узлы и селезенка). Микрофотосъемку и количественный анализ выполняли с помощью «MoticImagesPlus 2.0». Статистическую обработку проводили с помощью компьютерной программы Statistica (StatSoft Inc., США).

Результаты. Установлено, что совместное введение 974zh и *Y. Pestis* EV приводит к морфофункциональной перестройке иммунокомпетентных органов, усиливает пролиферацию плазматических клеток в селезенке и лимфатических узлах, нивелирует негативные изменения в печени и надпочечниках.

Заключение. Таким образом, препарат 974zh усиливает иммуногенное действие вакцинного штамма *Y. pestis* EV, увеличивая Т- и В-зависимые зоны селезенки и лимфатических узлов, повышая пролиферацию плазматических клеток, а также заметно сокращает патологические изменения в печени и надпочечниках.

Ключевые слова: *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, селенорганическое соединение, селезенка, тимус, регионарный лимфатический узел, надпочечники

Для цитирования: Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Юрьева О.В., Витязева С.А., Пятидесятникова А.Б., Иванова Т.А., Корытов К.М., Мухтургин Г.Б., Балахонов С.В. Структурная перестройка органов белых мышей, вакцинированных *Yersinia pestis* EV в сочетании с селенорганическим соединением 974zh. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 110-120. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.12

Статья получена: 31.01.2022

Статья принята: 05.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

STRUCTURAL REARRANGEMENT OF ORGANS OF WHITE MICE VACCINATED WITH *YERSINIA PESTIS* EV IN COMBINATION WITH ORGANOSELENIUM COMPOUND 974ZH

Dubrovina V.I.,
Starovoitova T.P.,
Yurieva O.V.,
Vityazeva S.A.,
Pyatidesyatnikova A.B.,
Ivanova T.A.,
Korytov K.M.,
Mukhturgin G.B.,
Balakhonov S.V.

Irkutsk Antiplague Research
Institute of Siberia and Far East
of Rospotrebnadzor (Trilissera str. 78,
Irkutsk 664047, Russian Federation)

Corresponding author:
Valentina I. Dubrovina,
e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

ABSTRACT

Introduction. An urgent direction is the search for means that increase the effectiveness of the *Y. pestis* EV NIEG vaccine and reduce the side pathological manifestations caused by it. Organoselenium compounds have immunotropic properties and increase the antioxidant potential of the body, as well as have an antidystrophic effect and an antiallergic effect. Materials of the study of the immunomodulating effect of the experimental selenium-containing compound 2,6-dipyridinium-9-selenabicyclo[3.3.1]nonane dibromide (974zh) on the macroorganism of laboratory animals are presented.

The aim. To evaluate the effect of the organoselenium compound 974zh on the structural rearrangement of the organs of experimental animals in the dynamics of the vaccine process caused by *Y. pestis* EV.

Methods. The study was carried out on 70 certified outbred white mice. Histological material (thymus, lymph nodes, spleen, adrenal glands, liver) was embedded in paraffin, semi-thin sections were stained with hematoxylin and eosin, thionin, and by the Brachet method. The severity of pathological changes in the liver and adrenal glands, proliferation of plasma cells and structural changes in immunocompetent organs (thymus, lymph nodes and spleen) were assessed. Microphotography and quantitative analysis were performed using MotiCImagesPlus 2.0. Statistical processing was carried out using the computer program Statistica.

Results. It has been established that the combined administration of 974zh and *Y. pestis* EV leads to morphological and functional restructuring of immunocompetent organs, enhances the proliferation of plasma cells in the spleen and lymph nodes, and eliminates negative changes in the liver and adrenal glands.

Conclusion. Thus, the 974zh preparation enhances the immunogenic effect of the *Y. pestis* EV vaccine strain, increasing the T- and B-dependent zones of the spleen and lymph nodes, increasing the proliferation of plasma cells, and also significantly reduces pathological changes in the liver and adrenal glands.

Key words: *Yersinia pestis* EV NIEG, organoselenium compound, spleen, thymus, regional lymph node, adrenal glands

For citation: Dubrovina V.I., Starovoitova T.P., Yurieva O.V., Vityazeva S.A., Pyatidesyatnikova A.B., Ivanova T.A., Korytov K.M., Mukhturgin G.B., Balakhonov S.V. Structural rearrangement of organs of white mice vaccinated with *Yersinia pestis* EV in combination with organoselenium compound 974zh. *Acta biomedical scientifica*. 2022; 7(3): 110-120. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.12

Received: 31.01.2022
Accepted: 05.05.2022
Published: 05.07.2022

ВВЕДЕНИЕ

На территории Российской Федерации для специфической профилактики чумы используют живую чумную вакцину на основе штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, вызывающую развитие иммунитета длительностью до года. Однако её защитные свойства против лёгочной формы чумы человека недостаточно эффективны [1]. В связи с этим поиск иммуноадъювантов, способных повышать эффективность формирования продолжительного противочумного иммунитета, является актуальной задачей. Комплексный морфологический анализ применения полиоксидония с целью повышения эффективности противочумной вакцинации выявил особенности морфофункциональных изменений в иммунокомпетентных органах биомодели [2]. Кроме того, перспективным представляется использование в качестве адъювантов иммуноактиваторов на основе селеносодержащих соединений. По литературным данным известно, что селенорганические препараты обладают антиоксидантным потенциалом, иммуномодулирующими свойствами и способны модулировать вакцинальный иммуногенез [3–5].

К таким соединениям может относиться экспериментальный препарат 974zh (2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромид), разработанный в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН. Данное соединение находится на стадии изучения и представляет большой интерес [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить действие селенорганического соединения 974zh на структурную перестройку органов экспериментальных животных в динамике вакцинального процесса, вызванного *Y. pestis* EV

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». В качестве объекта исследования использовали селенорганическое соединение 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромид (974zh), синтезированный в лаборатории халькогенорганических соединений Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского, а также вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ. Предварительно было установлено, что препарат не проявляет токсичность у лабораторных животных в дозе 40 мг/кг [7].

Экспериментальной моделью в опытах служили 70 сертифицированных беспородных белых мышей, стандартных по условиям содержания, возрасту и массе (16–18 г), полученные из питомника ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (РД 42-26-3...3738, НПО «Вектор», Новосибирск). В работе соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной

медицинской ассоциации. Исследование одобрено локальным этическим комитетом института (протокол № 5 от 01.11.2021). Экспериментальные животные были разделены на три опытные (по 20 особей) и одну контрольную (10 особей) группы. Животных иммунизировали подкожно во внутреннюю поверхность левого бедра: I группе вводили ЕД₅₀ *Y. pestis* EV (10⁴ КОЕ), II группе – селенорганическое соединение 974zh (2,5 мг/кг), III группе – ЕД₅₀ *Y. pestis* EV и препарат 974zh (2,5 мг/кг). Контролем служили интактные белые мыши. Наблюдение за животными осуществляли в течение 21 суток.

Животных выводили из эксперимента под наркозом (работа с животными проводилась в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утверждёнными приказом Министерства здравоохранения № 199н от 01.04.2016) на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки с момента иммунизации. Анатомический материал (лимфатические узлы, селезёнка, тимус, надпочечники, печень) для гистологического исследования фиксировали в 10%-м водном растворе формалина (рН 7,0–7,2), обезжизняли в спиртах с возрастающей концентрацией, заливали в парафин. Полутонкие срезы окрашивали общепринятыми методиками (гематоксилин и эозин), плазматические клетки выявляли по методу Браше [8, 9]. Количественную морфометрию объёмных долей коркового и мозгового вещества тимуса, лимфатического узла, надпочечников, а также белой и красной пульпы селезёнки проводили с использованием автоматического анализа изображения (при увеличении окуляра 10, объектива – 10; световой микроскоп «Zeiss», Германия) с помощью видеокамеры «AxioCam Icc3» (разрешение 2080 × 1540 = 3,3 Мпикс) и компьютерной программы «MoticImagesPlus» (версия 2). Подсчёт числа плазматических клеток проводили с помощью программы «ВидеоТест-Морфология», версия 4 (Санкт-Петербург).

Статистическую значимость результатов исследования получали методами статистической обработки с применением сравнительного анализа по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони с применением компьютерной программ Statistica, версия 6 (StatSoft Inc., США; 19842001, ИПЧИ 31415926535897) и пакета программ Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corp., США). Данные выражали в виде среднего арифметического (*M*) и стандартного отклонения среднего (*SD*). Результаты считали статистически значимыми при *p* < 0,05 по отношению к контролю.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что на 7-е сутки исследования в тимусе животных, иммунизированных *Y. pestis* EV, имеет место статистически значимое снижение доли коркового вещества – в 1,8 раза (*p* < 0,05) по сравнению с контролем. Начиная с 14-х суток, доля коркового вещества тимуса возрастает, и к 21-м суткам показатель незначительно превышает контрольные значения (рис. 1). В мозговом

веществе тимуса животных I группы с 3-х по 14-е сутки выявлено статистически значимое увеличение количества бластных клеток – в 1,5 и 1,8 раза соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Установлено, что у мышей II группы в ранние сроки исследования (3-и сутки) доля коркового вещества тимуса соответствовала значению в контроле ($p < 0,05$). Это может быть связано с антиоксидантным действием селенсодержащего соединения и повышением устойчивости организма к стрессовым факторам, которым является *Y. pestis* EV. Начиная с 7-х суток, объём коркового вещества увеличивается и достигает максимального значения к 14–21-м суткам ($59,2 \pm 1,5$ и $58,9 \pm 1,2$ % соответственно), превышая показатели в контрольной группе на 10,2 и 8,8 % ($p < 0,05$) (рис. 1). Можно предположить, что препарат 974zh, обладающий иммуностимулирующими свойствами, стимулирует иммунный ответ, сокращая сроки латентного периода.

С 3-х по 14-е сутки в корковом веществе тимуса экспериментальных животных II группы наблюдается статистически значимое увеличение количества бластных клеток и лимфоцитов – в 1,3–2,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с I группой. К 21-м суткам эти показатели незначительно снижаются, но превышают значения в контрольной группе.

Установлено, что на 7-е сутки в лимфатических узлах животных I группы увеличение объёмной доли коркового вещества ($32,1$ % – в контроле, $47,2$ % – в опыте) в 1,5 раза ($p < 0,05$) превышает значение в контроле (рис. 2). Увеличение произошло за счёт гиперплазии фолликулов, вызванное усиленной стимуляцией В-лимфоцитов к бласттрансформации в герминативном центре лимфатического узла. К 14–21-м суткам данные показатели снижаются, но остаются выше контрольных. Доля паракортикальной зоны лимфатических узлов белых мышей во все сроки исследования не отличалась от показателей в контроле. На 7-е сутки отмечается повышение бластных клеток в реактивных центрах в 3,4 раза ($p < 0,05$) и макрофагов в 2,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

У животных, иммунизированных экспериментальным селенсодержащим соединением 974zh, в регионарном

лимфатическом узле на 7–14-е сутки исследования имело место незначительное увеличение коркового вещества – в 1,2–1,3 ($p < 0,05$) раза по сравнению с контролем.

В кортикальной зоне лимфатических узлов животных II группы на 3-и сутки отмечается увеличение макрофагов в 3,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, в I группе – в 1,4 раза. Максимальное увеличение объёма доли коркового вещества в лимфатических узлах белых мышей, как привитых *Y. pestis* EV, так и *Y. pestis* EV в сочетании с 974zh, приходится на 7-е сутки (рис. 2) исследования и составляет $47,2 \pm 0,8$ и $52,8 \pm 0,9$ %, что в 1,5 и 1,6 раза соответственно ($p < 0,05$) превышает контрольные значения. К 21-м суткам объёмная доля коркового вещества снижается, оставаясь значительно выше показателей в контроле. Доля паракортикальной зоны, которая является Т-зависимой зоной, на 7–14-е сутки исследования увеличена на 2,0–2,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями и на 1,5–1,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями I группы. Это свидетельствует об усилении антигензависимой дифференцировки и пролиферации Т-лимфоцитов.

В группе животных, иммунизированных *Y. pestis* EV, в мозговых тяжах лимфатических узлов, начиная с 3-х суток исследования, появляются проплазмциты и плазмциты, их максимальное количество приходится на 7-е сутки и составляет $20,9 \pm 0,6$ %, превышая показатели контрольной группы ($0,35 \pm 0,07$ %) в 59,6 раза ($p < 0,05$), что свидетельствует об иммунной перестройке органа в ответ на антигенную стимуляцию. К 21-м суткам количество плазмцитов статистически значимо снижается – до $6,94 \pm 0,53$ %, но превышает контрольные значения в 18,3 раза ($p < 0,01$) (рис. 3).

У животных, иммунизированных *Y. pestis* EV в сочетании с 974zh, на 3–7-е сутки отмечено увеличение содержания макрофагов и плазматических клеток в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с I группой. Максимальное их значение приходится на 7-е сутки и составляет $22,24 \pm 0,83$ % ($p < 0,05$) с последующим снижением к 21-м суткам до $9,07 \pm 0,53$ %.

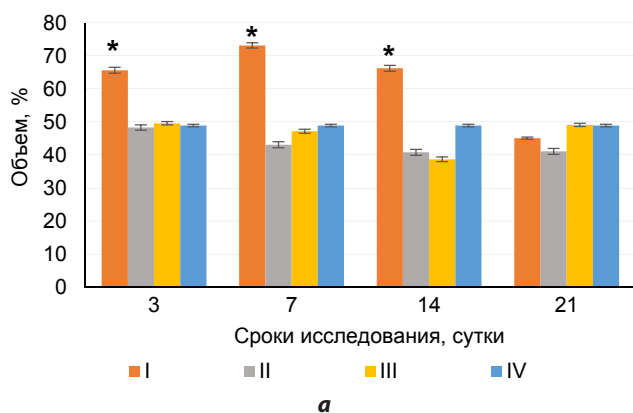


РИС. 1.
Соотношение объёмных долей мозгового (а) и коркового (б) вещества тимуса экспериментальных животных ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

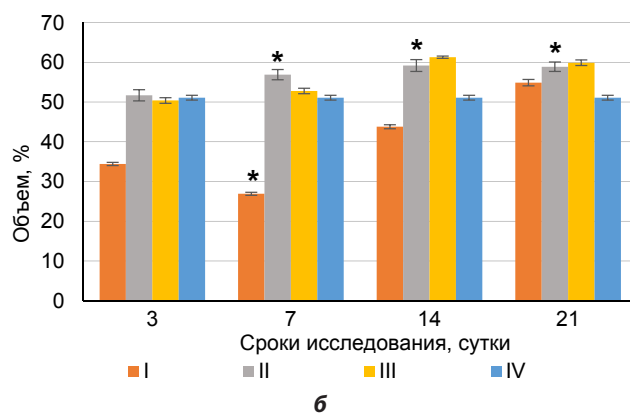


FIG. 1.
The ratio of the volume fractions of the medulla (а) and cortex (б) of the thymus of experimental animals ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

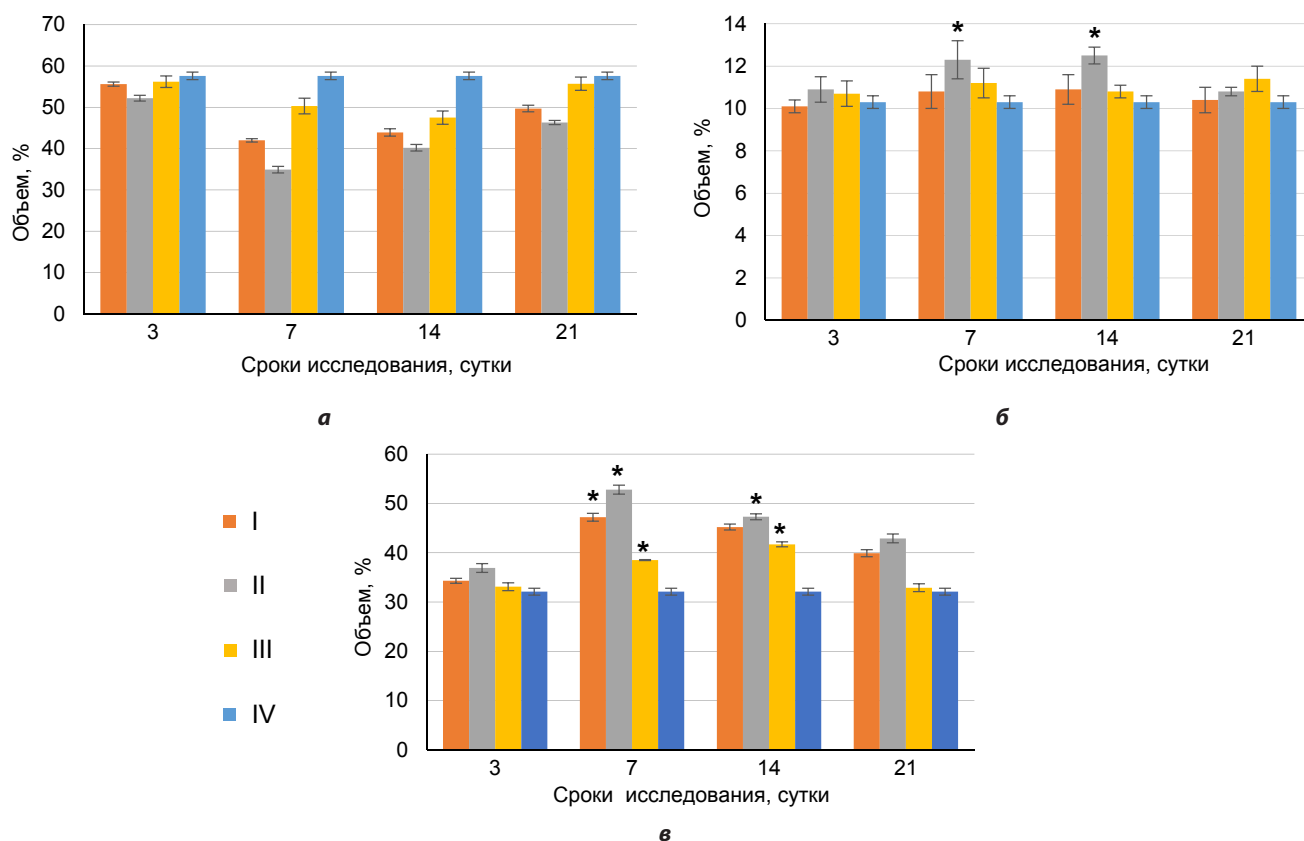


РИС. 2.

Соотношение мозгового вещества (а), паракортикальной зоны (б) и коркового вещества (в) лимфатических узлов экспериментальных животных ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 2.

The ratio of the medulla (а), paracortex (б) and cortex (в) of the lymph nodes in experimental animals ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

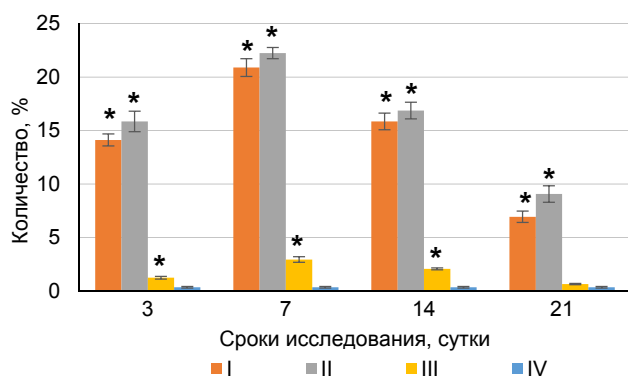


РИС. 3.

Показатели содержания плазматических клеток в мозговых тяжах регионарных лимфатических узлов экспериментальных животных, вакцинированных *Y. pestis* EV ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 3.

Indicators of the content of plasma cells in the medullary cords of regional lymph nodes of experimental animals vaccinated with *Y. pestis* EV ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

В реактивных центрах регионарных лимфатических узлов на 3–7-е сутки имеет место заметное увеличение бластных клеток в 4,2–4,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В мозговых тяжах установлено статистически значимое увеличение плазматических клеток. Максимальное их количество приходится на 7-е сутки (рис. 4а) и превышает показатели в I опытной группе (рис. 4б) на 3,9 % ($p < 0,05$), постепенно снижается к 21-м суткам до $9,1 \pm 0,5$ %, оставаясь при этом значительно выше, чем в контроле ($0,4 \pm 0,1$ %).

В селезёнке на 7-е сутки у животных I опытной группы установлено увеличение доли белой пульпы на 9,8 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, что может быть связано с гиперплазией фолликулов за счёт выраженного просветления реактивных центров, доля которых по отношению к общей площади фолликула за счёт пролиферации молодых форм клеток на 7-е сутки составила 13,5 %, что в 2,5 раза ($p < 0,05$) больше по сравнению с контрольной группой животных (табл. 1).

Расширение периартериальной зоны лимфоидного фолликула на 7–14-е сутки превышало контрольные значения в 1,3–1,7 раза ($p < 0,05$) соответственно за счёт малодифференцированных бластов. В эти сро-

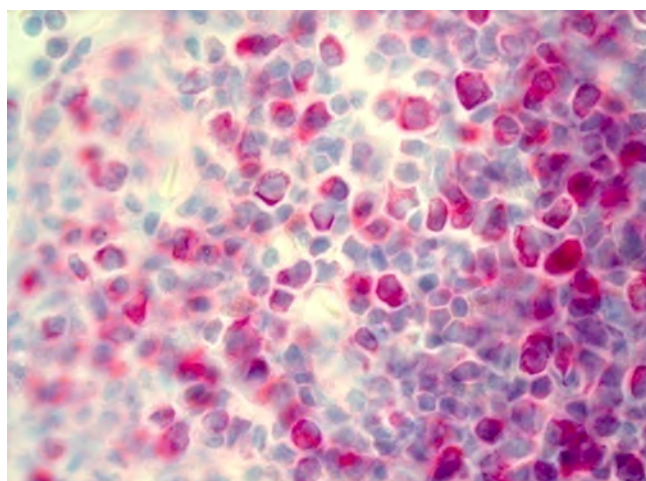


РИС. 4.

Микрофотография лимфатического узла белой мыши: **а** – *Y. pestis* EV + 974zh (7-е сутки), пролиферация плазмочитов и плазмобластов; **б** – *Y. pestis* EV (7-е сутки), увеличение плазматических клеток. Окраска по Браше. Ок. – 10х, об. – 40х

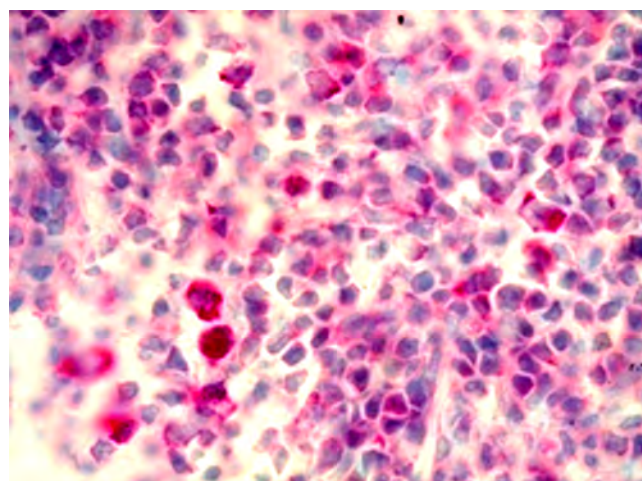


FIG. 4.

Microphotograph of the lymph node of a white mouse: **a** – immunized with *Y. pestis* EV + 974zh (7 days), proliferation of plasma-cytes and plasmoblasts; **b** – immunized with *Y. pestis* EV (7 days), increased plasma cells. Brachet staining; eyepiece – 10х, lens – 40х

ТАБЛИЦА 1

СООТНОШЕНИЕ ОБЪЕМНЫХ ДОЛЕЙ КРАСНОЙ И БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЁНКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ (M ± SD, %)

TABLE 1

THE RATIO OF THE VOLUME FRACTIONS OF THE RED AND WHITE PULP OF THE SPLEEN OF EXPERIMENTAL ANIMALS (M ± SD, %)

Антиген	Структурный компонент	Сроки (сутки)			
		3-и	7-е	14-е	21-е
<i>Y. pestis</i> EV	КП RP	67,1 ± 0,9	59,8 ± 0,6	63,2 ± 0,9	69,9 ± 0,8
	БП WP	32,9 ± 0,8	40,2 ± 0,5*	36,8 ± 0,7	30,1 ± 0,5
<i>Y. pestis</i> EV + 974zh	КП RP	66,8 ± 0,7	57,1 ± 0,6	59,8 ± 0,8	68,4 ± 0,5
	БП WP	33,2 ± 0,4	42,9 ± 0,9*	40,2 ± 0,6*	30,8 ± 0,4
974zh	КП RP	69,1 ± 0,9	68,7 ± 0,7	69,2 ± 0,5	69,4 ± 0,7
	БП WP	30,9 ± 0,4	31,3 ± 0,9*	30,8 ± 0,8	30,6 ± 0,4
Контроль	КП RP		69,6 ± 0,6		
	БП WP		30,4 ± 0,7		

Примечание. БП – белая пульпа; КП – красная пульпа; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

ки исследования также отмечалось статистически значимое увеличение доли мантийной зоны лимфоидного фолликула селезёнки, её показатели составили 42,1–45,1 %, что в 1,3–1,4 раза ($p < 0,05$) превышает контрольные значения.

В селезёнке белых мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV + 974 zh, выявлено увеличение соотношения объёмной доли белой пульпы, которое вызвано гиперплазией лимфоидных фолликулов в результате пролиферации бластных клеток в реактивных центрах. Максимальное увеличение белой пульпы селезёнки приходится на 7-е сутки исследования, пока-

затели на 12,5 % превышают контрольные значения и на 2,7 % – значения в I группе ($p < 0,05$). Следует отметить, что к 14-м суткам объёмная доля белой пульпы в II группе сокращается на 2,7 %, что в 1,3 раза меньше, чем в I группе.

В I группе животных, начиная с 3-х суток, отмечается увеличение количества клеток плазмочитарного ряда, максимальное число которых выявлено на 7-е сутки исследования $8,61 \pm 0,06$, что 19,4 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контрольной группе (рис. 5). К 21-м суткам этот показатель снизился, но превосходил значения в IV группе в 8,8 раза ($p < 0,05$).

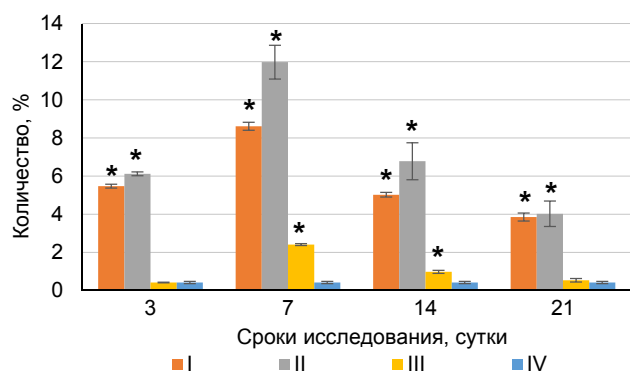


РИС. 5.

Доля плазматических клеток в селезёнке экспериментальных животных ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 5.

The share of plasma cells in the spleen of experimental animals ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared with control

Максимальное число клеток плазматического ряда у мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV + 974zh, приходится на 7-е сутки исследования и составляет $11,98 \pm 0,89$, что в 1,4 раза ($p < 0,05$) больше, чем в I опытной группе. К 21-м суткам установлено снижение данных показателей, которые были статистически значимо выше, чем в IV группе, но не имели статистически значимых различий с I группой (*Y. pestis* EV).

У животных, получивших экспериментальный препарат 974zh (III группа), по сравнению с контролем, на 14-е сутки отмечено увеличение периаартериальной зоны селезёнки в 1,2 раза, что связано с повышением числа

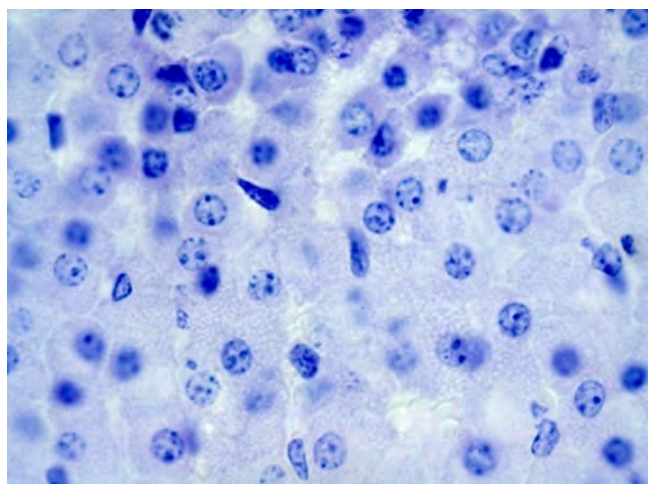
средних и малых лимфоцитов (в 1,7 раза при $p < 0,05$). Максимальное количество плазматических клеток, как в мантийной зоне, так и красной пульпе, отмечено к 7-м суткам и превосходило значения в контроле в 5,2 раза ($p < 0,01$).

При гистологическом исследовании в печени на 3–7-е сутки после иммунизации *Y. pestis* EV выявлены зернистая дистрофия органа (рис. 6а), полнокровие, в единичных случаях – мелкие кровоизлияния и образование субмиллиарных узелков (рис. 6б). В отдельных гепатоцитах ядра подвергнуты лизису, а граница печёночных клеток не везде чёткая. Также имеют место очаговая диффузная гиперплазия купферовских клеток и лимфогистиоцитарная инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов. К 21-м суткам данные изменения заметно нивелировались.

При просмотре гистологических срезов печени белых мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV в сочетании с 974zh, существенных изменений не отмечалось. Регистрировалась слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов и небольшая дистрофия (рис. 7).

Изменения в печени у животных, получивших экспериментальный препарат 974zh, по сравнению с контролем отсутствовали во все сроки наблюдения.

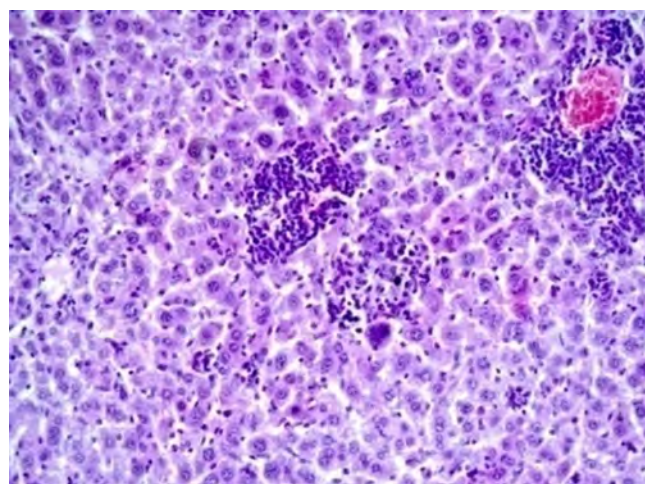
В надпочечниках белых мышей I группы на 3-и сутки исследования установлено увеличение объёмной доли коркового и снижение мозгового вещества (табл. 2). Толщина коркового слоя составила $79,3 \pm 1,7$ %, что выше значений в контроле на 8,5 % ($p < 0,05$). В корковом веществе заметно превалирует объём пучковой зоны на фоне снижения доли клубочковой – $9,8 \pm 0,6$ %, что ниже контроля на 4,4 % ($p < 0,05$). Это подтверждает участие надпочечников в системе стрессовых механизмов, оказывающих влияние на углеводный обмен и иммунную систему, а также на воспалительные и аллергические реакции [10].



а

РИС. 6.

Печень белой мыши, иммунизированной *Y. pestis* EV, (7-е сутки): а – зернистая дистрофия, гиперплазия купферовских клеток (окраска тионином; ок. – 10х, об. – 100х); б – полнокровие, инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов и образование узелков (окраска гематоксилином и эозином; ок. – 10х, об. – 20х)



б

FIG. 6.

Liver of a white mouse immunized with *Y. pestis* EV (7 days): а – granular dystrophy, hyperplasia of Kupfer's cells (thionine staining; eyepiece – 10х, lens – 100х); б – plethora, infiltration of cells around the blood vessel and the formation of nodules (staining with hematoxylin and eosin; eyepiece – 10х, lens – 20х)

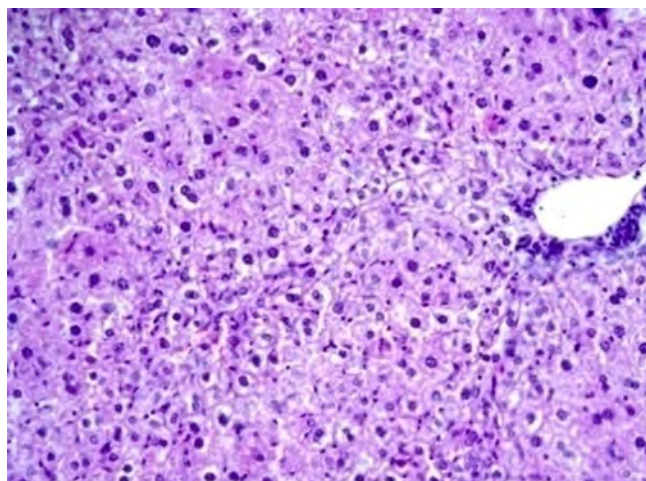


РИС. 7.
Печень белой мыши, иммунизированной *Y. pestis* EV + 974zh, (7 сутки). Небольшая инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. – 10х, об. – 20х

FIG. 7.
Liver of a white mouse immunized with *Y. pestis* EV + 974zh (7 days). Slight cell infiltration around the blood vessel. Staining with hematoxylin and eosin. Eyepiece – 10х, lens – 20х.

Максимальные изменения показателей соотношения объёмной доли коркового вещества в надпочечниках белых мышей выявлены в II группе на 7-е сутки наблюдения (табл. 2). При этом следует заметить, что гиперплазия коркового вещества у животных этой группы значительно ниже (на 3,3 %; $p < 0,05$), чем в I опытной группе, и составляет $76,8 \pm 1,5$ %. Увеличение доли коркового вещества в надпочечниках произошло за счёт снижения объёма клубочковой зоны, которая составила $12,8 \pm 0,4$ % от объёма коркового вещества. Доля объёма

пучковой зоны – $81,4 \pm 1,2$ %, что выше на 2,2 % ($p < 0,05$) значений в IV группе и ниже на 3,3 % ($p < 0,05$) показателей в I группе (*Y. pestis* EV).

Размер пучковой зоны у животных I опытной группы составил $84,7 \pm 1,6$ %, что превышает значение в контрольной группе на 5,5 % ($p < 0,05$). Объём сетчатой зоны на 7-е сутки незначительно увеличился и составил $8,5 \pm 0,5$ % (рис. 8). Следует отметить, что прослеживается отчётливая дифференцировка на зоны, для которых сохранена характерная архитектоника. На границе коркового и мозгового вещества обнаружены макрофаги. Начиная с 14-х суток данные изменения постепенно нивелируются и к 21-м суткам достигают контрольных значений.

Важно отметить, что у животных III группы объёмные доли надпочечников и процентное соотношение между их структурными зонами (клубочковой, пучковой, сетчатой) во все сроки наблюдения не отличались от контрольных значений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ полученных данных между группами экспериментальных животных показал, что совместное введение вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИ-ЭГ с препаратом 974zh усиливает морфологические изменения в тимусе за счёт увеличения объёма коркового вещества и пролиферации лимфоидных клеток. Экспериментальное селенсодержащее соединение вызывает усиленную бласттрансформацию в реактивных центрах фолликулов селезёнки и лимфатических узлов белых мышей, что приводит к пролиферации плазматических клеток. У экспериментальных животных, иммунизированных *Y. pestis* EV НИИЭГ совместно с препаратом 974zh, более выражена пролиферация антител-

ТАБЛИЦА 2
СООТНОШЕНИЕ КОРКОВОГО И МОЗГОВОГО СЛОЯ
НАДПОЧЕЧНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ
(M ± SD, %)

Антиген	Объёмная доля	Сроки (сутки)			
		3-и	7-е	14-е	21-е
<i>Y. pestis</i> EV	KB AC	$79,3 \pm 1,7^*$	$80,1 \pm 1,8^*$	$75,1 \pm 1,4$	$72,2 \pm 1,8$
	MB AM	$20,3 \pm 0,9$	$19,9 \pm 0,7$	$24,9 \pm 0,5$	$27,8 \pm 1,2$
<i>Y. pestis</i> EV + 974zh	KB AC	$72,4 \pm 1,4$	$76,8 \pm 1,5^*$	$73,1 \pm 1,6$	$71,9 \pm 1,9$
	MB AM	$27,6 \pm 0,7$	$23,2 \pm 0,9$	$26,9 \pm 0,8$	$28,1 \pm 1,2$
974zh	KB AC	$72,9 \pm 1,8$	$73,1 \pm 1,7$	$71,6 \pm 1,8$	$72,1 \pm 1,6$
	MB AM	$27,1 \pm 0,7$	$26,9 \pm 0,8$	$28,4 \pm 0,5$	$27,9 \pm 0,9$
Контроль	KB AC		$71,9 \pm 1,6$		
	MB AM		$28,1 \pm 0,9$		

Примечание. KB – корковое вещество; MB – мозговое вещество; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

TABLE 2
THE RATIO OF THE CORTICAL AND MEDULLARY LAYERS
OF THE ADRENAL GLANDS OF EXPERIMENTAL ANIMALS
(M ± SD, %)

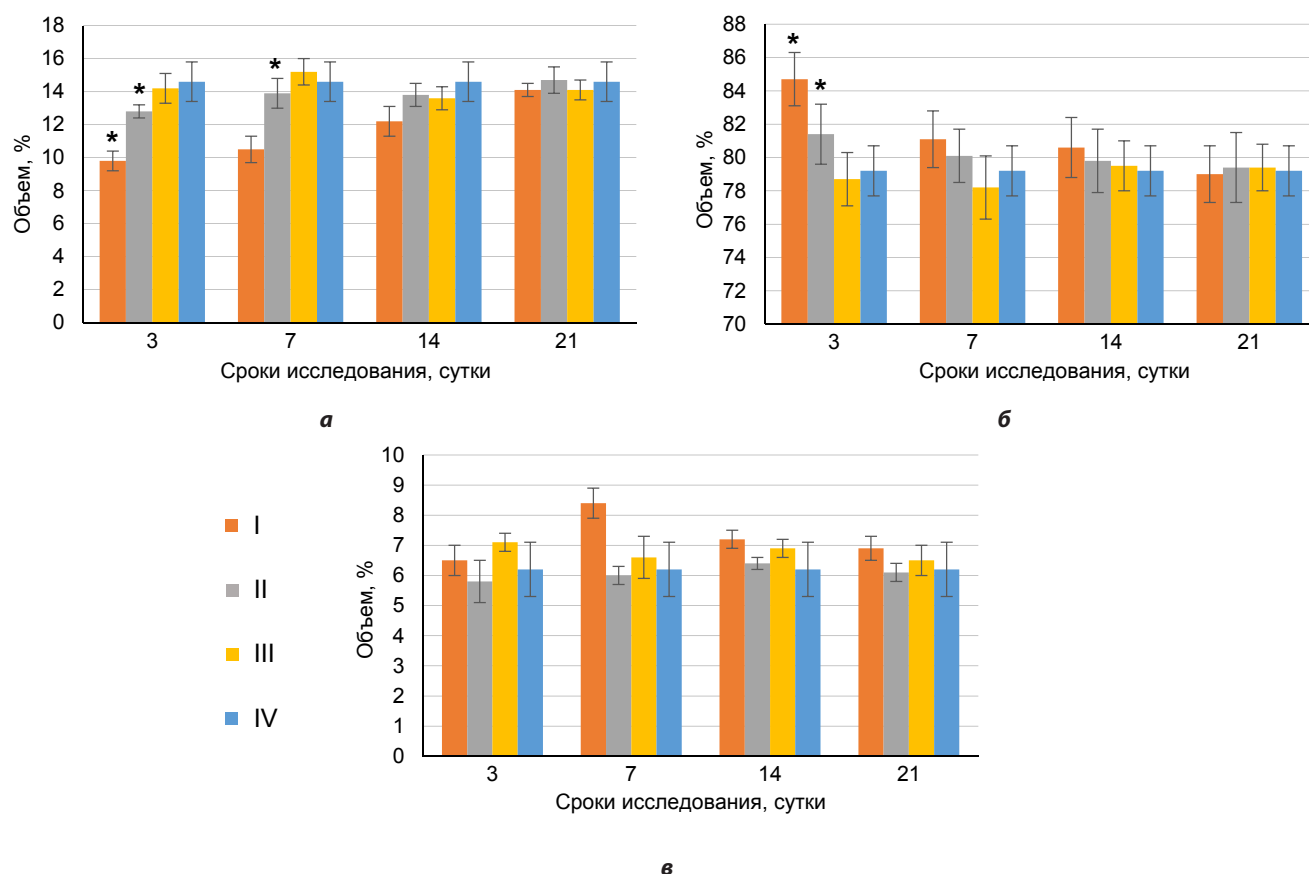


РИС. 8.

Соотношение объёмных зон (клубочковой (а), пучковой (б) и сетчатой (в)) коркового вещества надпочечников экспериментальных животных ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

в

FIG. 8.

The ratio of the volumetric zones (zona glomerulosa (a), zona fasciculate (б) and zona reticularis (в)) of the adrenal cortex of experimental animals ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

образующих клеток, которая может быть связана с пролонгирующим действием этого соединения на плазмочитарную реакцию.

Сравнительное изучение действия вакцинного штамма и сочетанного применения *Y. pestis* EV НИИЭГ с 974zh выявило различия в реакции иммунной системы биомодели, обусловленные механизмом действия селенсодержащего соединения. Установлено, что препарат 974zh при сочетанном использовании с *Y. pestis* EV НИИЭГ усиливает у экспериментальных животных реакцию со стороны иммунокомпетентных органов, оказывает антидистрофический эффект, способствует активации иммунного ответа и не оказывает повреждающего действия на ткани макроорганизма.

Экспериментальный препарат 974zh при сочетанном применении с *Y. pestis* EV НИИЭГ нивелирует негативные изменения, вызываемые вакцинным штаммом, в печени белых мышей. Сравнительный анализ структурных изменений в надпочечниках при морфометрическом исследовании опытных групп белых мышей указывает на способность препарата 974zh снижать стрессовые воздействия *Y. pestis* EV НИИЭГ на организм экспериментальных животных.

Результаты, полученные в ходе исследования, свидетельствуют о перспективности дальнейшей работы в данном направлении и накопления новых данных о воздействии экспериментального селенсодержащего препарата 974zh на организм экспериментальных животных.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Корытов К.М., Войткова В.В., Витязева С.А., Пятидесятникова А.Б. и др. Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы; под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. Саратов: Амирит; 2021.
2. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Шуковская Т.Н. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентных органов мышей линии Balb/c при иммунизации вакцинным *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции. Проблемы особо опасных инфекций. 2017; (2): 58-62. doi: 10.21055/0370-1069-2017-2-58-62

3. Юрьева О.В., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б. Перспективы использования синтетических селеноорганических соединений для коррекции метаболического и иммунного статуса при вакцинальных процессах, вызванных живыми аттенуированными вакцинами против особо опасных инфекций. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 60-69. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.6

4. Avery JC, Hoffmann PR. Selenium, selenoproteins and immunity. *Nutrients*. 2018; 10(9): 1203. doi: 10.3390/nu10091203

5. Mahdavi M, Mavandadnejad F, Yazdi MH, Faghfuri E, Hashemi H, Homayouni-Oreh S, et al. Oral administration of synthetic selenium nanoparticles induced robust Th1 cytokine pattern after HBs antigen vaccination in mouse model. *J Infect Public Health*. 2017; 10(1): 102-109. doi: 10.1016/j.jiph.2016.02.006

6. Potapov VA, Musalov MV, Musalova MV, Amosova SV. Recent advances in organochalcogen synthesis based on reactions of chalcogen halides with alkynes and alkenes. *Curr Organic Chem*. 2016; 20(2): 136-145. doi: 10.2174/1385272819666150810222454

7. Юрьева О.В., Дубровина В.И., Потапов В.А. Влияние синтетического селеноорганического препарата на степень патоморфологических изменений органов белых мышей, иммунизированных туляремийной и бруцеллезной вакцинами. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 168(7): 76-79.

8. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники*. СПб.: Спец. Лит; 2010.

9. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. *Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов*. М.: Медицина; 1996.

10. Киселев В.В., Каширина Н.К. Структура надпочечников белых крыс после введения ксеногенной спинномозговой жидкости до наступления полового созревания. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012; 15(2): 101-104.

REFERENCES

1. Balakhonov SV, Dubrovina VI, Korytov KM, Voytkova VV, Vityazeva SA, Pyatidesyatnikova AB, et al. *Specific prevention of plague: State and prospects*; ed. by Popova AYU, Kuttyrev VV. Saratov: Amirit Publishing House; 2021. (In Russ.).

2. Bugorkova SA, Kurylina AF, Shchukovskaya TN. Morphological-functional characteristics of immune competent organs of Balb/c mice in case of vaccination with *Yersinia pestis* N11EG strain against the background of immune modulation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017; 2: 58-62. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2017-2-58-62

3. Yurieva OV, Dubrovina VI, Pyatidesyatnikova AB. Prospects for the use of synthetic organoselenium compounds for the correction of metabolic and immune status during vaccination with live attenuated vaccines against especially dangerous infections. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 60-69. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.6

4. Avery JC, Hoffmann PR. Selenium, selenoproteins and immunity. *Nutrients*. 2018; 10(9): 1203. doi: 10.3390/nu10091203

5. Mahdavi M, Mavandadnejad F, Yazdi MH, Faghfuri E, Hashemi H, Homayouni-Oreh S, et al. Oral administration of synthetic selenium nanoparticles induced robust Th1 cytokine pattern after HBs antigen vaccination in mouse model. *J Infect Public Health*. 2017; 10(1): 102-109. doi: 10.1016/j.jiph.2016.02.006

6. Potapov VA, Musalov MV, Musalova MV, Amosova SV. Recent advances in organochalcogen synthesis based on reactions of chalcogen halides with alkynes and alkenes. *Curr Organic Chem*. 2016; 20(2): 136-145. doi: 10.2174/1385272819666150810222454

7. Yureva OV, Dubrovina VI, Potapov VA, Musalov MV, Starovoirova TP, Ivanova TA, et al. Influence of a synthetic seleno-organic preparation on the degree of athomorphological alterations in white mice immunized with tularemia and brucellosis vaccines. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 168(7): 76-79. (In Russ.).

8. Korzhevsky DE, Gilyarov AV. *Basics of histological technique*. Saint-Petersburg: Spetsialnaya literature Publishing House; 2010. (In Russ.).

9. Sarkisov DS, Perov YuL. *Microscopic technique: A guide for physicians and laboratory technicians*. Moscow: Medicine Publishing House, 1996. (In Russ.).

10. Kiselev VV, Kashirina NK. The structure of the adrenal glands of white rats after the introduction of xenogenic cerebrospinal fluid before the onset of puberty. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskii Vestnik*. 2012; 15(2): 101-104. (In Russ.).

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Юрьева Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Витязева Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, заведующая отделом микробиологии чумы, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: vityazeva.s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Иванова Татьяна Александровна – заведующая лабораторией экспериментальных животных, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6016-9610>

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Мухтургин Геннадий Борисович – кандидат медицинских наук, врач-бактериолог лаборатории экспериментальных животных, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0340-8584>

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: dubrovinavalya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Tatyana P. Starovoytova – Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Olga V. Yurieva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Svetlana A. Vityazeva – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Plague Microbiology, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: vityazeva.s@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Tatyana A. Ivanova – Head of the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6017-9610>

Konstantin M. Korytov – Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Gennady B. Mukhturgin – Cand. Sc. (Med.), Bacteriologist at the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0340-8584>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

КАРДИОЛОГИЯ CARDIOLOGY

ОЦЕНКА ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ АНТРАЦИКЛИНАМИ

Сумин А.Н.,
Щеглова А.В.,
Слепынина Ю.С.,
Иванова А.В.,
Поликутина О.М.

ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний»
(650000, г. Кемерово, Сосновый б-р, 6,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сумин Алексей Николаевич,
e-mail: an_sumin@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Побочным эффектом химиотерапии (ХТ) с включением препаратов антрациклинового ряда является кардиотоксичность. Необходимо выявление сердечной дисфункции на ранних стадиях, чтобы своевременно начать терапию.

Цель исследования. Изучить изменение показателей диастолической функции левого желудочка на фоне терапии антрациклинами у больных раком молочной железы (РМЖ).

Материал и методы. В исследование включено 40 женщин в возрасте от 35 до 72 лет с РМЖ, которым проводилась ХТ с включением препаратов антрациклинового ряда. Основная группа ($n = 40$) – женщины с РМЖ, обследованные при первичном контакте; эти же пациентки ($n = 37$) были обследованы через 6 месяцев; контрольная группа ($n = 25$) – женщин без РМЖ в анамнезе.

Результаты. В основной группе отмечено снижение скорости раннего диастолического движения кольца митрального клапана (e' lateral) ($p = 0,006$) и увеличение скорости позднего диастолического движения кольца митрального клапана (a' lateral) ($p = 0,033$). Соотношение E/e' lateral в основной группе было выше по сравнению с группой контроля ($p = 0,003$). В основной группе выявлены меньшие скорости раннего движения медиального сегмента фиброзного кольца митрального клапана (e' septal) по сравнению с группой контроля ($p = 0,0005$). При динамическом наблюдении отмечено увеличение скорости позднего движения медиального сегмента фиброзного кольца митрального клапана (a' septal) ($p = 0,01$) и большие значения отношения E/e' septal ($p = 0,011$). При множественной логистической регрессии на параметры E/A , e' lateral, e'/a' lateral, E/e' lateral влияли частота сердечных сокращений, психологический статус, возраст, наличие артериальной гипертензии, индекс массы тела, но не лечение антрациклинами. Суммарная доза антрациклинов независимо была ассоциирована с e' septal и E/e' septal: $F(4,18) = 16,466$ ($p < 0,001$; $R^2 = 0,775$) и $F(3,16) = 7,271$ ($p = 0,004$; $R^2 = 0,627$).

Заключение. У женщин, прошедших курс противоопухолевого лечения по поводу рака молочной железы с применением антрациклинов, отмечается ухудшение диастолической функции левого желудочка по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: дисфункция левого желудочка, противоопухолевая терапия, рак молочной железы, антрациклины

Статья получена: 23.11.2021

Статья принята: 17.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Сумин А.Н., Щеглова А.В., Слепынина Ю.С., Иванова А.В., Поликутина О.М. Оценка диастолической дисфункции левого желудочка при лечении больных раком молочной железы антрациклинами. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 121-133. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.13

ASSESSMENT OF LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION FOLLOWING ANTHRACYCLINE-BASED CHEMOTHERAPY IN BREAST CANCER PATIENTS

Sumin A.N.,
Shcheglova A.V.,
Slepynina Yu.S.,
Ivanova A.V.,
Polikutina O.M.

Kuzbass Cardiology Center
(Sosnovy blvd 6, Kemerovo 650002,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexey N. Sumin,
e-mail: an_sumin@mail.ru

ABSTRACT

Cardiotoxicity is a side effect of anthracycline-based chemotherapy. Clinical and prognostic significance of left ventricular diastolic dysfunction in heart failure patients is undeniable.

The aim. To assess dynamic changes in the left ventricular diastolic function after anthracycline-based chemotherapy (ANT) in breast cancer patients.

Material and methods. The study included 40 women aged 35 to 72 years with breast cancer (BC) undergoing ANT chemotherapy. The main group (n = 40) consisted of women with breast cancer examined at admission, after 6 months the same women (n = 37) were examined again. Women without breast cancer (n = 25) were used as the control group.

Results. Dynamic changes in mitral annular velocities were revealed by Doppler tissue imaging. Lateral early diastolic mitral annular velocity (e' lateral) was significantly lower in breast cancer patients as compared to the control group ($p = 0.031$). Six months after ANT chemotherapy, there was a definite increase in the lateral late diastolic mitral annular velocity (a' lateral) ($p = 0.033$). Average early diastolic transmitral flow velocity to early diastolic velocity (E/e' lateral) ratio was within the normative values in all groups, but E/e' lateral in the main group was higher compared to the control group ($p = 0.003$). In the main group, septal early diastolic mitral annular velocity (e' septal) was lower compared to the control group ($p = 0.0005$). Moreover, an increase in the septal mitral annular velocity (a' septal) ($p = 0.01$) and higher E/e' septal ratio ($p = 0.011$) were revealed during dynamic observation. Multiple logistic regression disclosed that E/A , e' lateral, e'/a' lateral, and E/e' lateral were affected by heart rate, psychological status, age, hypertension, and body mass index, but not anthracycline chemotherapy. The total dose of anthracycline was independently associated with e' septal and E/e' septal: $F(4.18) = 16.466$ ($p < 0.001$; $R^2 = 0.775$) and $F(3.16) = 7.271$ ($p = 0.004$; $R^2 = 0.627$).

Conclusion. Left ventricular diastolic function worsens in women undergoing anthracycline-based chemotherapy for breast cancer (lower e' , e'/a' lateral, and e' septal, higher E/e' septal ratio). However, anthracycline does not significantly affect LVEF and LV deformation indicators. E/e' septal and e' septal are independently associated with the total dose of anthracycline.

Key words: left ventricular dysfunction, anticancer therapy, breast cancer, anthracyclines

Received: 23.11.2021
Accepted: 17.05.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Sumin A.N., Shcheglova A.V., Slepynina Yu.S., Ivanova A.V., Polikutina O.M. Assessment of left ventricular diastolic dysfunction following anthracycline-based chemotherapy in breast cancer patients. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 121-133. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.13

На рак молочной железы приходится до 30 % всех новых диагнозов рака у женщин всех возрастов [1]. Антрациклины и таксаны являются традиционными химиотерапевтическими препаратами и остаются краеугольным камнем терапии рака молочной железы, при этом наиболее серьёзным побочным эффектом химиотерапии препаратами антрациклинового ряда является кардиотоксичность [2, 3]. Антрациклиновая кардиотоксичность ассоциирована с плохим прогнозом, а патогенетические методы лечения отсутствуют, поэтому необходимо выявление сердечной дисфункции на ранних стадиях, чтобы своевременно начать терапию сердечной недостаточности и избежать её прогрессирования [2]. Согласно действующим рекомендациям Европейского общества кардиологов (ESC), наличие кардиотоксичности препаратов антрациклинового ряда определяется при снижении фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) более чем на 10 % до значения ниже нижнего предела нормального (50 %) или относительного процентного снижения глобальной продольной деформации (GLS, global longitudinal strain) более чем на 15 % по сравнению с исходным значением [2]. При этом считается, что изменения GLS происходят раньше, чем изменения ФВЛЖ [4]. Кроме того, известно, что одним из проявлений кардиотоксичности является развитие диффузного интерстициального фиброза [5], что может ухудшать наполнение желудочков сердца. Как известно, диастолическая дисфункция левого желудочка (ЛЖ) имеет клиническое и прогностическое значение. Например, диастолическая дисфункция была связана с развитием в последующем сердечной недостаточности и с более высокой смертностью в популяционных когортах [6, 7], а также является проявлением сердечной недостаточности с сохранённой фракцией выброса [8]. Хотя развитие диастолической дисфункции может предшествовать изменениям ФВЛЖ и GLS, наличие диастолической дисфункции не входит в определение кардиотоксичности [2, 9]. Возможно поэтому исследований по оценке диастолической дисфункции левого желудочка на фоне противоопухолевой терапии не так много [10–13]. В недавнем метаанализе [14] приведены противоречивые данные как об изменении конкретных показателей диастолической функции на фоне химиотерапии, так и об их клинической значимости, подчеркнута необходимость дальнейших исследований в этой области. Это послужило основанием для проведения настоящего исследования, **целью** которого было изучить изменения показателей диастолической функции левого желудочка на фоне терапии антрациклинами у больных раком молочной железы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В настоящее исследование включено 40 женщин в возрасте от 35 до 72 лет ($51,0 \pm 11,0$ лет) с раком молочной железы (РМЖ), которым проводилась противоопухолевая терапия препаратами антрациклинового ряда, 34 (85 %) пациентки после оперативного лечения, 6 (15 %) – без предшествующей операции.

Критерии включения:

- подписанное информированное согласие;
- больные с морфологически верифицированным онкологическим заболеванием, которым проводилась противоопухолевая терапия, включающая антрациклины;
- пациенты, готовые и способные соблюдать расписание запланированных визитов.

Критерии исключения:

- отсутствие согласия больного на участие в исследовании;
- пациенты, перенёвшие инфаркт миокарда;
- пациенты с фибрилляцией предсердий;
- метастазы в центральную нервную систему;
- онкологические пациенты с терминальной стадией.

В основную группу ($n = 40$) исходно вошли все включённые пациентки с РМЖ, эти пациентки ($n = 37$) обследованы в динамике через 6 месяцев (три женщины отказались от участия в исследовании после первого обследования); в контрольную группу ($n = 25$) вошли женщины без РМЖ в анамнезе в возрасте 38–68 лет ($47,0 \pm 8,0$ лет). Перед назначением курса ХТ и после его завершения пациентки были обследованы на базе НИИ КПССЗ г. Кемерово. Перед началом исследования и через 6 месяцев проводился сбор клинико-анамнестических данных, проводилось ЭхоКГ-исследование, дополнительно оценивалась глобальная продольная деформация. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (заседание № 02 от 10.02.2020).

Для оценки жёсткости сосудистой стенки и показателей гемодинамики использовался сфигмоманометр «VaSeraVS-1000» (Fukuda Denshi, Япония). Аппаратом автоматически измерялся уровень артериального давления (АД) на руках и ногах с двух сторон, сердечно-лодыжечный сосудистый индекс (СЛСИ) и лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ).

Для выявления предрасположенности к развитию психологического дистресса (наличие типа личности Д) использовали опросник DS-14 [15]. Вопросы анкеты состоят из двух групп: низкая коммуникабельность и ориентация на негативные эмоции. Исследуемый относится к типу «Д» при наборе десять баллов и более в каждой группе вопросов.

Углублённая эхокардиография выполнялась на ультразвуковом аппарате Sonos 2500 (Hewlett Packard, США). Анализ левых отделов сердца включал оценку размеров и объёмных показателей левого желудочка, массы миокарда левого желудочка, толщины межжелудочковой перегородки в диастолу, толщины задней стенки левого желудочка в диастолу, максимального поперечного диаметра левого предсердия (ЛП) в диастолу и его объём [16]. ФВЛЖ измерялась в режиме 4 и 2 камер по методу Simpson. Функциональные показатели ЛЖ изучали в доплеровском режиме в диастолу: пиковую скорость раннего (Е) и позднего трансмитрального наполнения (А) ЛЖ и их отношение (Е/А), время изоволюметрической релаксации ЛЖ. С помощью спектральной тканевой доплерометрии изучались параметры, характеризующие

диастолическую функцию ЛЖ (e' sept, a' sept, e'/a' sept, E/e' sept, e' lateral, a' lateral, e'/a' lateral, E/e' lateral).

Для расчёта GLS выполнялась запись изображения из апикальной 4-камерной позиции в течение четырёх или шести сердечных циклов. Затем при помощи автоматического количественного анализа изображение ЛЖ подвергалось постобработке, что позволяло получить значения деформации для каждого сегмента и глобальной деформации ЛЖ в продольном, радиальном и циркулярном направлениях, а также площади деформации.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартного пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) и IBM SPSS Statistics 17.0 (IBM Corp., США). Проверку распределения количественных данных осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Учитывая, что распределение всех количественных признаков отличалось от нормального, они представлены в виде медианы и квартилей (25-го и 75-го перцентилей). Для сравнения групп применяли критерии Краскела – Уоллиса, Манна – Уитни и χ^2 . При малом числе наблюдений использовали точный критерий Фишера с поправкой Йетса. Для решения проблемы множественных сравнений использовали поправку Бонферрони. Пошаговый множественный линейный регрессионный анализ использовался для оценки взаимосвязи между показателями диастолической функции ЛЖ с клинико-анамнестическими показателями. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Таблица 1 отражает основные клинико-демографические и гемодинамические данные исследуемых пациенток. Группы были сопоставимы по возрасту и индексу массы тела (ИМТ). По частоте выявления сахарного диабета (СД) и артериальной гипертензии (АГ) группы статистически значимо не различались. Число женщин в менопаузе было статистически значимо больше в группе с РМЖ, чем в контрольной группе (у 80 и 16 % соответственно), что объясняется особенностями терапии данной патологии. При анализе показателей объёмной сфигмографии в группах сравнения медианы систолического (САД) и диастолического (ДАД) артериального давления были выше в основной группе у женщин с РМЖ ($p < 0,005$). Не наблюдалось различий между группами по медиане частоты сердечных сокращений (ЧСС), ЛПИ и количеству лиц с патологическим его значением. По результатам анкетирования тип личности Д был выявлен у 35,4 % от общего числа включённых в исследование, и в группах существенных различий выявлено не было.

При анализе основной группы превалировало поражение правой молочной железы (более 60 %). На момент включения в исследование и спустя 6 месяцев у большей части женщин РМЖ был в стадии IIA. В зависимости от стадии заболевания медиана курсов химиотерапии составила 5,5 [4,0; 6,0]. Суммарная доза антрациклинов составила более 400 мг/м², в комбинации с гормонотера-

ТАБЛИЦА 1
ИСХОДНЫЕ КЛИНИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ И ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРУПП СРАВНЕНИЯ

TABLE 1
BASELINE CLINICAL, DEMOGRAPHIC AND HEMODYNAMIC CHARACTERISTICS OF THE COMPARISON GROUPS

Показатель	Контрольная группа (n = 25)	Основная группа (n = 40)	p
Возраст (лет), Me [LQ; UQ]	47,0 [43,0; 51,0]	51,0 [45,5; 56,5]	0,139
ИМТ (кг/м ²), Me [LQ; UQ]	24,7 [22,6; 28,7]	27,8 [24,2–32,9]	0,071
АГ, n (%)	9 (36,0)	21 (52,5)	0,194
СД, n (%)	0	2 (5,0)	0,256
Менопауза, n (%)	4 (16,0)	32 (80,0)	< 0,001
САД (мм рт. ст.), Me [LQ; UQ]	129,5 [123,0; 137,0]	139,0 [123,0; 154,0]	0,018
ДАД (мм рт. ст.), Me [LQ; UQ]	77,0 [72,0; 84,0]	85,0 [76,0; 99,0]	< 0,001
ЧСС (уд./мин), Me [LQ; UQ]	66,0 [60,0; 75,0]	64,5 [58,0; 75,0]	0,905
СЛСИ справа, Me [LQ; UQ]	6,5 [6,0; 7,9]	7,15 [6,1; 8,05]	0,427
СЛСИ слева, Me [LQ; UQ]	6,6 [6,2; 7,8]	6,95 [5,95; 7,65]	0,901
ЛПИ справа, Me [LQ; UQ]	1,1 [1,03; 1,15]	1,105 [1,04; 1,15]	0,693
ЛПИ слева, Me [LQ; UQ]	1,08 [1,03; 1,15]	1,11 [1,05; 1,14]	0,507
Тип личности Д, n (%)	7 (28,0)	8 (20,0)	0,707
NA (баллы), Me [LQ; UQ]	9,0 [7,0; 12,0]	10,0 [6,0; 12,0]	0,874
SI (баллы), Me [LQ; UQ]	10,0 [6,0; 12,0]	9,0 [7,0; 12,0]	0,733

Примечание. NA – негативная возбудимость (negative affectivity); SI – социальное подавление (social inhibition).

пией исходно принимали 17,5 %, через полгода – 51,5 % женщин. Кроме того, пациенткам основной группы проводилась лучевая терапия. В сравниваемых группах лучевая нагрузка была сопоставима (табл. 2).

При сравнении показателей эхокардиографии (рис. 1) показатели, характеризующие глобальную пиковую продольную систолическую деформацию (GLPS, global longitudinal systolic peak strain) и ФВЛЖ, были со-

поставимы между группами во всех группах и находились в пределах нормативных значений.

Объёмные и линейные размеры левого и правого предсердий в изучаемых группах также не различались (табл. 3). При сравнении показателей, характеризующих размеры аорты, выявлено, что в основной группе синотубулярный переход аорты был статистически значимо больше по сравнению с группой контроля ($p = 0,013$).

ТАБЛИЦА 2
ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНОЙ ГРУППЫ

TABLE 2
CHARACTERISTICS OF THE MAIN GROUP

Показатель	Исходно (n = 40)	Динамика (n = 37)
<i>Локализация РМЖ</i>		
Рак правой молочной железы, n (%)	25 (62,5)	25 (67,6)
Рак левой молочной железы, n (%)	15 (37,5)	12 (32,4)
<i>Стадии РМЖ</i>		
Стадия I, n (%)	7 (17,5)	9 (24,3)
Стадия IIA, n (%)	16 (40,0)	13 (35,1)
Стадия IIB, n (%)	9 (22,5)	6 (16,2)
Стадия IIIA, n (%)	4 (10,0)	5 (13,5)
Стадия IIIB, n (%)	–	1 (2,7)
Стадия IIIC, n (%)	4 (10,0)	3 (8,2)
<i>Терапия</i>		
Лучевая терапия, n (%)	16 (40)	17 (45,9)
Доза лучевой терапии, Гр	50,0	50,0
Гормонотерапия, n (%)	7 (17,5)	19 (51,5)
Количество курсов химиотерапии, Ме [LQ; UQ]	5,5 [4,0; 6,0]	5,5 [4,0; 6,0]
Суммарная доза антрациклинов (мг/м ²), Ме [LQ; UQ]	419,0 [384,0; 500,0]	418,0 [371,0; 475,0]

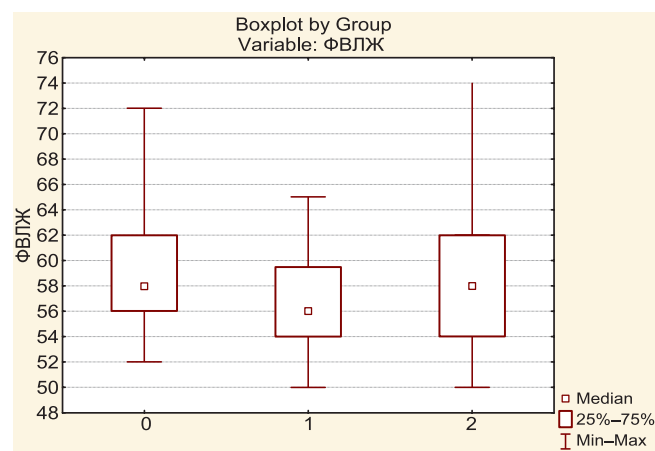


РИС. 1.
Показатели систолической (ФВЛЖ) и механической (GLPS) функции левого желудочка у больных раком молочной железы на фоне терапии антрациклинами и в контроле: 0 – контрольная группа; 1 – исходно; 2 – через 6 месяцев

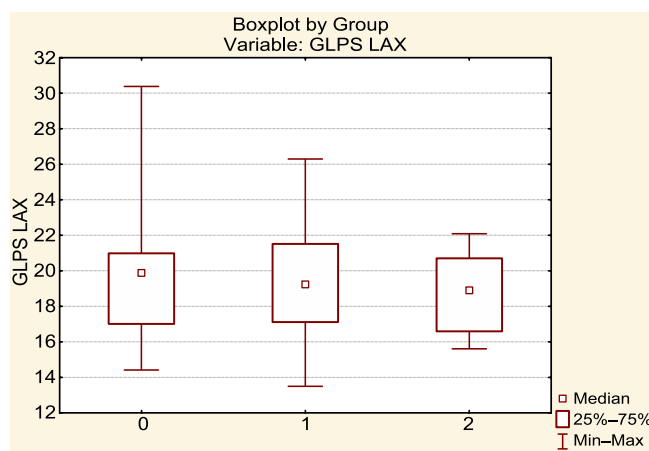


FIG. 1.
Indicators of systolic (LVEF) and mechanical (GLPS) functions of the left ventricle in breast cancer patients during anthracyclines therapy and in control: 0 – control; 1 – initial level; 2 – in 6 month

ТАБЛИЦА 3
СТРУКТУРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА
В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ

Показатели	Контрольная группа (n = 25)	Основная группа, исходно (n = 40)	Основная группа, через 6 мес. (n = 37)	p
ЛП (см), Ме [LQ; UQ]	3,5 (3,4; 3,7)	3,6 (3,4; 3,9)	3,7 (3,4; 4,1)	0,476
ЛП 4×1 размер, Ме [LQ; UQ]	4,0 (3,7; 4,2)	3,7 (3,6; 4,0)	3,9 (3,7; 4,1)	0,373
ЛП 4×2 размер, Ме [LQ; UQ]	4,7 (4,1; 4,8)	4,45 (4,0; 4,8)	4,6 (4,4; 5,0)	0,493
Объём ЛП (м ³), Ме [LQ; UQ]	33,0 (25,0; 35,0)	27,72 (24,7; 33,5)	29,14 (25,4; 35,4)	0,546
МЖП (см), Ме [LQ; UQ]	0,8 (0,8; 0,9)	0,8 (0,8; 0,9)	0,9 (0,8; 1,0)	0,316
ЗСЛЖ (см), Ме [LQ; UQ]	0,8 (0,7; 0,9)	0,8 (0,8; 0,9)	0,9 (0,8; 0,9)	0,108
Ао вальс. (см), Ме [LQ; UQ]	3,0 (2,9; 3,2)	3,1 (3,0; 3,4)	3,25 (2,8; 3,7)	0,172
Ао синот. (см), Ме [LQ; UQ]	2,4 (2,3; 2,6)	2,6 (2,4; 2,8)	2,6 (2,3; 2,9)	p = 0,044 p ₁₋₂ = 0,99 p ₁₋₃ = 0,013 p ₂₋₃ = 0,99
Ао восх. (см), Ме [LQ; UQ]	3,0 (2,7; 3,2)	3,2 (2,95; 3,4)	3,2 (3,0; 3,4)	0,499
ФВЛЖ (%), Ме [LQ; UQ]	58,0 (56,0; 62,0)	56,0 (54,0; 59,5)	58,0 (54,0; 62,0)	0,171

Примечание. ЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка; МЖП – толщина межжелудочковой перегородки; Ао синот. – синотубулярный переход аорты; Ао восх. – восходящий отдел аорты; Ао вальс. – синусы Вальсальвы аорты; p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – статистическая значимость различий между группами.

ТАБЛИЦА 4
ДИНАМИКА ГЛОБАЛЬНОЙ ПРОДОЛЬНОЙ
ДЕФОРМАЦИИ ЛЖ В ИЗУЧАЕМЫХ ГРУППАХ
В ПРОЦЕССЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Показатели	Контрольная группа (n = 25)	Основная группа, исходно (n = 40)	Основная группа, через 6 мес. (n = 37)	p
GLPS IVS, Ме [LQ; UQ]	16,7 [14,7; 19,0]	17,3 [14,6; 19,3]	16,0 [12,3; 19,0]	0,723
GLPS RVwt, Ме [LQ; UQ]	28,0 [24,3; 31,0]	27,45 [24,0; 31,3]	26,7 [19,7; 28,7]	0,296
GLPS LAX, Ме [LQ; UQ]	19,9 [17,0; 21,0]	19,25 [17,1; 21,5]	18,9 [16,6; 20,7]	0,662
GLPS A4C, Ме [LQ; UQ]	21,7 [19,8; 23,3]	20,7 [18,45; 22,5]	20,5 [18,5; 21,5]	0,215
GLPS A2C, Ме [LQ; UQ]	21,6 [19,2; 24,0]	21,05 [18,9; 22,3]	21,6 [19,2; 22,3]	0,691
GLPS Avg, Ме [LQ; UQ]	20,5 [19,0; 22,1]	19,8 [19,0; 21,95]	19,8 [18,4; 21,3]	0,333

Примечание. IVC – нижняя полая вена (inferior vena cava); RV – правый желудочек (right ventricle); RVwt – толщина стенки правого желудочка (right ventricle wall tension); LAX – длинная ось (long axis); A4C – апикальное четырёхкамерное сечение (apical 4 chamber); A2C – апикальное двухкамерное сечение (apical 2 chamber); GLPS Avg – усреднённая глобальная продольная деформация левого желудочка (average global longitudinal systolic peak strain).

Показатели, характеризующие продольную и глобальную деформацию, были сопоставимы между группами и не продемонстрировали статистически значимых различий ($p > 0,05$) (табл. 4).

В группе с РМЖ статистически значимо преобладало количество пациенток с наличием регургитации на митральном клапане (85 %), чем в контрольной группе (36 %) ($p = 0,0036$ и $p = 0,016$ при сравнении 1-й группы со 2-й и 3-й соответственно), однако выявленная регургитация не превышала 1-й степени. Данные импульсно-волновой доплерографии трансмитральных потоков и их соотношения в группах не различались.

Выраженные изменения тканевой доплерографии движения кольца митрального клапана представлены

на рисунке 2. Отмечено существенное снижение скорости раннего диастолического движения кольца митрального клапана (e' lateral) у больных с раком молочных желёз по сравнению с контрольной группой ($p = 0,031$ – при сравнении со 2-й группой; $p = 0,002$ – при сравнении с 3-й группой). Отмечено статистически значимое увеличение скорости позднего диастолического движения кольца митрального клапана (a' lateral) в динамике через полгода у женщин после ХТ ($p = 0,033$). Выявлено снижение в динамике соотношения скоростей движения фиброзного кольца митрального клапана (e'/a' lateral) у пациенток основной группы. Если вначале исследования отношение e'/a' lateral было сопоставимо между основной группой и группой контроля, то в динамике у жен-

ТАБЛИЦА 5
ПАРАМЕТРЫ ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ
И ТКАНЕВОГО ДОППЛЕРА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

TABLE 5
PARAMETERS OF DIASTOLIC FUNCTION
AND TISSUE DOPPLER OF THE LEFT VENTRICLE

Показатели	Контрольная группа (n = 25)	Основная группа, исходно (n = 40)	Основная группа, через 6 мес. (n = 37)	p
МК регург., n (%)	9 (36,0)	34 (85,0)	31 (85,7)	$p < 0,001$ $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,656$
E (см/с), Me [LQ; UQ]	71,0 [55,0; 84,0]	67,0 [50,0; 76,0]	57,0 [44,0; 78,0]	0,258
A (см/с), Me [LQ; UQ]	57,0 [52,0; 67,0]	62,0 [58,0; 70,0]	65,0 [52,0; 71,0]	0,296
E/A, Me [LQ; UQ]	1,16 [1,0; 1,35]	1,11 [0,76; 1,28]	0,93 [0,81; 1,19]	0,097
DT, Me [LQ; UQ]	134,5 [118,0; 145,5]	135,0 [125,0; 145,0]	145,0 [126,0; 163,0]	0,358
ВИР ЛЖ (мс), Me [LQ; UQ]	100,0 [90,0; 107,0]	105,5 [90,0; 125,0]	97,5 [89,0; 104,0]	0,270
e' lateral (см/с), Me [LQ; UQ]	13,0 [11,0; 14,0]	10,0 [7,0; 12,0]	10,0 [8,0; 14,0]	$p = 0,006$ $p_{1-2} = 0,031$ $p_{1-3} = 0,002$ $p_{2-3} = 0,746$
a' lateral (см/с), Me [LQ; UQ]	9,0 [8,0; 10,0]	8,0 [7,0; 11,0]	10,5 [9,0; 11,5]	$p = 0,046$ $p_{1-2} = 0,626$ $p_{2-3} = 0,033$ $p_{1-3} = 0,057$
e'/a' lateral, Me [LQ; UQ]	1,4 [1,22; 1,89]	1,25 [0,7; 1,71]	0,945 [0,655; 1,38]	$p = 0,02$ $p_{1-2} = 0,059$ $p_{1-3} = 0,014$ $p_{2-3} = 0,281$
E/e' lateral, Me [LQ; UQ]	5,22 [4,65; 6,45]	6,67 [5,43; 8,14]	5,605 [4,615; 7,05]	$p = 0,011$ $p_{1-2} = 0,003$ $p_{1-3} = 0,757$ $p_{2-3} = 0,055$
s' lateral (см/с), Me [LQ; UQ]	10,0 [9,0; 12,0]	10,0 [8,0; 11,0]	10,0 [8,0; 11,0]	0,198
e' septal (см/с), Me [LQ; UQ]	11,0 [9,0; 12,0]	8,0 [5,0; 10,0]	7,0 [6,0; 9,0]	$p = 0,0005$ $p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,776$
a' septal (см/с), Me [LQ; UQ]	9,0 [8,0; 10,0]	8,0 [7,0; 9,0]	9,5 [8,5; 11,0]	$p = 0,0223$ $p_{1-2} = 0,318$ $p_{1-3} = 0,062$ $p_{2-3} = 0,01$
E/e' septal, Me [LQ; UQ]	6,6 [6,2; 7,7]	8,4 [7,0; 10,0]	8,7 [6,8; 11,1]	$p = 0,0054$ $p_{1-2} = 0,003$ $p_{1-3} = 0,011$ $p_{2-3} = 0,960$
s' septal (см/с), Me [LQ; UQ]	8,0 [7,0; 9,0]	7,0 [6,0; 7,0]	8,0 [7,0; 8,5]	$p = 0,028$ $p_{1-2} = 0,027$ $p_{1-3} = 0,99$ $p_{2-3} = 0,034$

Примечание. МК регург. – регургитация на митральном клапане; E – скорость раннего диастолического наполнения левого желудочка; A – скорость позднего диастолического наполнения левого желудочка; E/A – отношение раннего и позднего диастолического трансмитрального потока; DT – время децелерации (замедления) (deceleration time); ВИР ЛЖ – время изоволюмического расслабления левого желудочка; e' – скорость раннего диастолического движения кольца митрального клапана; a' – скорость позднего диастолического движения кольца митрального клапана; e'/a' – отношение скорости раннего и позднего движения кольца митрального клапана; s' – скорость систолического движения кольца митрального клапана; E/e' – отношение скорости потока раннего наполнения левого желудочка к скорости раннего диастолического движения кольца митрального клапана; p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} – статистическая значимость различий между группами.

щин с онкологическими заболеваниями этот показатель был существенно ниже. Средние значения соотношения скорости раннего диастолического потока и раннего диастолического движения кольца митрального клапана (E/e' lateral) во всех группах находились в пределах нормативных значений, однако соотношение E/e' lateral у пациенток основной группы было выше по сравнению с группой контроля ($p = 0,003$). В основной группе выявлены меньшие скорости движения медиального сегмента фиброзного кольца митрального клапана (e' septal) по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). При динамическом наблюдении отмечено статистически значимое увеличение скорости позднего движения медиального сегмента фиброзного кольца митрального клапана (a' septal) ($p = 0,01$). Выявлены статистически значимо большие значения отношения E/e' septal у женщин, прошедших ХТ ($p < 0,05$), что косвенно свидетельствует о более высоком давлении в левом предсердии и диастолической дисфункции в этой группе.

Для уточнения взаимосвязи факторов с показателями диастолической функции ЛЖ (отношение E/A , e' lateral, e'/a' lateral, E/e' lateral, e' septal, E/e' septal) в модель множественной логистической регрессии включили следующие показатели: возраст, индекс массы тела, систолическое и диастолическое артериальное давление, ЧСС, сердечно-лодыжечный сосудистый индекс, лодыжечно-плечевой индекс, баллы по шкалам негативной возбудимости и социального подавления, наличие сопутствующей патологии (артериальная гипертензия, сахарный диабет), проведение лучевой, гормональной терапии, суммарная доза антрациклина.

При таком анализе оказалось, что с показателями диастолической функции ЛЖ были ассоциированы различные факторы (табл. 6). На обычно используемые параметры (отношение E/A , e' lateral, e'/a' lateral, E/e' lateral) влияли ЧСС, психологический статус, возраст, наличие артериальной гипертензии, индекс массы тела, но не ле-

чение антрациклинами. В то же время суммарная доза антрациклина независимо была ассоциирована с такими показателями как e' septal (наряду с проведением гормонотерапии, уровнем ДАД и наличием менопаузы) и E/e' septal (наряду с ДАД и жёсткостью артериальной стенки). В последних двух случаях модели обладали высокой статистической значимостью: $F(4,18) = 16,466$ ($p < 0,001$; $R^2 = 0,775$) и $F(3,16) = 7,271$ ($p = 0,004$; $R^2 = 0,627$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании показано, что у женщин, прошедших курс противоопухолевого лечения по поводу рака молочной железы с применением антрациклинов, отмечается ухудшение по сравнению с контролем диастолической функции левого желудочка при отсутствии общепринятых критериев развития кардиотоксичности (снижения фракции выброса ЛЖ и показателей его деформации).

Действительно, в ранее проведённых исследованиях было отмечено влияние терапии антрациклинами на показатели наполнения левого желудочка. Так, при лечении доксорубицином отмечалось постоянное ухудшение диастолической функции: диастолическая дисфункция ЛЖ выявлена в 60 % случаев через 1 год, у 70 % больных – через 2 года и 80 % – через 3 года [12]. Сходные данные при обследовании через год после начала терапии получены в исследовании J.M. Serrano et al. – у 57,6 % больных развилась диастолическая дисфункция левого желудочка, причём в 73 % случаев она была стойкой [10]. Ухудшение диастолической функции ЛЖ отмечалось и в более ранние сроки – через 3–6 месяцев терапии степень нарушения диастолической функции значительно увеличилась (с 46 до 57 %; $p < 0,001$) [11]. Данные нарушения являются стойкими. Так, через 7 лет после курса антрациклиновой химиотерапии у больных

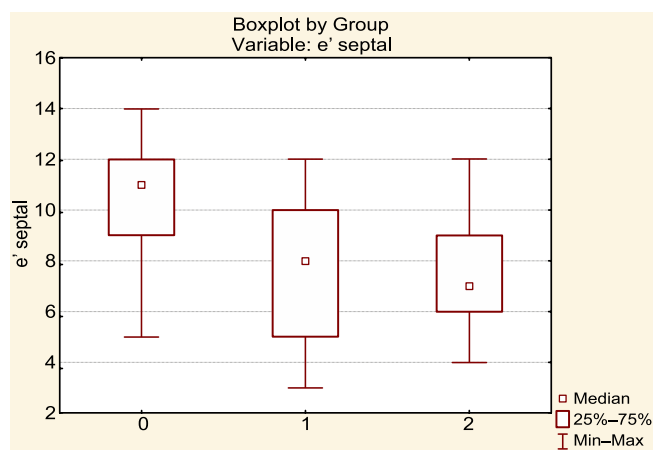


РИС. 2.

Показатели диастолической функции левого желудочка (e' septal и E/e' septal) у больных раком молочной железы на фоне терапии антрациклинами и в контроле: 0 – контрольная группа; 1 – исходно; 2 – через 6 месяцев

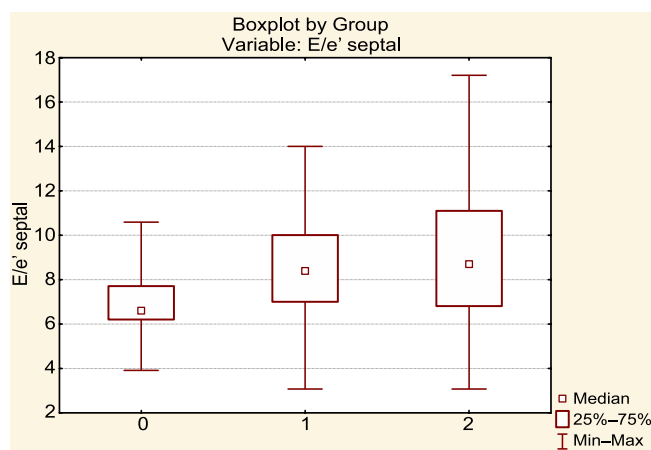


FIG. 2.

Indicators of left ventricular diastolic function (e' septal and E/e' septal) in breast cancer patients during anthracyclines therapy and in control: 0 – control; 1 – initial level; 2 – in 6 month

ТАБЛИЦА 6
ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ
ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА
(МНОЖЕСТВЕННЫЙ РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ)

TABLE 6
FACTORS ASSOCIATED WITH INDICATORS OF LEFT
VENTRICULAR DIASTOLIC FUNCTION (MULTIPLE
REGRESSION ANALYSIS)

Модель	Нестандартизированные коэффициенты		Стандартизированные коэффициенты	t	p	
	B	Станд. ошибка	Beta			
	E/A					
	(Constant)	−0,255	0,452		−0,564	0,582
	Менопауза	−0,554	0,055	−0,766	−10,03	< 0,001
	ЧСС	−0,023	0,003	−0,697	−7,280	< 0,001
	NA, баллы	0,035	0,006	0,601	6,282	< 0,001
	ЛПИ слева	3,560	0,458	0,782	7,766	< 0,001
	ИМТ	−0,046	0,006	−0,842	−7,705	< 0,001
	Лучевая терапия	0,286	0,063	0,503	4,514	< 0,001
	e'/a' lateral					
(Constant)	0,564	1,296		0,435	0,670	
Возраст	−0,046	0,009	−0,647	−5,126	0,000	
АГ в анамнезе	−0,591	0,126	−0,645	−4,680	0,000	
Тип личности Д	0,615	0,140	0,644	4,379	0,001	
ЛПИ слева	2,651	1,070	0,348	2,477	0,026	
	e' lateral					
	(Constant)	22,626	3,384		6,686	0,000
	САД, мм рт. ст.	−0,118	0,025	−0,803	−4,648	0,000
	NA, баллы	0,392	0,112	0,605	3,501	0,003
	E/e' lateral					
	(Constant)	−5,313	2,912		−1,825	0,087
	ЛПИ справа	7,117	2,194	0,449	3,243	0,005
	NA, баллы	−0,227	0,050	−0,704	−4,576	0,000
	САД, мм рт. ст.	0,044	0,011	0,596	3,875	0,001
	e' septal					
	(Constant)	27,142	2,929		9,266	0,000
	ДАД, мм рт. ст.	−0,147	0,026	−0,652	−5,624	0,000
	Менопауза	−3,150	0,795	−0,462	−3,964	0,001
	Гормонотерапия	−2,395	0,669	−0,416	−3,580	0,003
	Суммарная доза антрациклинов	−0,008	0,003	−0,269	−2,341	0,035
	E/e' septal					
	(Constant)	−12,625	4,757		−2,654	0,020
	ДАД, мм рт. ст.	0,116	0,034	0,602	3,454	0,004
Суммарная доза антрациклинов	0,011	0,004	0,445	2,619	0,021	
СЛСИ слева	0,841	0,352	0,417	2,390	0,033	

Примечание. NA – негативная возбудимость (negative affectivity); SI – социальное подавление (social inhibition).

неходжкинской лимфомой отмечались нарушения механической функции ЛЖ в раннюю диастолу по данным МРТ по сравнению с контрольной группой. При этом диастолические нарушения коррелировали с суммарной дозой антрациклина [13]. Полученные в настоящем исследовании данные согласуются с результатами предыдущих исследований, несмотря на то что для выявления нарушений наполнения ЛЖ были использованы разные диагностические подходы.

Чаще для оценки диастолической функции использовали показатели ЭХОКГ (анализ скоростей трансмитральных потоков наполнения и показателей тканевого Допплера). На фоне терапии доксорубицином отмечалось снижение отношения E/A , e' lateral и e' septal, возрастание отношения E/e' [10, 12]. Следует отметить, что в нашем исследовании наиболее информативными показателями диастолической функции оказались именно параметры тканевого Допплера. Другие данные приведены в метаанализе [14], в котором выявлено, что только отношение E/A было значительно снижено после курса антрациклиновой химиотерапии, а e' и отношение E/e' существенно не изменились. Возможными причинами различий является то, что показатели наполнения левого желудочка могут зависеть не только от кардиотоксического действия химиопрепаратов, но и от изменения преднагрузки, сердечного ритма, возраста и различий в методике измерения [9, 14]. Так, у онкологических больных на предварительную нагрузку может легко повлиять обезвоживание из-за нежелательных явлений со стороны желудочно-кишечного тракта во время химиотерапии [17]. Действительно, в настоящем исследовании только для показателей e' septal и E/e' septal отмечена независимая ассоциация с суммарной дозой антрациклина при множественном линейном регрессионном анализе, а для отношения E/A были отмечены ассоциации с возрастом и ЧСС. Судя по всему, требуется оценка диастолической функции с включением большего числа показателей для выявления наиболее информативных. Например, при проведении МРТ отмечено снижение показателей деформации миокарда в раннюю диастолу, что коррелировало с увеличением дозы антрациклина и снижением систолической функции [13].

Каково возможное клиническое значение оценки диастолической функции ЛЖ при проведении химиотерапии у онкологических больных? Результаты исследований остаются противоречивыми. С одной стороны, есть данные, что нарушение диастолической функции левого желудочка до лечения является независимым предиктором кардиотоксичности, опосредованной трастузумабом [18]. Соответственно, есть рекомендации о проведении оценки диастолической функции при эхокардиографии до начала химиотерапии у всех больных [19]. Также известно, что при нормальной диастолической функции после химиотерапии в дальнейшем не отмечалось снижения систолической функции ЛЖ [10], и что у пациентов с раком молочной железы, получающих антрациклины с трастузумабом или без него, диастолическая дисфункция предшествует систолической дисфункции и развитию кардиотоксического пораже-

ния сердца [11, 12, 20]. С другой стороны, авторы метаанализа считают, что текущие данные не могут поддерживать ни использование традиционных показателей диастолической функции ЛЖ для ранней диагностики кардиотоксичности антрациклинов, ни их использование в качестве предикторов кардиотоксичности [14]. Прежде всего, вследствие вышеприведённых соображений о различных факторах, влияющих на показатели наполнения левого желудочка, которые также по-разному ассоциированы с показателями диастолической функции, как показали результаты регрессионного анализа в нашем исследовании. Поэтому эксперты осторожны в своих рекомендациях и считают, что главным ориентиром в оценке кардиотоксичности всё же остаётся ФВЛЖ [9, 21]. Можно предположить, что для выявления ранних признаков кардиотоксичности противоопухолевой терапии целесообразна оценка дополнительных показателей диастолической функции не только левого, но и правого желудочка [22, 23], по-видимому, в сочетании с изучением патологии на клеточном, молекулярном уровнях [24], в том числе вклада генетического полиморфизма, эпигенетической и посттрансляционной регуляции [3].

Ограничением настоящего исследования является проведение его в одном центре, что снижает возможности распространения его результатов на другие когорты пациентов. Во-вторых, мы не оценивали степень диастолической дисфункции у пациентов, ограничиваясь только количественными показателями. Это сделано для максимальной сопоставимости с данными литературы, поскольку в большинстве предыдущих исследований использовали именно такой подход. В-третьих, в работе использован поперечный дизайн со сравнением показателей эхокардиографии как у больных раком молочной железы на фоне терапии антрациклином, так и в контрольной группе. Такой дизайн исследования допустим, как показывают другие исследования [13], однако допускает эффект смещения результатов из-за исходных различий групп по ряду дополнительных показателей. Поэтому мы использовали множественный регрессионный анализ, чтобы нивелировать такие влияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У женщин, прошедших курс противоопухолевого лечения по поводу рака молочной железы с применением антрациклинов, отмечается ухудшение диастолической функции левого желудочка по сравнению с контрольной группой: снижение e' и e'/a' lateral, e' septal, возрастание отношения E/e' septal. При этом не отмечено существенных изменений фракции выброса ЛЖ и показателей его деформации. Показатели e' septal и E/e' septal были независимо ассоциированы с суммарной дозой антрациклина. В последующих исследованиях целесообразна комплексная оценка с применением дополнительных параметров диастолической функции левого желудочка, биомаркеров и параметров эпигенетической регуляции в выявлении и прогнозировании развития кардиотоксичности химиотерапии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках поисковой научной темы НИИ КПССЗ 0419-2020-001 «Коморбидность при сердечно-сосудистых заболеваниях», финансируемой по Программе Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics 2021. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71(1): 7-33. doi: 10.3322/caac.21654
2. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016; 37(36): 2768-2801. doi: 10.1093/eurheartj/ehw211
3. Синицкий М.Ю., Цепокина А.В., Хуторная М.В., Понасенко А.В., Сумин А.Н. Генетические основы кардиотоксичности антрациклинов: обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 27-38. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.3
4. Potter E, Marwick TH. Assessment of left ventricular function by echocardiography: the case for routinely adding global longitudinal strain to ejection fraction. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018; 11(2 Pt 1): 260-274. doi: 10.1016/j.jcmg.2017.11.017
5. de Souza TF, Silva TQ, Antunes-Correa L, Drobni ZD, Costa FO, Dertkigil SSJ, et al. Cardiac magnetic resonance assessment of right ventricular remodeling after anthracycline therapy. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 17132. doi: 10.1038/s41598-021-96630-y
6. Shah AM, Claggett B, Kitzman D, Biering-Sørensen T, Jensen JS, Cheng S, et al. Contemporary assessment of left ventricular diastolic function in older adults: The atherosclerosis risk in communities study. *Circulation*. 2017; 135(5): 426-439. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024825
7. Playford D, Strange G, Celermajor DS, Evans G, Scalia GM, Stewart S, et al. The NEDA investigators, diastolic dysfunction and mortality in 436 360 men and women: The National Echo Database Australia (NEDA). *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2021; 22(5): 505-515. doi: 10.1093/ehjci/jeaa253
8. Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, Fraser AG, Anker SD, Donal E, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: A consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2019; 40(40): 3297-3317. doi: 10.1093/eurheartj/ehz641
9. Васюк Ю.А., Гендлин Г.Е., Емелина Е.И., Шупенина Е.Ю., Баллюзек М.Ф., Баринова И.В. и др. Согласованное мнение российских экспертов по профилактике, диагностике и лечению сердечно-сосудистой токсичности противоопухолевой терапии. *Российский кардиологический журнал*. 2021; 26(9): 4703. doi: 10.15829/1560-4071-2021-4703
10. Serrano JM, González I, Del Castillo S, Muñoz J, Morales LJ, Moreno F, et al. Diastolic dysfunction following anthracycline-

based chemotherapy in breast cancer patients: Incidence and predictors. *Oncologist*. 2015; 20(8): 864-872. doi: 10.1634/theoncologist.2014-0500

11. Boyd A, Stoodley P, Richards D, Hui R, Harnett P, Vo K, et al. Anthracyclines induce early changes in left ventricular systolic and diastolic function: A single centre study. *PLoS One*. 2017; 12(4): e0175544. doi: 10.1371/journal.pone.0175544

12. Upshaw JN, Finkelman B, Hubbard RA, Smith AM, Narayan HK, Arndt L, et al. Comprehensive assessment of changes in left ventricular diastolic function with contemporary breast cancer therapy. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020; 13(1 Pt 2): 198-210. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.07.018

13. Barbosa MF, Fusco DR, Gaiolla RD, Werys K, Tanni SE, Fernandes RA, et al. Characterization of subclinical diastolic dysfunction by cardiac magnetic resonance feature-tracking in adult survivors of non-Hodgkin lymphoma treated with anthracyclines. *BMC Cardiovasc Disord*. 2021; 21(1): 170. doi: 10.1186/s12872-021-01996-6

14. Mincu RI, Lampe LF, Mahabadi AA, Kimmig R, Rassaf T, Totzeck M. Left ventricular diastolic function following anthracycline-based chemotherapy in patients with breast cancer without previous cardiac disease: A meta-analysis. *J Clin Med*. 2021; 10(17): 3890. doi: 10.3390/jcm10173890

15. Пушкарев Г.С., Кузнецов В.А., Ярославская Е.И., Бессонов И.С. Надёжность и валидность русскоязычной версии шкалы DS14 у больных ишемической болезнью сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2016; (6): 50-54. doi: 10.15829/1560-4071-2016-6-50-54

16. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015; 28(1): 1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003

17. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: A report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014; 15(10): 1063-1093. doi: 10.1093/ehjci/jeu192

18. Cochet A, Quilichini G, Dygai-Cochet I, Touzery C, Toubreau M, Berriolo-Riedinger A, et al. Baseline diastolic dysfunction as a predictive factor of trastuzumab-mediated cardiotoxicity after adjuvant anthracycline therapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2011; 130(3): 845-854. doi: 10.1007/s10549-011-1714-9

19. Dobson R, Ghosh AK, Ky B, Marwick T, Stout M, Harkness A, et al. British Society of Echocardiography; British Society of Cardiology. British Society for Echocardiography and British Cardiology Society guideline for transthoracic echocardiographic assessment of adult cancer patients receiving anthracyclines and/or trastuzumab. *Echo Res Pract*. 2021; 8(1): G1-G18. doi: 10.1530/ERP-21-0001

20. Yu AF, Ho AY, Braunstein LZ, Thor ME, Lee Chuy K, Eaton A, et al. Assessment of early radiation-induced changes in left ventricular function by myocardial strain imaging after breast radiation therapy. *J Am Soc Echocardiogr*. 2019; 32(4): 521-528. doi: 10.1016/j.echo.2018.12.009

21. Curigliano G, Lenihan D, Fradley M, Ganatra S, Barac A, Blaes A, et al. Management of cardiac disease in cancer patients throughout oncological treatment: ESMO consensus recommendations. *Ann Oncol.* 2020; 31(2): 171-190. doi: 10.1016/j.annonc.2019.10.023
22. Sumin AN. Evaluating right ventricular function to reveal cancer therapy cardiotoxicity. *Russian Open Medical Journal.* 2021; 10(3): e0309. doi: 10.15275/rusomj.2021.0309
23. Sumin AN, Korok EV, Sergeeva TY. Impaired right ventricular filling in patients with a chronic coronary syndrome. *Med Ultrason.* 2021; 23(3): 311-318. doi: 10.11152/mu-2747
24. Yuzhalin AE. State-of-the-art technology for cardiovascular research. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021; 10(3): 103-108. doi: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-103-108

REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics 2021. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(1): 7-33. doi: 10.3322/caac.21654
2. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, et al. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016; 37(36): 2768-2801. doi: 10.1093/eurheartj/ehw211
3. Sinitsky MYu, Tsepokina AV, Khutornaya MV, Ponasenko AV, Sumin AN. Genetic basis of anthracyclines cardiotoxicity: Literature review. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(4): 27-38. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.3
4. Potter E, Marwick TH. Assessment of left ventricular function by echocardiography: the case for routinely adding global longitudinal strain to ejection fraction. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2018; 11(2 Pt 1): 260-274. doi: 10.1016/j.jcmg.2017.11.017
5. de Souza TF, Silva TQ, Antunes-Correa L, Drobni ZD, Costa FO, Dertkigil SSJ, et al. Cardiac magnetic resonance assessment of right ventricular remodeling after anthracycline therapy. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 17132. doi: 10.1038/s41598-021-96630-y
6. Shah AM, Claggett B, Kitzman D, Biering-Sørensen T, Jensen JS, Cheng S, et al. Contemporary assessment of left ventricular diastolic function in older adults: The atherosclerosis risk in communities study. *Circulation.* 2017; 135(5): 426-439. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024825
7. Playford D, Strange G, Celermajer DS, Evans G, Scalia GM, Stewart S, et al. The NEDA investigators, diastolic dysfunction and mortality in 436 360 men and women: The National Echo Database Australia (NEDA). *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2021; 22(5): 505-515. doi: 10.1093/ehjci/jeaa253
8. Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, Fraser AG, Anker SD, Donal E, et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: A consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2019; 40(40): 3297-3317. doi: 10.1093/eurheartj/ehz641
9. Vasyuk YuA, Gendlin GE, Emelina EI, Shupenina EYu, Bal-lyuzek MF, Barinova IV, et al. Consensus statement of Russian experts on the prevention, diagnosis and treatment of cardiotoxicity of anticancer therapy. *Russian Journal of Cardiology.* 2021; 26(9): 4703. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2021-4703
10. Serrano JM, González I, Del Castillo S, Muñoz J, Morales LJ, Moreno F, et al. Diastolic dysfunction following anthracycline-based chemotherapy in breast cancer patients: Incidence and predictors. *Oncologist.* 2015; 20(8): 864-872. doi: 10.1634/theoncologist.2014-0500
11. Boyd A, Stoodley P, Richards D, Hui R, Harnett P, Vo K, et al. Anthracyclines induce early changes in left ventricular systolic and diastolic function: A single centre study. *PLoS One.* 2017; 12(4): e0175544. doi: 10.1371/journal.pone.0175544
12. Upshaw JN, Finkelman B, Hubbard RA, Smith AM, Narayan HK, Arndt L, et al. Comprehensive assessment of changes in left ventricular diastolic function with contemporary breast cancer therapy. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2020; 13(1 Pt 2): 198-210. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.07.018
13. Barbosa MF, Fusco DR, Gaiolla RD, Werys K, Tanni SE, Fernandes RA, et al. Characterization of subclinical diastolic dysfunction by cardiac magnetic resonance feature-tracking in adult survivors of non-Hodgkin lymphoma treated with anthracyclines. *BMC Cardiovasc Disord.* 2021; 21(1): 170. doi: 10.1186/s12872-021-01996-6
14. Mincu RI, Lampe LF, Mahabadi AA, Kimmig R, Rassaf T, Totzeck M. Left ventricular diastolic function following anthracycline-based chemotherapy in patients with breast cancer without previous cardiac disease: A meta-analysis. *J Clin Med.* 2021; 10(17): 3890. doi: 10.3390/jcm10173890
15. Pushkarev GS, Kuznetsov VA, Yaroslavskaya EI, Bessonov IS. Reliability and validity of Russian version of DS14 score for ischemic heart disease patients. *Russian Journal of Cardiology.* 2016; (6): 50-54. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2016-6-50-54
16. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afila J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015; 28(1): 1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003
17. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: A report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2014; 15(10): 1063-1093. doi: 10.1093/ehjci/jeu192
18. Cochet A, Quilichini G, Dygai-Cochet I, Touzery C, Toubeau M, Berriolo-Riedinger A, et al. Baseline diastolic dysfunction as a predictive factor of trastuzumab-mediated cardiotoxicity after adjuvant anthracycline therapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011; 130(3): 845-854. doi: 10.1007/s10549-011-1714-9
19. Dobson R, Ghosh AK, Ky B, Marwick T, Stout M, Harkness A, et al. British Society of Echocardiography; British Society of Cardiology. British Society for Echocardiography and British Cardiology Society guideline for transthoracic echocardiographic assessment of adult cancer patients receiving anthracyclines and/or trastuzumab. *Echo Res Pract.* 2021; 8(1): G1-G18. doi: 10.1530/ERP-21-0001
20. Yu AF, Ho AY, Braunstein LZ, Thor ME, Lee Chuy K, Eaton A, et al. Assessment of early radiation-induced changes in left ventricular function by myocardial strain imaging after breast radiation therapy. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019; 32(4): 521-528. doi: 10.1016/j.echo.2018.12.009
21. Curigliano G, Lenihan D, Fradley M, Ganatra S, Barac A, Blaes A, et al. Management of cardiac disease in cancer patients

throughout oncological treatment: ESMO consensus recommendations. *Ann Oncol.* 2020; 31(2): 171-190. doi: 10.1016/j.annonc.2019.10.023

22. Sumin AN. Evaluating right ventricular function to reveal cancer therapy cardiotoxicity. *Russian Open Medical Journal.* 2021; 10(3): e0309. doi: 10.15275/rusomj.2021.0309

23. Sumin AN, Korok EV, Sergeeva TY. Impaired right ventricular filling in patients with a chronic coronary syndrome. *Med Ultrason.* 2021; 23(3): 311-318. doi: 10.11152/mu-2747

24. Yuzhalin AE. State-of-the-art technology for cardiovascular research. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2021; 10(3): 103-108. doi: 10.17802/2306-1278-2021-10-3-103-108

Сведения об авторах

Сумин Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией коморбидности при сердечно-сосудистых заболеваниях отдела клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: an_sumin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0963-4793>

Щеглова Анна Викторовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории коморбидности при сердечно-сосудистых заболеваниях отдела клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: nura.karpovitch@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4108-164X>

Слепынина Юлия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории лучевых методов диагностики отдела клинической кардиологии, врач функциональной диагностики отделения функциональной и ультразвуковой диагностики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: yulia-42@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7367-2620>

Иванова Анна Валерьевна – младший научный сотрудник лаборатории коморбидности при сердечно-сосудистых заболеваниях отдела клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: ivanav@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7993-5789>

Поликутина Ольга Михайловна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории лучевых методов диагностики отдела клинической кардиологии, заведующая отделением функциональной и ультразвуковой диагностики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: poliom@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7458-6962>

Information about the authors

Aleksey N. Sumin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Comorbidity in Cardiovascular Diseases, Department of Clinical Cardiology, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: an_sumin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0963-4793>

Anna V. Shcheglova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Comorbidity in Cardiovascular Diseases, Department of Clinical Cardiology, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: nura.karpovitch@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4108-164X>

Yulia S. Slepynina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Radiation Diagnostic Methods, Department of Clinical Cardiology, Physician of functional diagnostics, Department of Functional and Ultrasound Diagnostics, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: yulia-42@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7367-2620>

Anna V. Ivanova – Junior Research Officer at the Laboratory of Comorbidity in Cardiovascular Diseases, Department of Clinical Cardiology, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: ivanav@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7993-5789>

Olga M. Polikutina – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Radiation Diagnostic Methods, Department of Clinical Cardiology, Head of the Department of Functional and Ultrasound Diagnostics, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: poliom@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7458-6962>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ И АНТИБИОПЛЁНОЧНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА

Зайцева Ю.В.,
Егоров Д.О.,
Бегунов Р.С.,
Хлопотинин А.И.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный
университет им. П.Г. Демидова»
(150003, г. Ярославль, ул. Советская, 14,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Зайцева Юлия Владимировна,
e-mail: zjv9@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Соединения на основе конденсированных производных имидазола могут стать основой для разработки клинических терапевтических средств нового поколения для более эффективного лечения резистентных бактериальных инфекций человека. Для этого необходимо проведение исследований, включающих дизайн, синтез и скрининг биологически активных соединений этой группы.

Цель исследования. Изучение влияния полифункциональных производных бензимидазола на выживаемость культуры *Escherichia coli* AB1157 и её способность формировать биоплёнки.

Методы. Антибактериальную активность исследуемых соединений оценивали с использованием метода серийных разведений. Моделирование формирования биоплёнок производилось в лунках иммунологического планшета с последующим окрашиванием биомассы кристаллическим фиолетовым.

Результаты. Было продемонстрировано наличие ингибирующей активности у некоторых из исследуемых соединений на образование биоплёнок грамотрицательной бактерией *E. coli* AB1157. Наиболее выраженный ингибирующий эффект на биоплёнки *E. coli* AB1157 оказывал 5-бром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол. Уровень образования биоплёнок снижался в 2–4 раза в районе концентраций 15–60 мкг/мл и в 8–10 раз – при концентрациях 125 мкг/мл и выше.

Заключение. Представленная работа расширяет знания о биологической активности бензимидазолов. Полученные результаты показывают, что производные бензимидазолов являются хорошими кандидатами для разработки новых препаратов против биоплёнок. Полученные данные представляют практический интерес и нуждаются в дальнейшем изучении.

Ключевые слова: полифункциональные производные бензимидазола, биоплёнки, антибактериальная активность, *Escherichia coli*

Статья получена: 17.03.2022
Статья принята: 20.04.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Зайцева Ю.В., Егоров Д.О., Бегунов Р.С., Хлопотинин А.И. Антибактериальная и антибиоплёночная активность полифункциональных производных бензимидазола. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 134–141. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.14

ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF POLYFUNCTIONAL BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Zaitseva Yu.V.,
Egorov D.O.,
Begunov R.S.,
Khlopotin A.I.

P.G. Demidov Yaroslavl State University
(Sovetskaya str. 14, Yaroslavl 150003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Yulia V. Zaitseva,
e-mail: zjv9@mail.ru

ABSTRACT

Introduction. Compounds based on fused imidazole derivatives can become the basis for the development of a new generation of clinical therapeutic agents for more effective treatment of resistant human bacterial infections. This requires research, including the design, synthesis, and screening of biologically active compounds of this group.

The aim. To study the effect of polyfunctional benzimidazole derivatives on the survival of *Escherichia coli* AB1157 culture and its ability to form biofilms.

Methods. The antibacterial activity of the studied compounds was evaluated using the serial dilution method. Modeling of the formation of biofilms was carried out in the wells of an immunological plate with subsequent staining of the biomass with crystal violet.

Results. The inhibitory activity of some of the studied compounds on the formation of biofilms by the Gram-negative bacterium *E. coli* AB1157 was demonstrated. The most pronounced inhibitory effect on *E. coli* AB1157 biofilms was exerted by 5-bromo-2-(trifluoromethyl)-1-*H*-benzimidazole. The level of biofilm formation decreased by 2–4 times in the area of concentrations of 15–60 µg/ml and by 8–10 times at concentrations of 125 µg/ml and above.

Conclusion. The presented work expands the knowledge about the biological activity of benzimidazoles. The obtained results show that benzimidazole derivatives are good candidates for the development of new drugs against biofilms. The data obtained are of practical interest and need further study.

Key words: polyfunctional benzimidazole derivatives, biofilms, antibacterial activity, *Escherichia coli*

Received: 17.03.2022
Accepted: 20.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Zaitseva Yu.V., Egorov D.O., Begunov R.S., Khlopotin A.I. Antibacterial and antibiofilm activity of polyfunctional benzimidazole derivatives. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 134-141. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.14

ВВЕДЕНИЕ

В природной среде бактерии обитают преимущественно в составе биоплёнок. Биоплёнка представляет собой структурированное микробное сообщество, которое может включать один или несколько видов микроорганизмов, адгезирующих на биогенных и абиогенных поверхностях и окружённых сложноорганизованным внеклеточным полимерным матриксом [1, 2].

Способность бактерий существовать в форме биоплёнок играет важную роль в адаптации бактерий к неблагоприятным факторам окружающей среды, таким как изменение температуры, pH, осмотическое давление, окислительный стресс и ограниченные условия питания, а также способствует процессам роста, размножения и патогенеза. Согласно последним данным, микроорганизмы, входящие в состав биоплёнок, в отличие от планктонных клеток, в 10–10 000 раз более устойчивы к действию антибактериальных препаратов. Кроме того, биоплёнки способны противостоять ответу иммунной системы организма-хозяина за счёт недоступности бактерий в матрике для действия антител и фагоцитарных клеток [1, 3]. Образование бактериальных биоплёнок на имплантируемых устройствах (например, катетерах, искусственных суставах, клапанах сердца, линзах и др.) является причиной ряда тяжёлых, чрезвычайно трудно излечиваемых хронических заболеваний [2, 4].

Традиционные антибиотики и дезинфицирующие средства способны подавлять рост планктонных бактерий, но часто неэффективны против биоплёнок. Бактерии быстро развивают устойчивость к такому лечению. Следовательно, крайне важно определить новые стратегии борьбы с инфекцией, связанной с биоплёнками. Для эффективного лечения таких инфекций необходим скрининг биоплёнок-активных, чувствительных и хорошо проникающих антибиотиков.

Недавно было обнаружено, что соединения на основе конденсированных производных имидазола могут предотвращать образование бактериальной биоплёнки у грамотрицательных и грамположительных бактериальных патогенов, включая *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, на различных типах поверхностей [5–8]. Кроме того, они являются первыми соединениями, которые, как было выявлено, снижают образование устойчивых к антибиотикам клеток-персистеров (метаболически неактивные бактериальные клетки, которые не растут и не умирают под воздействием бактерицидных концентраций антибиотиков). Таким образом, молекулы на основе конденсированных производных имидазола могут стать основой разработки клинических терапевтических средств следующего поколения для более эффективного лечения резистентных бактериальных инфекций человека [9]. Однако работы в этой области единичны, и, несомненно, необходимы дополнительные исследования, включающие дизайн, синтез и скрининг биологически активных соединений этой группы.

Целью данного исследования являлось изучение влияния ряда производных бензимидазола, часть из ко-

торых ранее в литературе не описана, на выживаемость культуры *Escherichia coli* AB1157 и её способность формировать биоплёнки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Производные бензимидазолов

Синтез соединений **1–3** и **11** проводили кипячением бензол-1,2-диамина в муравьиной (получение бензимидазола **1**), уксусной в присутствии HCl (**2**), трифторуксусной (**3**) кислотах и 4,5-диметилбензол-1,2-диамина в муравьиной кислоте (**11**). 2-Бензил-1-*H*-бензимидазол (**4**) был выделен из коммерческого препарата дибазол. Введение атомов галогенов и нитрогрупп в 2-(трифторметил)-1-*H*-бензимидазол осуществляли в ходе реакции ароматического электрофильного замещения в серной кислоте с бромсукцинимидом (получение соединения **5**), с хлорсукцинимидом (**6**) и смесью $\text{KNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (**7** и **8**). Морфолинсодержащие структуры **9** и **10** были получены замещением атомов галогенов в соответствующих дигалогенпроизводных. Синтез *N*-арилзамещённых бензимидазолов **13** и **14** осуществляли при 120 °C в реакции $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ 2-(трифторметил)-1-*H*-бензимидазола с 2,4-динитрохлор- и 5,6-дихлор-2-(трифторметил)-1-*H*-бензимидазола с 2-нитро-4-(трифторметил)хлорбензолом.

Штаммы и условия культивирования

Биологическую активность *in vitro* оценивали в отношении грамотрицательной бактерии *E. coli* AB1157. Штамм *E. coli* AB1157 получен из коллекции Института молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (Москва). Штамм *E. coli* AB1157 выращивали на жидкой среде LB по Miller («ДиаМ», Россия) при 37 °C.

Оценка антибактериальной активности

Антимикробную активность исследуемых соединений оценивали с использованием метода серийных разведений [10]. Тестирование методом серийных разведений проводили в стерильных 96-луночных планшетах для иммунологических исследований в объёме 0,2 мл с конечной концентрацией исследуемого микроорганизма примерно 10^6 КОЕ/мл. Тестируемые соединения готовили в ДМСО, конечная концентрация которого не превышала 0,05 %. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) была определена как концентрация тестируемого соединения, которая полностью подавляла рост бактерий после 24 часов инкубации при 37 °C. Рост бактерий определяли путём измерения поглощения при 600 нм с использованием планшетного фотометра iMark (Bio-Rad). Эксперименты проводились в 4-кратной повторности для каждого разведения антибактериального препарата. Все эксперименты проводились трижды.

Анализ бактериальных биоплёнок

Свежую культуру *E. coli* AB1157 высевали в среду LB и инкубировали при аэрации в течение 24 часов при температуре 37 °C. Затем культуру разбавляли в 300 раз в среде LB. Для измерения уровня образования био-

плёнок культуры выращивали в полистироловых планшетах с добавлением исследуемых соединений (не более 10 % от общего объёма) и при постоянном перемешивании в шейкер-инкубаторе BiosanES-20 при температуре 37 °C. Продолжительность роста клеток 24 часа была оптимальной для формирования биоплёнок; после этого времени уровень образования биоплёнок не изменялся, или даже несколько уменьшался. Далее определяли рост планктонных, т. е. неприкреплённых, клеток (ОП₆₀₀). Уровень образования биоплёнок оценивали после удаления среды, трёхкратной промывки ячеек водой и окрашивания прикреплённых клеток красителем кристаллический фиолетовый (в течение 40 минут). После окрашивания жидкость удаляли, ячейки промывали три раза дистиллированной водой. Краситель из биоплёнок экстрагировали 96%-м этанолом (в течение 40 минут), оптическую плотность раствора измеряли при 600 нм. Для измерения использовали Microplate Reader Model 2550 (Bio-Rad, США).

Влияние производных бензимидазола на планктонный рост клеток и биоплёнки оценивалось сравнением выборок из восьми повторностей и контроля, за который принималась культура без добавления исследуемых соединений. Для оценки результатов каждого опыта была сделана поправка на оптическую плотность исследуемых соединений.

Математическая обработка данных

Статистическая обработка полученных в ходе эксперимента данных включала вычисление описательных статистик (среднее арифметическое, стандартное отклонение, 95-процентный доверительный интервал для среднего значения), применение критериев статистической значимости и дисперсионного анализа. Для обнаружения статистически значимых различий между средними значениями признака в двух независимых выборках нами применялся t-критерий Стьюдента (t-test, independent, byvariables). Т-критерий Стьюдента использовался при условии нормального распределения и статистически незначительного отличия дисперсий сравниваемых признаков. В качестве критического уровня значимости в нашей работе было принято значение $p = 0,05$. Статистический анализ данных проводился при помощи программ Statistica (StatSoft Inc., США) и Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для исследований использовали широкий ряд производных бензимидазола, содержащих заместители различной электронной природы. Данные функциональные группы являются хорошо известными фармакофорными фрагментами, часто присутствующими в биологически активных соединениях.

Ряд замещённых бензимидазолов (14 соединений, рис. 1) подвергали скринингу на антибактериальную и антибиоплёночную активность в отношении штамма *E. coli* AB1157. Антимикробную активность исследуемых соединений оценивали с использованием метода серийных разведений. Для работы использовали разведения исследуемых веществ от 0,003 до 1 мг/мл. Как видно из данных таблицы (табл. 1), большинство исследованных соединений не оказывают выраженного антибактериального действия на грамотрицательный штамм *E. coli* AB1157. Значение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) для большинства исследуемых производных бензимидазола составило 1000 мкг/мл.

Соединения **5** и **14** проявляли некоторую активность против *E. coli* AB1157, ингибируя рост бактерий на 40–50 % при концентрациях 500 и 250 мкг/мл соответственно. Соединения **4** и **7** проявили наиболее выраженную антибактериальную активность, демонстрируя ингибирование роста более чем на 90 % при концентрации 125 мкг/мл и выше.

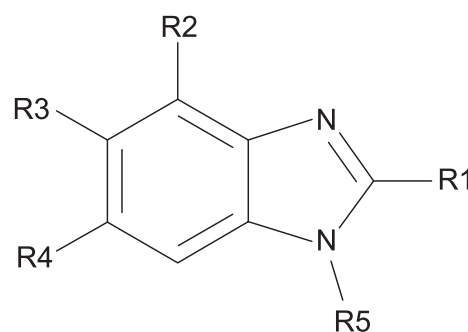


РИС. 1.

Структура исследуемых производных бензимидазола

FIG. 1.

Structure of the studied benzimidazole derivatives

- 1) $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=H$; 2) $R_1=CH_3$, $R_2=R_3=R_4=R_5=H$; 3) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=R_4=R_5=H$; 4) $R_1=CH_2Ph$, $R_2=R_3=R_4=R_5=H$; 5) $R_1=CF_3$, $R_3=Br$, $R_2=R_4=R_5=H$; 6) $R_1=CF_3$, $R_3=R_4=Cl$, $R_2=R_5=H$; 7) $R_1=CF_3$, $R_3=R_4=NO_2$, $R_2=R_5=H$; 8) $R_1=CF_3$, $R_3=NO_2$, $R_2=R_4=R_5=H$; 9) $R_1=CF_3$, $R_3=Cl$, $R_4=N(CH_2CH_2)_2O$, $R_2=R_5=H$; 10) $R_1=C_2H_5$, $R_3=Cl$, $R_4=N(CH_2CH_2)_2$, $R_2=R_5=H$; 11) $R_1=R_2=R_5=H$, $R_3=R_4=CH_3$; 12) $R_1=R_5=H$, $R_2=NO_2$, $R_3=R_4=CH_3$; 13) $R_1=CF_3$, $R_2=R_3=R_4=H$, $R_5=2,4-NO_2Ph$; 14) $R_1=CF_3$, $R_3=R_4=Cl$, $R_2=H$, $R_5=2-NO_2-CF_3-Ph$.

Моделирование формирования биоплёнок производилось *in vitro* в лунках иммунологического планшета с последующим окрашиванием биомассы кристаллическим фиолетовым. Соединения, которые показали наиболее выраженную антибактериальную активность, демонстрировали лучшие результаты и в отношении ингибирования биоплёнок *E. coli* AB1157. При действии 5,6-диметил-1-*H*-бензимидазола (**11**) уровень образования биоплёнок *E. coli* AB1157 снижался в 2–4 раза в районе концентраций 125–250 мкг/мл и в 8–10 раз при концентрациях 500 мкг/мл и выше по сравнению с биоплёнками, сформированными в отсутствие этого соединения (рис. 2а). Соединение **8** вызывало резкое снижение биомассы биоплёнок *E. coli* AB1157 в 4–8 раз при концентрациях 125 мкг/мл и выше (рис. 2б).

ТАБЛИЦА 1

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ
БЕНЗИМИДАЗОЛА

TABLE 1

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BENZIMIDAZOLE
DERIVATIVES

№	Соединение	МИК, мкг/мл
1	1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
2	2-метил-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
3	2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
4	2-бензил-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
5	5-бром-2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	125
6	5,6-дихлор-2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	500
7	5,6-динитро-2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
8	5-нитро-2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	125
9	5-хлор-2-(трифторметил)-6-морфолин-4-ил-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
10	5-хлор-2-этил-6-морфолин-4-ил-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
11	5,6-диметил-1- <i>H</i> -бензимидазол	500
12	4-нитро-5,6-диметил-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
13	1-(2,4-динитрофенил)-2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000
14	5,6-дихлор-1-[2-нитро-4-(трифторметил)фенил]-2-(трифторметил)-1- <i>H</i> -бензимидазол	> 1000

Интересно, что при концентрациях, не подавляющих или слабо подавляющих рост бактерий, эти и некоторые другие исследованные соединения (**1**, **2** и **4**) стимулировали формирование биоплёнок. Подобный эффект стимуляции образования биоплёнок при действии субингибиторных концентраций был показан ранее и для некоторых известных антибактериальных препаратов, например аминогликозидов [11] и нитрофуранов [12]. Усиление образования биоплёнок при концентрациях антибактериальных препаратов, не подавляющих рост бактерий, вероятно, представляет собой полезную стратегию для патогенных бактерий, облегчая их выживаемость после интенсивной антибактериальной терапии, когда небольшие количества препаратов остаются в организме.

Наиболее выраженный ингибирующий эффект на биоплёнку *E. coli* AB1157 оказывал 5-бром-2-(трифторметил)-1-*H*-бензимидазол (**5**). Уровень образования биоплёнок снижался в 2–4 раза уже в районе концентраций 15–60 мкг/мл и в 8–10 раз при концентрациях 125 мкг/мл и выше по сравнению с биоплёнками, сформированными в отсутствие этого соединения (рис. 2в).

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы активно ведётся скрининг различных соединений, влияющих на процессы биоплёнокообразования. Формирование биоплёнки является важным фактором, способствующим развитию бактериальной инфекции. Образование биоплёнок патогенными

бактериями является серьёзной проблемой антибактериальной терапии [2, 4]. Существует жизненная необходимость в разработке новых антибактериальных средств с новыми механизмами действия.

Бензимидазолы и их аналоги – известные биологически активные азотсодержащие гетероциклы, обладающие широким спектром биологической активности, такой как антибактериальная, противогрибковая, противовирусная и противопаразитарная [9]. Структурное сходство бензимидазольного ядра с пуриновым ядром в нуклеотидах делает производные бензимидазола привлекательными лигандами для взаимодействия с биополимерами живой системы. В связи с этим, бензимидазольное ядро считается перспективной структурой для разработки соединений, которые предположительно могут обладать биологической активностью [9, 13].

Согласно результатам исследований, антибактериальный механизм бензимидазолов обусловлен их структурным сходством с пуринами. Известно, что пурины играют важную роль в биосинтезе нуклеиновых кислот и белков клеточной стенки бактерий. Бензимидазолы могут действовать как конкурентные ингибиторы и замещать пурины, тем самым блокируя биосинтез ключевых компонентов, убивая или ингибируя рост бактерий.

В данной работе было интересно проследить взаимосвязь между структурой бензимидазолов и их биологической активностью. Исследовалось влияние различных модификаций, внесённых в бензимидазольный каркас, на антибактериальную и антибиоплёночную активность полученных химических соединений.

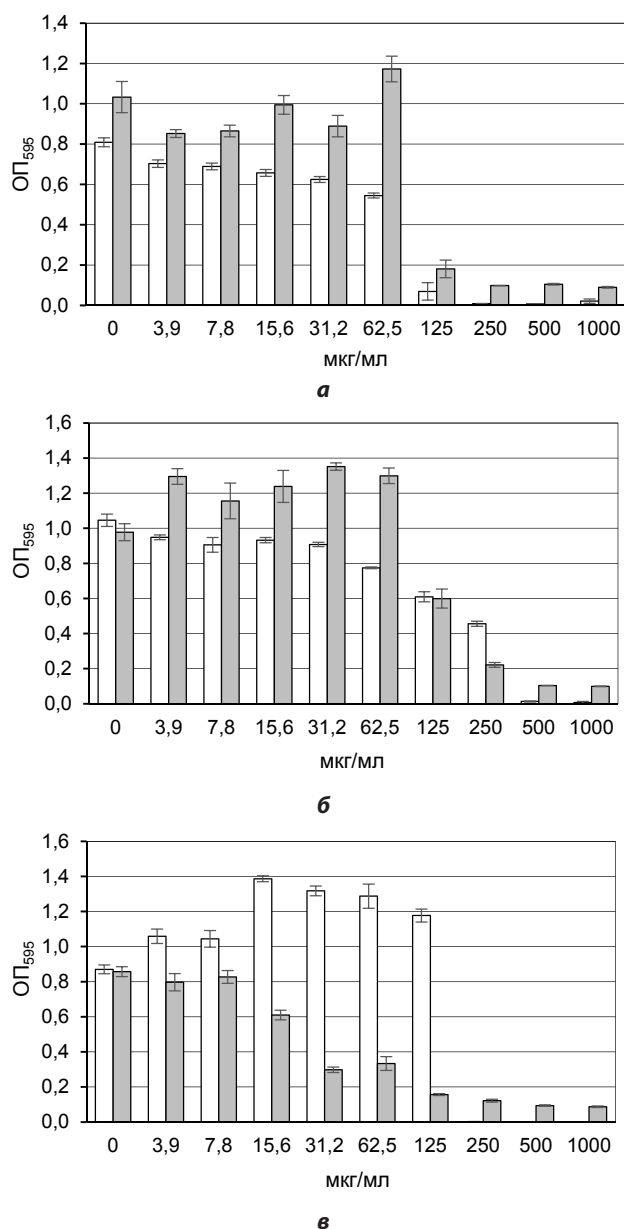


РИС. 2.

Рост бактерий *E. coli* AB1157 в форме биоплёнки (тёмные столбцы) и планктона (светлые столбцы) на среде с добавлением производных бензимидазола: **а** – 5-нитро-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол (8); **б** – 5,6-диметил-1-Н-бензимидазол (11); **в** – 5-бром-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол (5)

FIG. 2.

Growth of *E. coli* AB1157 bacteria in the form of a biofilm (dark columns) and plankton (light columns) on a medium supplemented with benzimidazole derivatives: **а** – 5-nitro-2-(trifluoromethyl)-1-*H*-benzimidazole (8); **б** – 5,6-dimethyl-1-*H*-benzimidazole (11); **в** – 5-bromo-2-(trifluoromethyl)-1-*H*-benzimidazole (5)

Было изучено 13 производных бензимидазола, содержащих различные заместители, как в бензольном, так и имидазольном циклах. Для установления влияния структуры фармакофоров в молекуле на антимикробную активность проводили сравнение с биологической активностью незамещённого бензимидазола (1).

Оказалось, что введение заместителей (соединения 2–4) во второе положение бензимидазола никак не влияло на значение **МИК**. *N*-арилзамещённые гетероциклы (13, 14) также не обладали высокой биологической активностью. В большей степени оказывало влияние наличие функциональных групп в бензольном кольце. Из таких структур наибольшей антибактериальной и антибиоплёночной активностью обладали бензимидазолы, содержащие, помимо трифторметильной группы в имидазольном цикле, атом брома (соединение 5) или нитрогруппу (соединение 6) в положении 5 бензольного фрагмента конденсированного гетероцикла.

5-бром-2-(трифторметил)-1-*H*-бензимидазол (5) оказывал наиболее выраженный ингибирующий эффект на биоплёнку *E. coli* AB1157. Интересно, что снижение уровня образования биоплёнок происходило при концентрациях, не влияющих на планктонный рост клеток (15–60 мкг/мл, рис. 2в). Следовательно, уменьшение биомассы формируемых биоплёнок не связано с гибелью клеток в исследуемой культуре. Такие соединения являются наиболее перспективными, поскольку они оказывают ограниченное селективное давление на выживание бактерий по сравнению с антибиотиками, не убивая клетки, а всего лишь снижая их способность формировать биоплёнки.

В настоящее время механизмы действия этих соединений на процесс образования биоплёнок недостаточно изучены. Биоплёнкообразование представляет собой сложный многостадийный процесс, и эти вещества могут влиять на один или несколько факторов. Необходимы дополнительные исследования для раскрытия природы этих явлений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленная работа расширяет знания о биологической активности бензимидазолов. Установлено наличие выраженной ингибирующей активности некоторых из исследуемых соединений на образование биоплёнок грамотрицательной бактерией *E. coli* AB1157. Полученные результаты показывают, что производные бензимидазола являются хорошими кандидатами для разработки новых агентов против биоплёнок. В данной работе были показаны некоторые корреляции между структурными и биологическими эффектами. Однако изучение механизмов действия соединений этого класса требует дополнительных исследований.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках Программы развития ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», проект № П2-К-1-Г-1/2021.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maunders E, Welch M. Matrix exopolysaccharides; the sticky side of biofilm formation. *FEMS Microbiol Lett.* 2017; 364(13): fnx120. doi: 10.1093/femsle/fnx120
2. Wu H, Moser C, Wang HZ, Høiby N, Song ZJ. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci.* 2015; 7(1): 1-7. doi: 10.1038/ijos.2014.65
3. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov.* 2003; 2(2): 114-122. doi: 10.1038/nrd1008
4. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song ZJ, Moser C, Jensen PØ, et al. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci.* 2011; 3(2): 55-65. doi: 10.4248/IJOS11026
5. Jabłońska-Wawrzycka A, Rogala P, Czerwona G, Gałczyńska K, Drabik M, Dańczuk M. Ruthenium complexes with 2-pyridin-2-yl-1H-benzimidazole as potential antimicrobial agents: Correlation between chemical properties and anti-biofilm effects. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(18): 10113. doi: 10.3390/ijms221810113
6. Sambanthamoorthy K, Gokhale AA, Lao W, Parashar V, Neiditch MB, Semmelhack MF, et al. Identification of a novel benzimidazole that inhibits bacterial biofilm formation in a broad-spectrum manner. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(9): 4369-4378. doi: 10.1128/AAC.00583-11
7. Shrestha L, Kayama S, Sasaki M, Kato F, Hisatsune J, Tsurada K, et al. Inhibitory effects of antibiofilm compound 1 against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbiol Immunol.* 2016; 60(3): 148-159. doi: 10.1111/1348-0421.12359
8. Zha GF, Preetham HD, Rangappa S, Sharath Kumar KS, Girish YR, Rakesh KP, et al. Benzimidazole analogues as efficient arsenals in war against methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its SAR studies. *Bioorg Chem.* 2021; 115: 105175. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.105175
9. Song D, Ma S. Recent development of benzimidazole-containing antibacterial agents. *ChemMedChem.* 2016; 11(7): 646-659. doi: 10.1002/cmdc.201600041
10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
11. Hoffman LR, D'Argenio DA, MacCoss MJ, Zhang Z, Jones RA, Miller SI. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature.* 2005; 436(7054): 1171-1175. doi: 10.1038/nature03912
12. Zaitseva J, Granik V, Belik A, Koksharova O, Khmel I. Effect of nitrofurans and NO generators on biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and *Burkholderia cenocepacia* 370. *Res Microbiol.* 2009; 160(5): 353-357. doi: 10.1016/j.resmic.2009.04.007
13. Bansal Y, Kaur M, Bansal G. Antimicrobial potential of benzimidazole derived molecules. *Mini Rev Med Chem.* 2019; 19(8): 624-646. doi: 10.2174/1389557517666171101104024

REFERENCES

1. Maunders E, Welch M. Matrix exopolysaccharides; the sticky side of biofilm formation. *FEMS Microbiol Lett.* 2017; 364(13): fnx120. doi: 10.1093/femsle/fnx120
2. Wu H, Moser C, Wang HZ, Høiby N, Song ZJ. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci.* 2015; 7(1): 1-7. doi: 10.1038/ijos.2014.65
3. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov.* 2003; 2(2): 114-122. doi: 10.1038/nrd1008
4. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song ZJ, Moser C, Jensen PØ, et al. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci.* 2011; 3(2): 55-65. doi: 10.4248/IJOS11026
5. Jabłońska-Wawrzycka A, Rogala P, Czerwona G, Gałczyńska K, Drabik M, Dańczuk M. Ruthenium complexes with 2-pyridin-2-yl-1H-benzimidazole as potential antimicrobial agents: Correlation between chemical properties and anti-biofilm effects. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(18): 10113. doi: 10.3390/ijms221810113
6. Sambanthamoorthy K, Gokhale AA, Lao W, Parashar V, Neiditch MB, Semmelhack MF, et al. Identification of a novel benzimidazole that inhibits bacterial biofilm formation in a broad-spectrum manner. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(9): 4369-4378. doi: 10.1128/AAC.00583-11
7. Shrestha L, Kayama S, Sasaki M, Kato F, Hisatsune J, Tsurada K, et al. Inhibitory effects of antibiofilm compound 1 against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbiol Immunol.* 2016; 60(3): 148-159. doi: 10.1111/1348-0421.12359
8. Zha GF, Preetham HD, Rangappa S, Sharath Kumar KS, Girish YR, Rakesh KP, et al. Benzimidazole analogues as efficient arsenals in war against methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) and its SAR studies. *Bioorg Chem.* 2021; 115: 105175. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.105175
9. Song D, Ma S. Recent development of benzimidazole-containing antibacterial agents. *ChemMedChem.* 2016; 11(7): 646-659. doi: 10.1002/cmdc.201600041
10. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: Guidelines. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of Russia, 2004. (In Russ.).
11. Hoffman LR, D'Argenio DA, MacCoss MJ, Zhang Z, Jones RA, Miller SI. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature.* 2005; 436(7054): 1171-1175. doi: 10.1038/nature03912
12. Zaitseva J, Granik V, Belik A, Koksharova O, Khmel I. Effect of nitrofurans and NO generators on biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and *Burkholderia cenocepacia* 370. *Res Microbiol.* 2009; 160(5): 353-357. doi: 10.1016/j.resmic.2009.04.007
13. Bansal Y, Kaur M, Bansal G. Antimicrobial potential of benzimidazole derived molecules. *Mini Rev Med Chem.* 2019; 19(8): 624-646. doi: 10.2174/1389557517666171101104024

Сведения об авторах

Зайцева Юлия Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экомониторинга и контроля качества, доцент кафедры ботаники и микробиологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», e-mail: zjv9@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9522-010X>

Егоров Дмитрий Олегович – аспирант кафедры ботаники и микробиологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», e-mail: egorov97@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9109-023X>

Бегунов Роман Сергеевич – кандидат химических наук, доцент Института фундаментальной и прикладной химии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», e-mail: begunov@bio.uniyar.ac.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4610-9744>

Хлопотинин Александр Игоревич – аспирант Института фундаментальной и прикладной химии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», e-mail: mouthleg547@gmail.com

Information about the authors

Yulia V. Zaitseva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecobiomonitoring and Quality Control, Associate Professor at the Department of Botany and Microbiology, P.G. Demidov Yaroslavl State University, e-mail: zjv9@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9522-010X>

Dmitry O. Egorov – Postgraduate at the Department of Botany and Microbiology, P.G. Demidov Yaroslavl State University, e-mail: egorovv97@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9109-023X>

Roman S. Begunov – Cand. Sc. (Chem.), Associate Professor at the Institute of Fundamental and Applied Chemistry, P.G. Demidov Yaroslavl State University, e-mail: begunov@bio.uniyar.ac.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4610-9744>

Alexander I. Khlopotinin – Postgraduate at the Institute of Fundamental and Applied Chemistry, P.G. Demidov Yaroslavl State University, e-mail: mouthleg547@gmail.com

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ РАЗНЫХ ПРИРОДНО-КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН

Зацаринная Е.А.^{1,2},
Колупаева Н.В.³,
Колупаева Л.В.³

¹ ФГБОУ ВО «Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина» (390000, г. Рязань, ул. Свободы, 46, Россия)

² Институт проблем промышленной экологии Севера – Обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Кольский научный центр Российской академии наук» (184209, г. Апатиты, мкр. Академгородок, 14а, Россия)

³ ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (142279, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Екатерина Андреевна Зацаринная,
e-mail: microbiog@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Важной проблемой современности является устойчивость бактерий к антимикробным препаратам. Поверхностные водные объекты аккумулируют всевозможные варианты антибиотикоустойчивых бактерий, встречающихся на водосборной территории.

Цель исследования. Сравнить антибиотикоустойчивость энтеробактерий, выделенных из пресноводных экосистем Мурманской и Рязанской областей.

Методы. Выделение энтеробактерий проводили диско-диффузным методом. Для видовой идентификации использовали тест-систему «Рapid-энтеро 200 М». Определение чувствительности проводили к 19 антибактериальным препаратам диско-диффузным методом в соответствии с требованиями МУК 4.2.1980-04 и Клиническими рекомендациями (2014). Интерпретацию данных осуществляли с использованием критериев EUCAST v. 7.0 (2017) и программного пакета «WHONET».

Результаты. В 2016 г. из водных объектов Рязанской области был выделен 771 изолят энтеробактерий, Мурманской области – 323. Результаты показали, что энтеробактерии были обнаружены во всех обследованных поверхностных водных объектах. В Рязанской области доминировали *Citrobacter* (36 %), *Escherichia coli* (21 %) и *Providencia* (21 %), а в Мурманской области – *Citrobacter* (35 %) и *Enterobacter* (21 %). В обоих регионах доминируют энтеробактерии, устойчивые к одному и более антимикробному препарату. Фенотипом множественной лекарственной устойчивости (MDR) обладали 82,62 % изолятов в Рязанской области и 95,98 % – в Мурманской. Фенотип экстремальной резистентности (XDR) чаще встречался среди энтеробактерий, выделенных из водных объектов Рязанской области. В обоих районах был достаточно высокий уровень резистентности к бета-лактамам антибиотикам. В обоих регионах самой эффективной группой антимикробных препаратов, подавляющих рост энтеробактерий, были хинолоны.

Заключение. Результаты исследования показывают, что распространение антибиотикоустойчивых изолятов энтеробактерий в пресноводных экосистемах происходит повсеместно, однако в северных водоёмах этот процесс происходит медленнее.

Ключевые слова: устойчивость к антибиотикам, энтеробактерии, природные изоляты, поверхностные водные объекты

Для цитирования: Зацаринная Е.А., Колупаева Н.В., Колупаева Л.В. Антибиотикоустойчивость энтеробактерий, выделенных из поверхностных водных объектов разных природно-климатических зон. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 142-149. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.15

Статья получена: 16.03.2022

Статья принята: 05.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATED FROM FRESHWATER BODIES OF DIFFERENT CLIMATIC ZONES

Zatsarinnaya E.A.^{1,2},
Kolupaeva N.V.³,
Kolupaeva L.V.³

¹ Ryazan State University named after S.A. Yesenin (Svobody str. 46, Ryazan 390000, Russian Federation)

² Institute of North Industrial Ecology Problems – Separate subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science of the Federal Research Center «Kola Science Center» (Akademgorodok 14A, Apatity 184209, Russian Federation)

³ State Research Center for Applied Biotechnology and Microbiology (Territory “Quarter A” 24, Obolensk 142279, Russian Federation)

Corresponding author:
Ekaterina A. Zatsarinnaya,
e-mail: microbiog@mail.ru

ABSTRACT

An important problem of our time is the resistance of bacteria to antimicrobial drugs. Surface water bodies accumulate all kinds of antibiotic-resistant bacteria found in the catchment area.

The aim. *To compare the antibiotic resistance of enterobacteria isolated from freshwater ecosystems of the Murmansk and Ryazan regions.*

Methods. *Isolation was performed by the disk-diffusion method. For species identification, the “Rapid-entero 200 M” test system was used. Sensitivity was determined to 19 antibacterial drugs by the disk diffusion method in accordance with the requirements of MUK 4.2.1980-04 and Clinical guidelines (2014). Data interpretation was carried out using EUCAST v. 7.0 (2017) criteria and the WHONET software package.*

Results. *In 2016, 771 isolates of enterobacteria were isolated from the water bodies of the Ryazan region, 323 isolates from the Murmansk region. The results showed that enterobacteria were found in all surveyed surface water bodies. Citrobacter (36 %), Escherichia coli (21 %) and Providencia (21 %) dominated in the Ryazan region, while Citrobacter (35 %) and Enterobacter (21 %) dominated in the Murmansk region. Enterobacteria resistant to one or more antimicrobials dominate in both regions. The phenotype of multiple drug resistance (MDR) was found in 82.62 % of isolates in Ryazan and 95.98 % in Murmansk regions. The extreme resistance phenotype (XDR) was more common among enterobacteria isolated from water bodies of the Ryazan region. In both districts, there was a fairly high level of resistance to beta-lactam antibiotics. In both regions, the quinolones were the most effective group for inhibiting the growth of enterobacteria.*

Conclusion. *The results of the study show that the spread of antibiotic-resistant isolates of enterobacteria in freshwater ecosystems occurs everywhere, but in northern waters this process is slower.*

Key words: *drug resistance, bacterial, Enterobacteriaceae, natural bacterial isolates, freshwater bodies*

Received: 16.03.2022
Accepted: 05.05.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Zatsarinnaya E.A., Kolupaeva N.V., Kolupaeva L.V. Antibiotic resistance of enterobacteria isolated from freshwater bodies of different climatic zones. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 142-149. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.15

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важных проблем современности является устойчивость бактерий к антимикробным препаратам. Применение антибиотиков широкого спектра действия в медицинской практике для лечения инфекций без диагностики конкретного патогена, а также в животноводстве считается основным фактором, способствующим распространению устойчивости к противомикробным препаратам среди возбудителей различных инфекций [1].

Однако анализ многочисленных публикаций показывает, что антибиотикорезистентные бактерии и гены устойчивости к антибиотикам можно обнаружить практически во всех объектах окружающей среды, особенно в водных экосистемах [2, 3]. Поверхностные водные объекты аккумулируют всевозможные варианты антибиотикоустойчивых бактерий, встречающихся на водосборной территории, за счёт поверхностного стока, поступления сточных вод, ливневой канализации, перелётных птиц и других животных [4, 5, 6]. Немаловажным фактором в распространении антибиотикоустойчивых бактерий в поверхностных водных объектах является температура воды, которая значительно различается в различных природно-климатических зонах [7].

Среди бактерий представители порядка *Enterobacteriales* в совокупности являются одними из наиболее частых возбудителей как нозокомиальных, так и внебольничных инфекций. По данным AMRmap (онлайн-платформа анализа данных резистентности к антимикробным препаратам в России), энтеробактерии-возбудители инфекции обладают высокими значениями устойчивости ко многим антибиотикам [8]. Кроме того, наблюдаются значительные региональные отличия в антибиотикорезистентности энтеробактерий.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнить антибиотикоустойчивость энтеробактерий, выделенных из пресноводных экосистем Мурманской и Рязанской областей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб воды

Отбор проб воды был выполнен в соответствии с общими требованиями ГОСТ 31942-2012 и МУК 4.2.184-04. Пробы воды отбирались с глубины 10–15 см от поверхности в стерильные стеклянные флаконы объёмом 500 мл.

В Рязанской области в июне 2016 г. отбор проб воды был выполнен из 27 поверхностных водных объектов: рек Ока, Лыбедь, Трубезь, Павловка, Плетёнка, Дунайчик и Листвянка (приёмник очищенных коммунально-бытовых и промышленных сточных вод, где обследовано 3 створа – до очистных сооружений, в последнем по каскаду пруду-отстойнике и 500 м ниже по течению), Солотча, Старица, ручья Быстрец, озёр Трубезь, Салого-

ща, Ореховое, Борковских карьеров № 1, 2, 3, используемых для рекреации, а также десяти прудах на территории города Рязани.

Поскольку Рязань является крупным промышленным центром, в Мурманской области был выбран район пгт Никель и г. Заполярный, где расположен крупный комплекс предприятий компании ПАО «ГМК «Норильский никель»». Основной водный объект этой территории – река Паз, исток которой находится в оз. Инари (Финляндия). Далее река течёт по трансграничной территории России и Норвегии. В исследование также были включены притоки реки Паз (реки Шуонийоки, Кувернерийоки, Котсельйоки, Мениккайоки, Лауккуйоки, Сегийоки, Корнетийоки, Наутсийоки, Колосйоки (приёмник коммунальных сточных вод пгт Никель) и озёрное расширение реки Паз – оз. Куэтсьярви). В районе города Заполярный пробы воды отобраны на нескольких участках из реки Печенга и её притока реки Намайоки, в которую поступает часть сточных вод г. Заполярный.

Выделение энтеробактерий

Выделение энтеробактерий из отобранных проб осуществлялось методом мембранной фильтрации согласно требованиям МУК 4.2.184-04. В работе использовались мембранные фильтры диаметром 35 мм из нитрата целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм («Владисарт», Владимир). Фильтрация проб проводилась на приборе вакуумного фильтрования ПВФ-35 (ООО «БМТ», Владимир). Объём воды для посева выбирали, ориентируясь на результаты предыдущих исследований и на рекомендации МУК 4.2.184-04.

Из поверхностных водных объектов Рязанской области в 2016 г. был выделен 771 изолят энтеробактерий, а в Мурманской области, совокупно из всех источников, было отобрано 323 изолята.

Видовая идентификация

Видовая идентификация изолятов проводилась с помощью тест-системы для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий «Рапид-энтеро 200 М» (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург), которая основана на микрообъёмной технологии с использованием жидких дифференциальных сред.

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузным методом в соответствии с требованиями МУК 4.2.1980-04 и Клиническим рекомендациям (2014). Данные исследования были выполнены на среде Мюллера – Хилтона (HiMedia, Индия) с использованием бактериальных суспензий (0,5 по стандарту МакФарланда), полученных из клеток, которые были выращены при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 18–24 часов на триптон-соевом агаре (HiMedia, Индия). Уровень устойчивости энтеробактерий к антибиотикам определяли по отношению к 19 препаратам с различным механизмом действия: пенициллины (ампициллин, ампициллин/сульбактам, тикарциллин/клавуланат), цефалоспорины (цефазолин (I поколение), цефуроксим (II поколение), цефтриаксон (III поколение), цефепим (IV поколе-

ние)), карбапенемы (имипенем), аминогликозиды (амикацин, гентамицин, тобрамицин), фторхинолоны (офлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, норфлоксацин), ко-тримоксазол (триметоприм/сульфаметоксазол), производные нитрофурана (фурадонин), тетрациклины (тетрациклин), хлорамфеникол (левомицетин). Отобранные противомикробные препараты являются наиболее значимыми для лечения инфекций, вызванных представителями порядка *Enterobacteriales* (т. е. препаратами первого ряда и препаратами резерва). Интерпретацию данных производили с использованием критериев EUCAST v. 7.0 (2017) и программного пакета аналитической системы контроля антибиотикорезистентности «WHONET».

В соответствии с Международными критериями [9], полирезистентными, т. е. обладающими множественной лекарственной устойчивостью (MDR), считали изоляты, нечувствительные к препаратам (как минимум одному) трёх классов антибиотиков; потенциально экстремально резистентными (XDR) – нечувствительные к препаратам (как минимум одному) всех за исключением 1–2-х классов антимикробных препаратов; вероятно панрезистентными (PDR) – невосприимчивые ко всем агентам всех категорий противомикробных препаратов (т. е. бактериальные изоляты не чувствительны ни к одному клинически доступному лекарственному средству).

Оценка продукции бета-лактамаз расширенного действия (БЛРС) проведена методом двойных дисков (МУК 4.2.1980-04). Метод основан на выявлении продукции БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с цефалоспорином третьего поколения (использовали цефтазидим и цефотаксим) напротив диска, содержащего клавулановую кислоту (амоксиклав/клавуланат): синергизм отмечается на участке пересечения зон диффузии препаратов с двух дисков, расположенных на небольшом расстоянии друг от друга.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках данного исследования была проведена сравнительная оценка встречаемости энтеробактерий в поверхностных водных объектах Мурманской и Рязанской областей. Представители порядка энтеробактерий были обнаружены во всех обследованных поверхностных водных объектах.

Для Мурманской области встречаемость энтеробактерий в поверхностных водных объектах статистически значимо ниже ($t = 12,265$; $df = 50,208$; $p < 2,2 \times 10^{-16}$), чем в Рязанском регионе. В целом, для водных объектов Мурманской области характерен очень небольшой разброс значений обнаруженных КОЕ/мл (рис. 1). Среднее значение встречаемости энтеробактерий – 78 КОЕ/мл. Обнаруженные наблюдаемые выбросы (максимальные значения) – это встречаемость в р. Колосёйке, приёмнике сточных вод, и оз. Куэтсьярви, куда эта река впадает.

Для Рязанской области встречаемость энтеробактерий во многом зависела от типа самого водного объекта, особенностей его гидрологического режима, поступления очищенных и неочищенных сточных вод, поверхностного стока и особенностей его хозяйственного окружения. Численность этой группы бактерий варьировала в широких пределах и составляла от десятков единиц до сотни тысяч КОЕ/100 мл. Максимальные выбросы (рис. 1б) опять же характерны для рек-приёмников очищенных коммунально-бытовых сточных вод и неочищенных сточных вод, а также для небольших прудов – мест с очень высокой концентрацией диких уток, прикармливаемых местным населением.

Видовой состав выделенных энтеробактерий в Мурманской и Рязанской областях достаточно сходен (коэффициент Серенсена – Чекановского – 0,63) (рис. 2). В Рязанской области в обследованных водных объектах доминировали

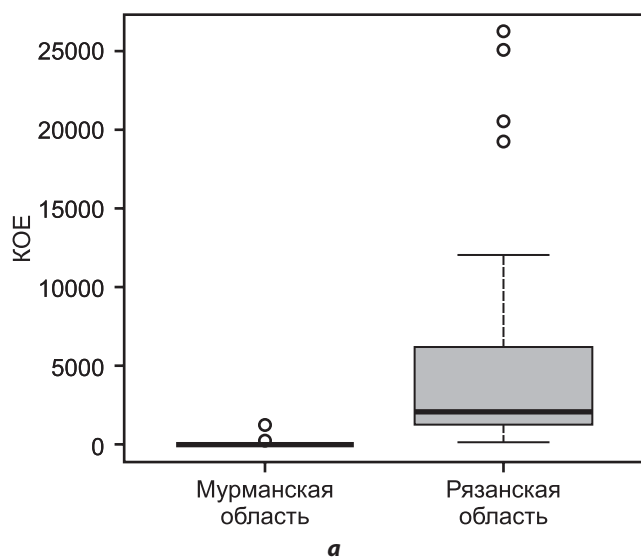


РИС. 1.

Сравнение численности энтеробактерий в поверхностных водных объектах Мурманской и Рязанской областей: **а** – сравнение диапазонов; **б** – встречаемость в Мурманской области

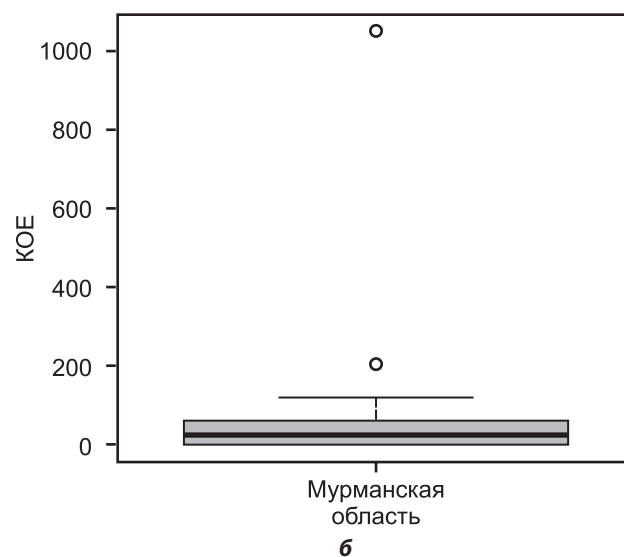


FIG. 1.

Comparison of the number of enterobacteria in freshwater bodies of the Murmansk and Ryazan regions: **а** – comparison of ranges; **б** – occurrence in the Murmansk region

Citrobacter (36 %), *Escherichia coli* (21 %) и *Providencia* (21 %). В Мурманской области среди выделенных изолятов наиболее часто встречались *Citrobacter* (35 %) и *Enterobacter* (21 %), а *Escherichia coli*, наоборот, отмечены единично и только в водных объектах, где имеется непосредственный привнос коммунально-бытовых сточных вод.

Количественная оценка антибиотикорезистентности показала, что в Рязанской и Мурманской областях, среди энтеробактерий доминируют штаммы, устойчивые к одному и более антимикробному препарату (рис. 3). При этом в Мурманской области не обнаружено изолятов чувствительных ко всем (анализируемым нами) антибиотикам. В Рязанской области их было всего четыре изолята: 3 изолята *Escherichia coli* и 1 изолят *Citrobacter freundii*. Количество энтеробактерий с разной интенсивностью устойчивости к АМП в Мурманской и Рязанской областях статистически значимо отличается ($\chi^2 = 17,9$; $df = 1$; $p = 2,331e-05$). Фенотипом множественной лекарственной устойчивости (MDR) обладали 82,62 % изолятов в Рязанской области и 95,98 % – в Мурманской ($\chi^2 = 34,2$; $df = 1$; $p = 5,064e-09$). Фенотип экс-

тремальной резистентности чаще встречался среди энтеробактерий, выделенных из водных объектов Рязанской области ($\chi^2 = 20,6$; $df = 1$; $p = 5,551e-06$). Кроме того, в водных объектах Рязанской области было обнаружено четыре изолята, которые аналитическая система «WHONET» выделяет как вероятно панрезистентные (PDR). Они были обнаружены в пробах из пруда «на ул. Новосёлов», где наблюдается массовое скопление водоплавающих птиц – крякв (1 изолят *Escherichia coli*), и в ручье Быстрец, куда впадает один из стоков ливневой канализации г. Рязани.

На рисунке 4 представлена встречаемость изолятов с множественной и экстремальной лекарственной устойчивостью в пресноводных экосистемах Рязанской области.

Фенотип MDR имели все изоляты, выделенные в 12 поверхностных водных объектах (из 27 обследованных). В ряде водных объектов частота обнаружения изолятов с экстремальной резистентностью (XDR) составила более 60 %. В р. Листвянка (а именно в створах пруда-отстойника очистных сооружений коммунально-бытовых сточных вод и на участке течения реки в 500 м ниже него

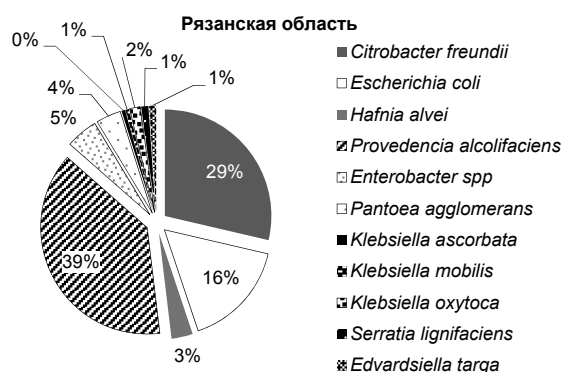


РИС. 2.
Видовая идентификация энтеробактерий, выделенных из поверхностных водных объектов

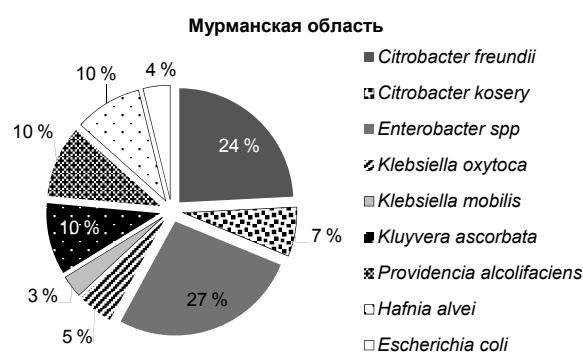


РИС. 2.
Species identification of Enterobacteria isolated from surface water bodies

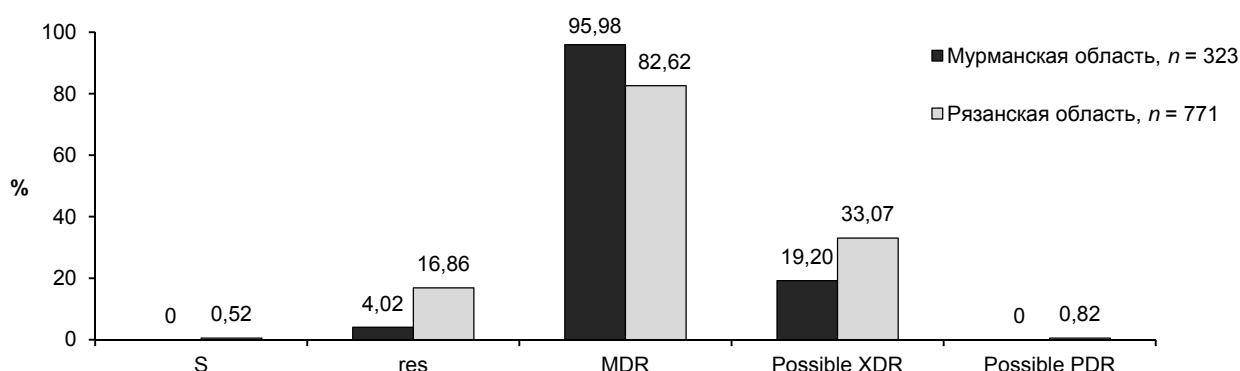


РИС. 3.
Сравнение энтеробактерий, выделенных из поверхностных водных объектов Мурманской и Рязанской областей, по количественным характеристикам устойчивости к антибиотикам: S – чувствительные ко всем антибиотикам; res – устойчивые к одному и более антибиотикам, но не MDR; MDR – с множественной лекарственной устойчивостью; Possible XDR – вероятно экстремально резистентные; Possible PDR – вероятно панрезистентные

РИС. 3.
Comparison of Enterobacteria isolated from surface water bodies of the Murmansk and Ryazan regions by quantitative characteristics of antibiotic resistance: S – sensitive to all antibiotics; res – resistant to one or more antibiotics, but not MDR; MDR – multiple drug resistant; Possible XDR – probably extremely resistant; Possible PDR – probably pan-resistant

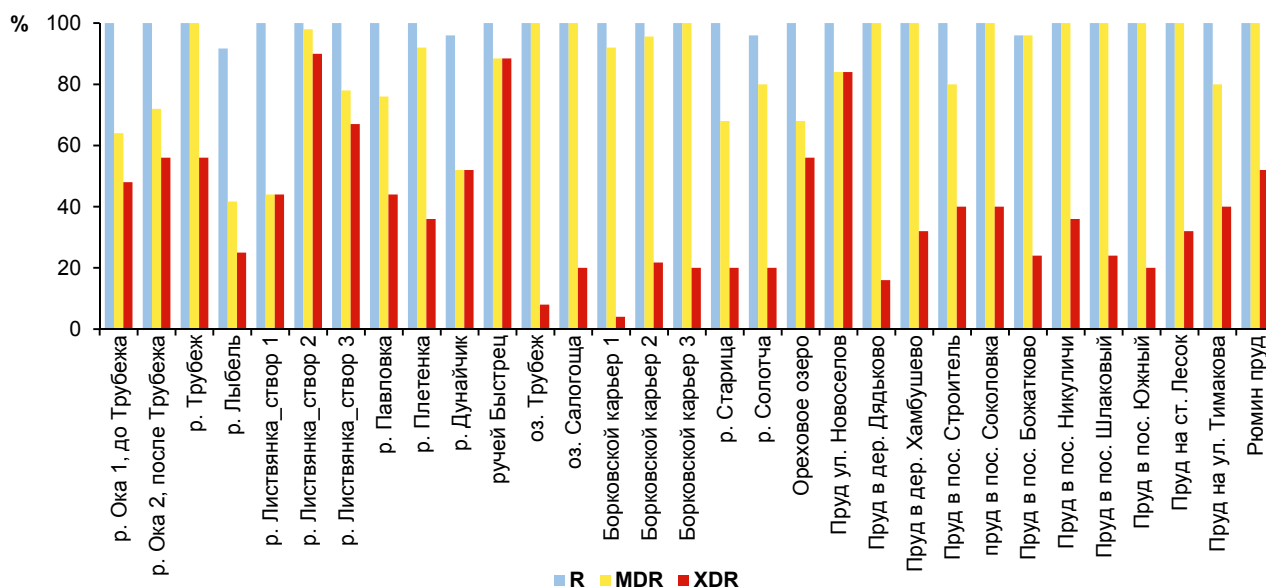


РИС. 4.

Частота встречаемости изолятов (%) устойчивых к одному и более АМП (R), с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) и обладающих возможной экстремальной резистентностью (XDR), выделенных из пресноводных экосистем Рязанской области

FIG. 4.

Frequency of occurrence of isolates (%) resistant to one or more AMP (R), with multiple drug resistance (MDR) and with possible extreme resistance (XDR) isolated from freshwater ecosystems of the Ryazan region

по течению), в ручье Быстрец, который принимает ливневые стоки города, а также в пруду «на ул. Новосёлов» все культуры с множественной резистентностью характеризовались как вероятно экстремально резистентные. При рассмотрении устойчивости энтеробактерий в Мурманской области наблюдается такая же тенденция (рис. 5). Наиболее часто экстремально резистентные изоляты отмечены в водных объектах, где присутствует непосредственной сброс сточных вод (р. Печенга, р. Намайюки и р. Колосйюки).

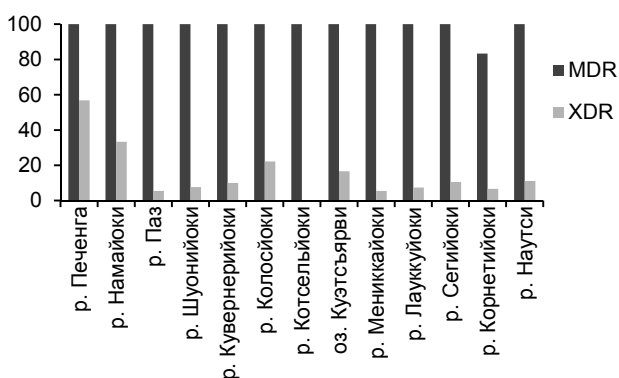


РИС. 5.

Частота встречаемости изолятов (%) с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) и обладающих возможной экстремальной резистентностью (XDR), выделенных из пресноводных экосистем Мурманской области

FIG. 5.

Frequency of occurrence of isolates (%) with multidrug resistance (MDR) and with possible extreme resistance (XDR) isolated from freshwater ecosystems of the Murmansk region

Сопоставление данных текущего исследования с результатами предыдущих работ [10, 11] показывает, что с 2009 г. в Мурманской и с 2010 г. в Рязанской областях произошло колоссальное распространение лекарственной устойчивости среди энтеробактерий. Повсеместно распространились культуры с множественной лекарственной устойчивостью. Активно выявляются изоляты с экстремальной резистентностью.

Рассматривая показатели устойчивости изолятов энтеробактерий к отдельным антимикробным препаратам, требуется отметить достаточно высокий уровень резистентности к бета-лактамам антибиотикам в обоих районах (табл. 1). В частности, наиболее часто встречается устойчивость к ампициллину. Однако среди энтеробактерий, выделенных в Мурманской области, в два раза реже встречается устойчивость к защищенным пеницилинам – ампициллин/сульбактаму и тикарциллин/клавулату. В обоих регионах более половины изолятов обладало устойчивостью к цефепиму (IV поколение цефалоспоринов). В то же время устойчивость к цефалоспорином I–III поколения для обоих регионов оказалась значительно ниже – порядка 20–40%. Принимая во внимание высокую устойчивость выделенных изолятов к бета-лактамам антибиотикам, была выполнена оценка продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Её результаты показали, что продукция БЛРС обнаружена у 53,6 % всех выделенных в этот период изолятов в Рязанской области и 45,4 % изолятов в Мурманской области. Среди аминокликозидов наибольшая устойчивость была обнаружена к препарату III поколения – амикацину (49,5 % – в Рязанской области, 35,6 % – в Мурманской области). Более низкий уровень устойчивости анализируемые энтеробакте-

ТАБЛИЦА 1
КОЛИЧЕСТВО УСТОЙЧИВЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ
К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ (%)

TABLE 1
NUMBER OF RESISTANT ENTEROBACTERIA
TO ANTIMICROBIAL DRUGS (%)

	Ампициллин	Ампициллин/сульбактам	Тикарциллин/клавуланат	Цефазолин	Цефутоксим	Цефтриаксон	Цефепим	Имипенем	БЛРС(+)	Амикацин	Гентамицин	Тобрамицин	Ципрофлоксацин	Левифлоксацин	Норфлоксацин	Офлоксацин	Триметоприм/сульфаметоксазол	Нитрофурантоин	Левомецетин	Тетрациклин													
Мурманская область (n = 323)	63,5	39,8	27,9	29,7	32,8	20,7	68,1	22,6	45,4	35,6	16,1	18,3	10,5	17,6	21,1	16,1	17,0	36,6	37,8	31,3													
Рязанская область (n = 771)	65,2	56,6	33,4	36,7	32,9	27,1	69,4	60,5	53,6	45,4	38,1	38,4	3,6	26,1	20,5	14,6	5,6	29,3	13,7	26,2													
Статистически значимые отличия	$\chi^2 = 50,97; df = 1; p = 9,373e-13$			$\chi^2 = 5,87; df = 1; p = 0,01541$			$\chi^2 = 6,10; df = 1; p = 0,01348$			$\chi^2 = 8,53; df = 1; p = 0,003484$			$\chi^2 = 50,09; df = 1; p = 1,469e-12$			$\chi^2 = 41,14; df = 1; p = 1,41e-10$			$\chi^2 = 18,97; df = 1; p = 1,327e-05$			$\chi^2 = 6,81; df = 1; p = 0,009059$			$\chi^2 = 23,19; df = 1; p = 1,471e-06$			$\chi^2 = 30,15; df = 1; p = 3,998e-08$			$\chi^2 = 78,18; df = 1; p < 2,2e-16$		

рии проявляли в отношении антибиотиков II поколения этой группы: к гентамицину и тобрамицину.

В обоих регионах самой эффективной группой АМП, *in vitro* подавляющим рост исследуемых энтеробактерий, были хинолоны. Устойчивость к этой группе не превышала 20 %. Действие тетрациклина на энтеробактерии, выделенные в этих двух регионах, практически не различалось. К ко-тримоксазолу (триметоприм/сульфаметоксазолу), нитрофурантоину и левомицетину более устойчивы оказались культуры, изолированные из водных объектов Мурманской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование позволило определить показатели антибиотикоустойчивости энтеробактерий, выделенных из поверхностных водных объектов Рязанской и Мурманской областей с различным типом и интенсивностью антропогенной нагрузки, а также установить соответствующие фенотипы резистентности. Результаты показывают, что в поверхностных водных объектах Мурманской и Рязанской областей среди энтеробактерий абсолютно доминируют культуры с множественной лекарственной устойчивостью. Частота вероятности обнаружения энтеробактерий с экстремальной резистентностью в конкретном водном объекте зависит от поступления в него коммунально-бытовых и ливневых сточных вод. В двух поверхностных водных объектах Рязанской области обнаружены потенциально пан-

резистентные энтеробактерии, представляющие максимальную угрозу, в случае развития инфекции, вызванной данными изолятами.

В целом, результаты исследования показывают, что распространение антибиотикоустойчивых изолятов энтеробактерий в пресноводных экосистемах происходит повсеместно, однако в северных водоёмах этот процесс происходит медленнее.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mohr KI. History of antibiotics research. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2016; 398: 237-272. doi: 0.1007/82_2016_499
2. Martinez JL. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc Biol Sci*. 2009; 276(1667): 2521-2530. doi: 10.1098/rspb.2009.0320
3. Huijbers PMC, Blaak H, de Jong MCM, Graat EAM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Husman AM. Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans: A review. *Environ Sci Technol*. 2015; 49(20): 11993-12004. doi: 10.1021/acs.est.5b02566
4. Wellington EMH, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(2): 155-165. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70317-1

5. Furness LE, Campbell A, Zhang L, Gaze WH, McDonald RA. Wild small mammals as sentinels for the environmental transmission of antimicrobial resistance. *Environ Res.* 2017; 154: 28-34. doi: 10.1016/j.envres.2016.12.014
6. Guenther S, Semmler T, Stubbe A, Stubbe M, Wieler LH, Schaufler K. Chromosomally encoded ESBL genes in *Escherichia coli* of ST38 from Mongolian wild birds. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72(5): 1310-1313. doi: 10.1093/jac/dkx006
7. Burnham JP. Climate change and antibiotic resistance: A deadly combination. *Ther Adv Infectious Dis.* 2021; 8: 2049936121991374. doi: 10.1177/2049936121991374
8. Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В., Авраменко А.А., Дехнич А.В. и др. AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2021; 23(2): 198-204. doi: 10.36488/cmac.2021.2.198-204
9. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(3): 268-281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
10. Зацаринная Е.А. Оценка состояния водных объектов Рязанской области на основе анализа распределения и антибиотикорезистентности общих колиформных бактерий. *Естественные и технические науки.* 2014; 1(69): 60-64.
11. Зацаринная Е.А. Микробиологические подходы в оценке антропогенного влияния на реки приграничных районов северо-запада России. *Естественные и технические науки.* 2014; 1(69): 55-59.

REFERENCES

1. Mohr KI. History of antibiotics research. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2016; 398: 237-272. doi: 10.1007/82_2016_499
2. Martinez JL. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc Biol Sci.* 2009; 276(1667): 2521-2530. doi: 10.1098/rspb.2009.0320

3. Huijbers PMC, Blaak H, de Jong MCM, Graat EAM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Husman AM. Role of the environment in the transmission of antimicrobial resistance to humans: A review. *Environ Sci Technol.* 2015; 49(20): 11993-12004. doi: 10.1021/acs.est.5b02566
4. Wellington EMH, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13(2): 155-165. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70317-1
5. Furness LE, Campbell A, Zhang L, Gaze WH, McDonald RA. Wild small mammals as sentinels for the environmental transmission of antimicrobial resistance. *Environ Res.* 2017; 154: 28-34. doi: 10.1016/j.envres.2016.12.014
6. Guenther S, Semmler T, Stubbe A, Stubbe M, Wieler LH, Schaufler K. Chromosomally encoded ESBL genes in *Escherichia coli* of ST38 from Mongolian wild birds. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72(5): 1310-1313. doi: 10.1093/jac/dkx006
7. Burnham JP. Climate change and antibiotic resistance: A deadly combination. *Ther Adv Infectious Dis.* 2021; 8: 2049936121991374. doi: 10.1177/2049936121991374
8. Kuzmenkov AYU, Vinogradova AG, Trushin IV, Eidelstein MV, Avramenko AA, Dehnich AV, et al. AMRmap – a system for monitoring antibiotic resistance in Russia. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2021; 23(2): 198-204. (In Russ.). doi: 10.36488/cmac.2021.2.198-204
9. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18(3): 268-281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
10. Zatsarinnyaya EA. Assessment of the state of water bodies of the Ryazan region based on the analysis of the distribution and antibiotic resistance of common coliform bacteria. *Natural and Technical Sciences.* 2014; 1(69): 60-64. (In Russ.).
11. Zatsarinnyaya EA. Microbiological approaches in the assessment of anthropogenic impact on the rivers of the border regions of the north-west of Russia. *Natural and Technical Sciences.* 2014; 1(69): 55-59. (In Russ.).

Сведения об авторах

Зацаринная Екатерина Андреевна – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эволюционной экологии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина»; младший научный сотрудник лаборатории геоэкологии и рационального природопользования Арктики, Институт проблем промышленной экологии Севера – Обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Кольский научный центр Российской академии наук», e-mail: microbiog@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2011-4297>

Колупаева Надежда Вячеславовна – младший научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», e-mail: nadin.9830@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3743-6046>

Колупаева Любовь Вячеславовна – младший научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», e-mail: melstryder@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7008-3137>

Information about the authors

Ekaterina A. Zatsarinnyaya – Junior Research Officer at the Research Laboratory of Evolutionary Ecology, Ryazan State University named after S.A. Yesenin; Junior Research Officer at the Laboratory of Geoecology and Environmental Management, Institute of North Industrial Ecology Problems – Separate subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science of the Federal Research Center «Kola Science Center», e-mail: microbiog@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2011-4297>

Nadezhda V. Kolupaeva – Junior Research Officer at the Department of Training and Improvement of Specialists, State Research Center for Applied Biotechnology and Microbiology, e-mail: nadin.9830@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3743-6046>

Lyubov V. Kolupaeva – Junior Research Officer at the Department of Training and Improvement of Specialists, State Research Center for Applied Biotechnology and Microbiology, e-mail: melstryder@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7008-3137>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

РЕГУЛЯТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ПОЛИАМИНОВ И ИНДОЛА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АДАПТАЦИИ К СТРЕССУ У *ESCHERICHIA COLI*

Хаова Е.А.^{1,2},
Кашеварова Н.М.¹,
Ткаченко А.Г.^{1,2}

¹ «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

² ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Хаова Елена Александровна,
e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Индол и полиамины участвуют в регуляции физиологических процессов у бактерий, связанных с адаптацией к стрессам, биоплёнкообразованием, антибиотикоустойчивостью, бактериальной персистенцией, что имеет важное клиническое значение. Однако молекулярные мишени и механизм действия этих метаболитов до сих пор мало изучены. В данной работе исследовано влияние полиаминов и индола на экспрессию таких генов, как: *rpoS*, *relA* и *spoT*, кодирующих регуляторы общего стрессорного ответа и голодания; *hns* и *stpA*, кодирующих глобальные регуляторы генной экспрессии; *rmf*, *uqjD*, *hpf*, *raiA*, *rsfS*, *sra*, *ettA*, кодирующих факторы гибернации рибосом.

Цель исследования. Изучить регуляторные эффекты полиаминов и индола на экспрессию перечисленных генов, ответственных за адаптацию *Escherichia coli* к стрессу.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали штаммы *E. coli*. Содержание полиаминов исследовали методом тонкослойной хроматографии. Концентрацию индола определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Генную экспрессию изучали при помощи ПЦР в реальном времени, сопряжённой с обратной транскрипцией.

Результаты. Добавка полиаминов путресцина, кадаверина и спермидина в среду стимулировала экспрессию всех исследуемых генов. Для большинства генов наибольшая стимуляция наблюдалась в стационарной фазе роста. Наиболее значительное влияние оказывали путресцин и спермидин. Показана эквимоллярная конвертация экзогенного триптофана в индол через 24 ч культивирования. В это время увеличивалась экспрессия двух генов: *rmf* и *raiA*.

Заключение. Нами показано, что полиамины стимулируют экспрессию всех исследуемых генов на транскрипционном уровне, при этом их стимулирующий эффект специфичен по фазе культивирования и типу полиамина. Индол оказывает положительный эффект на экспрессию генов *rmf* и *raiA*, тогда как остальные из исследованных генов не подвержены его регуляторным воздействиям.

Ключевые слова: полиамины, индол, генная экспрессия, ПЦР в реальном времени

Статья получена: 16.03.2022

Статья принята: 22.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Хаова Е.А., Кашеварова Н.М., Ткаченко А.Г. Регуляторный эффект полиаминов и индола на экспрессию генов адаптации к стрессу у *Escherichia coli*. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 150-161. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.16

REGULATORY EFFECT OF POLYAMINES AND INDOLE ON EXPRESSION OF STRESS ADAPTATION GENES IN *ESCHERICHIA COLI*

Khaova E.A.^{1,2},
Kashevarova N.M.¹,
Tkachenko A.G.^{1,2}

¹ Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Ural Branch
Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

² Perm State National Research
University (Bukireva str. 15, Perm
614068, Russian Federation)

Corresponding author:

Elena A. Khaova,
e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru

ABSTRACT

Background. Indole and polyamines are involved in the regulation of physiological processes in bacteria associated with adaptation to stress, biofilm formation, antibiotic tolerance, and bacterial persistence. However, the molecular targets and mechanisms of action of these metabolites are still poorly understood. In this work, we studied the effect of polyamines and indole on the expression of such genes as: *rpoS*, *relA*, and *spoT*, encoding regulators of the general stress responses and starvation; *hns* and *stpA*, encoding global regulators of gene expression; *rmf*, *yqjD*, *hpf*, *raiA*, *rsfS*, *sra*, *ettA*, encoding ribosome hibernation factors.

The aim. To study the regulatory effects of polyamines and indole on the expression of these genes, which are responsible for the adaptation of *Escherichia coli* to stress.

Materials and methods. We used strains of *E. coli* in this study. The amount of polyamines was studied by thin layer chromatography. The indole concentration was determined by high performance liquid chromatography. Gene expression was studied using real-time RT-PCR.

Results. The addition of polyamines putrescine, cadaverine and spermidine to the medium stimulated the expression of all the studied genes. The maximal stimulation was observed at the stationary phase mostly. Putrescine and spermidine had the most significant effect.

At 24 h of cultivation, an equimolar conversion of exogenous tryptophan into indole was showed. At this time, the expression of two genes – *rmf* and *raiA* – increased.

Conclusions. We have shown that polyamines upregulate the expression of all the studied genes at the transcriptional level. The stimulating effect is specific for the phase of the batch culture and the type of polyamine. Indole has a positive effect on the expression of the *rmf* and *raiA* genes.

Key words: polyamines, indole, gene expression, real-time RT-PCR

Received: 16.03.2022
Accepted: 22.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Khaova E.A., Kashevarova N.M., Tkachenko A.G. Regulatory effect of polyamines and indole on expression of stress adaptation genes in *Escherichia coli*. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 150-161. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.16

ВВЕДЕНИЕ

В естественных условиях, в том числе в макроорганизме-хозяине, бактерии испытывают воздействие различных неблагоприятных факторов: голодание, неоптимальные значения температуры и pH, окислительный стресс, воздействие антибиотиков. Для выживания в таких условиях бактериям необходимо адаптироваться, в том числе посредством изменения генно-экспрессионного профиля клетки [1]. Значительную роль в этом процессе играют полиамины, представляющие собой биогенные поликатионы, которые участвуют в адаптации бактерий к стрессу, регуляции пролиферации и генной экспрессии [2, 3, 4]. Описаны различные механизмы стимуляции генной экспрессии полиаминами на трансляционном уровне. Такие гены объединены в «полиаминовый модуль» [5, 6], многие из которых ответственны за синтез соединений, участвующих в механизмах адаптации. Исходя из этого полиамины можно отнести к категории бактериальных адаптогенов. Бактерии способны самостоятельно продуцировать полиамины, а также импортировать их из внешней среды, где они образуются как продукты распада белков или секретируются клетками макроорганизма-хозяина [2, 7, 8].

Наряду с полиаминами, другим важным соединением, обладающим регуляторной функцией для жизнедеятельности бактерий, является индол. Этот метаболит продуцируется многими представителями грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая *Escherichia coli*, а также в значительных количествах присутствует в кишечном тракте млекопитающих, в том числе человека. Индол функционирует в качестве сигнальной молекулы, которая запускает каскад реакций, направленных на адаптацию бактерий к условиям окружающей среды [9].

В литературе появляются данные о том, что экзогенный индол способен повышать содержание путресцина и спермидина в клетках *E. coli* [10], что может свидетельствовать о перекрёстном взаимодействии регуляторных сетей, контролируемых полиаминами и индолом. Известно, что как индол, так и полиамины участвуют в регуляции физиологических процессов у бактерий, в адаптации к стрессу, биоплёнообразовании, антибиотикостойчивости и бактериальной персистенции, что имеет важное клиническое значение [3, 4, 9, 11–16]. Однако молекулярные мишени и механизм действия данных метаболитов до сих пор недостаточно изучены.

В данной работе нами проведены исследования по влиянию индола и полиаминов на экспрессию генов, участвующих в адаптации *E. coli* к стрессу. Среди них *relA*, кодирующий (p)ppGpp-синтазу, и *spoT*, кодирующий (p)ppGpp-синтазу/гидролазу. (p)ppGpp (гуанозинтетра(пента)фосфат) относят к классу алармонов, сигналов стресса, который выполняет функции глобального регулятора стринджен-ответа. RelA реагирует на связывание с рибосомой незаряженной тРНК при аминокислотном голодании, тогда как SpoT – на отклонение скорости трансляции от максимальной при голодании и других видах стресса. (p)ppGpp участвует в регуляции множества клеточных процессов, при этом его действие направлено на избежание на-

правной траты ресурсов в стрессорных условиях, что может сопровождаться формированием дормантного состояния [17, 18]. Под контролем (p)ppGpp находится экспрессия гена *rpoS* [19], который кодирует альтернативную σ^S -субъединицу РНК-полимеразы. Гены, промоторы которых имеют родство к данной σ -субъединице, объединены в *rpoS*-регулон, ответственный за адаптацию энтеробактерий к комплексному стрессорному воздействию в стационарной фазе [20, 21]. Кроме того, в данной работе исследованы уровни экспрессии генов-паралогов *hns* и *stpA*, которые кодируют ДНК-связывающие белки, выполняющие функции глобальных транскрипционных регуляторов [22, 23]. Также изучены гены *rmf*, *hpf*, *raiA*, *rsfS*, *sra*, *yajD*, *ettA*, кодирующие факторы гибернации рибосом, ответственные за ингибирование трансляции в условиях нехватки ресурсов [24].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования и условия культивирования. В качестве объектов исследования в работе использованы следующие штаммы *E. coli*: штамм дикого типа BW25141 (F⁻, Δ (*araD-araB*)567, Δ (*lacZ4787::rrnB-3*), Δ (*phoB-phoR*)580, λ -*galU95*, Δ (*uidA3::pir+*, *recA1*, *endA9*(*del-ins*))::FRT, *rph-1*, Δ (*rhaD-rhaB*)568, *hsdR514*) [25], а также полиамин-дефицитные штаммы HT306A (F⁻, *thr-1*, *araC14*, Δ (*speD98*, Δ (*gpt-proA*)62, *lacY1*, *glnX44*(AS), *galK2*(Oc), λ - Δ (*speB-speA*)97, Δ (*speC-glcB*)63, *rpsL25*(*strR*), *xylA5*, *mtl-1*, *thiE1*, *ampCp-1*, *cadA2*, *lacZ-*) [26] и SHT03 (как HT306A, но λ RZ5 *rpoS::lacZ*) (коллекция Лаборатории адаптации микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН). Штаммы *E. coli*, сохраняемые на скошенном LB-агаре («Sigma», США), высевали на полноценную среду LB («Amresco», США) и культивировали в термостате при температуре 37 °C. После суточного культивирования клетки пересевали на LB-бульон или на синтетическую минеральную среду M9 (+ 0,4 % глюкоза). После 16 ч культивирования при температуре 37 °C культуру использовали в качестве инокулята. В экспериментах с полиамин-дефицитными штаммами на минеральной среде культуру предварительно истощали по полиаминам посредством трёх последовательных пересевов на среде M9 (+ 0,4 % глюкоза), в итоге разводили до оптической плотности 0,45 (ОП₆₀₀), что соответствует 0 ч культивирования. В это время производили добавки полиаминов путресцина, кадавери-на и спермидина («Sigma», США) до конечной концентрации 0,1 мМ. В экспериментах по изучению динамики накопления полиаминов и индола в периодических культурах использовали штамм *E. coli* BW25141. При этом инокулят разводили свежей питательной средой, LB или M9 (+ 0,4 % глюкоза) соответственно, до оптической плотности 0,1 (ОП₆₀₀) в конечном объёме 50 мл и культивировали в термостатируемом шейкере GFL-1092 (GFL, Германия) при температуре 37 °C с перемешиванием (120 об./мин). Оптическую плотность бактериальных культур измеряли по величине абсорбции при 600 нм (ОП₆₀₀) с использованием спектрофотометра UV-1650PC (Shimadzu, Япония). В экспериментах по изучению накопления индола на 0 ч культивирования использовали триптофан 2 мМ (AppliChem, Германия) в качестве экзогенной добавки.

Определение содержания полиаминов. Концентрацию полиаминов определяли методом тонкослойной хроматографии их дансил-производных согласно ранее описанному протоколу [12].

Количественное определение индола. Концентрацию индола в среде определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии согласно ранее описанному протоколу [10].

ПЦР в реальном времени, сопряжённая с обратной транскрипцией. Генную экспрессию исследовали методом ПЦР в реальном времени, сопряжённой с обратной транскрипцией. Суммарную РНК выделяли с помощью коммерческого набора «GeneJET RNA Purification Kit» (Thermo Fisher Scientific, Литва) согласно протоколу. Концентрацию РНК в полученных пробах измеряли при ОП₂₆₀ (ОП – оптическая плотность), качество проб оценивали по соотношению ОП₂₆₀/ОП₂₈₀ и ОП₂₆₀/ОП₂₃₀ при помощи спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Литва). Интактность проб РНК оценивали методом электрофореза в 1%-ном агарозном геле с окрашиванием бромистым этидием. Пробы обрабатывали ДНКазой, входящей в состав коммерческого набора «TurboTM DNase» (2 У/мкл) (Thermo Fisher Scientific, Литва). Для синтеза кДНК в ходе обратной транскрипции в качестве праймеров использовали случайные наномерные олигонуклеотиды. Все реактивы, использованные для проведения реакции обратной транскрипции, произведены «Thermo Fisher Scientific» (Литва). Праймеры для ПЦР в реальном времени подобраны с помощью программы PrimerSelect версия 7.1.0 (DNASTAR Inc.) (табл. 1). ПЦР в реальном времени проводили с использованием коммерческого набора «qPCRmix-HS SYBR» (Евроген, Россия) на амплификаторе «CFX96 RT Systems C1000 Thermal Cycler» (BioRad, США). После завершения ПЦР строили кривые диссоциации для оценки отсутствия димеров праймеров и других артефактов. Данные обработаны при помощи программы LinRegPCR (2014.x) [27], нормализованы по суммарной РНК, представлены относительно контроля.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета стандартных программ Statistica 5.0 (StatSoft Inc., США). Повторность экспериментов – трёхкратная.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Регуляторный эффект полиаминов на экспрессию генов адаптации к стрессу у *E. coli*

Стимулирующий эффект полиаминов на экспрессию некоторых исследуемых нами генов ранее показан на трансляционном уровне [5, 6, 14]. Однако их влияние на транскрипционном уровне экспрессии остаётся недостаточно изученным. Аминогруппы полиаминов при физиологических условиях протонированы, что делает эти соединения способными взаимодействовать с отрицательно заряженными биомолекулами, в первую очередь с РНК и ДНК. Большая часть внутриклеточного пула полиаминов находится в комплексе с РНК. С этим связана регуляторная роль полиаминов в регуляции генной экспрессии

ТАБЛИЦА 1

ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

TABLE 1

PRIMERS USED IN REAL-TIME RT-PCR

Ген	Последовательность праймеров
<i>relA</i>	5'-GCTGAAGGCGTTAAAGCGGAAGTGT-3' 5'-CGGCAGGTGGCGATAGTGAGTGT-3'
<i>spoT</i>	5'-GCGCACGCTGGGCTCACTT-3' 5'-GCGCGGCTTTCACCACTTCTTT-3'
<i>rpoS</i>	5'-TGAAGATGCGGAATTTGATGAGAA-3' 5'-TCGGCCGTTAACAGTGGTGAA-3'
<i>stpA</i>	5'-GAAGAAGAACAGCAGCAGCGTGAA-3' 5'-CGTGACCGGTCCAGGTTTTAGTTT-3'
<i>hns</i>	5'-GTATTGACCCGAACGAACTGCT-3' 5'-TACCTTGCTCATCCATTGCTTTTT-3'
<i>rmf</i>	5'-CGCGCACATCAACGTGGTTATCA-3' 5'-GCCAGCCTCCAGCCATTGT-3'
<i>hpf</i>	5'-AGTGTTCATCTGAGGTGTGGGTGA-3' 5'-CCGGTCTATGTTGTTCTGAAAGTGGAG-3'
<i>raiA</i>	5'-GACGGGAAGACAAGAGGTAA-3' 5'-GTGGCGTCAGCAACAAAC-3'
<i>ettA</i>	5'-ATTACCCACGACCGTTACTTCCTC-3' 5'-GTACCCATTCCAGCTCTTCTCAA-3'
<i>rsfS</i>	5'-GACGTTTCAGGGCAAATCCAGCATC-3' 5'-GACAATCACATCGCCCAAATCCAC-3'
<i>yqjD</i>	5'-GCGCGTTCGGATGAGTAT-3' 5'-GCGACGCGACAGCAGA-3'
<i>sra</i>	5'-AGGCACGTCATATTTCTGGACTGGA-3' 5'-CGGTTGGGTTATTTACTACGCTGGAT-3'

на уровне трансляции. Тем не менее часть полиаминов находится во взаимодействии с ДНК, влияя на её топологические свойства и, соответственно, на транскрипцию генов [2, 3, 28, 29]. Эти данные послужили основанием для исследования регуляторных эффектов полиаминов на генную экспрессию на транскрипционном уровне.

В данной работе получены данные относительно накопления полиаминов в клетках и в среде. Согласно результатам исследования, внутриклеточное содержание полиаминов у полиамин-дефицитного штамма SHT03 при добавлении путресцина, кадаверина и спермидина в концентрации 0,1 мМ на 0 ч постепенно возрастало к стационарной фазе и достигало максимальных значений на 24 ч культивирования, что сопровождалось снижением содержания полиаминов в среде (рис. 1). Кроме того, установлено, что при физиологических условиях (без добавления полиаминов) у штамма дикого типа BW25141, выращенного на LB бульоне, внутриклеточное содержание путресцина и спермидина также увеличивается и достигает максимальных значений к стационарной фазе. При этом содержание путресцина значительно превышает концентрацию спермидина. Кадаверин же обнаружен лишь в следовых количествах (рис. 2).

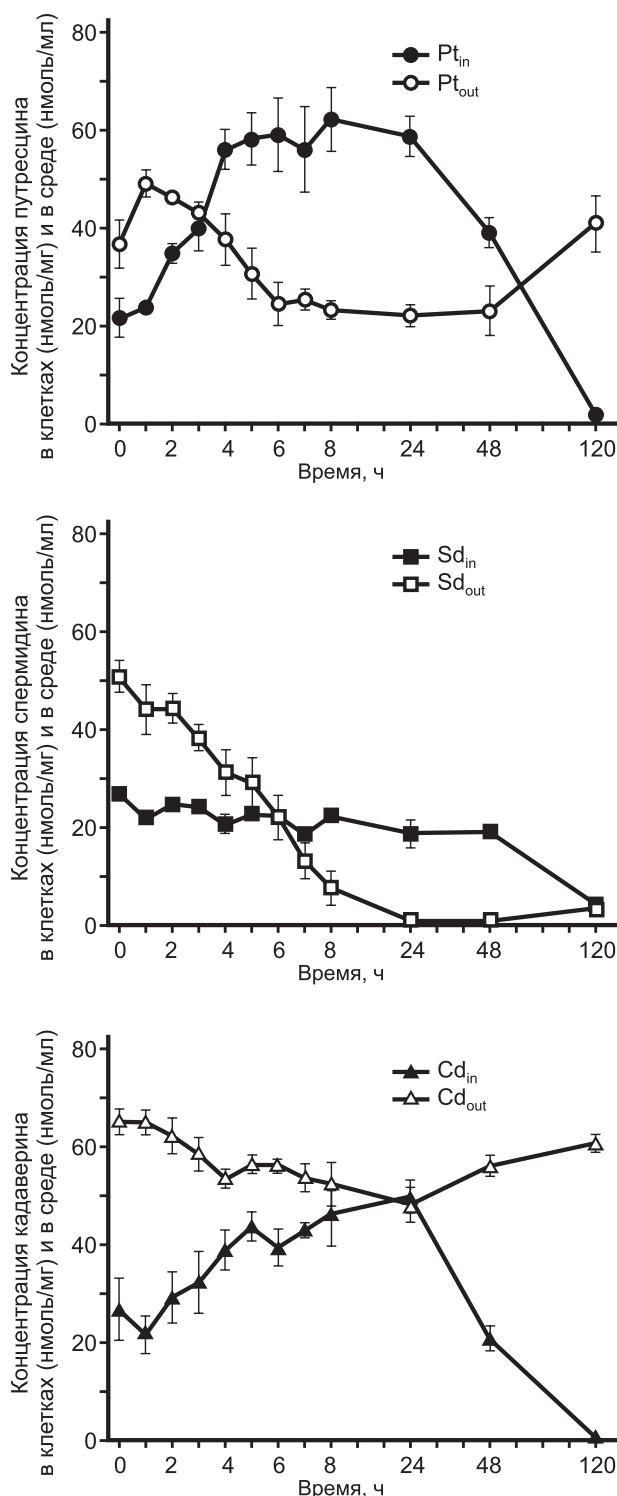


РИС. 1.

Содержание путресцина, спермидина и кадаверина в клетках и в среде полиамин-дефицитного штамма SHT03 при добавлении путресцина, кадаверина и спермидина по 0,1 мМ на 0 ч: Pt – путресцин; Cd – кадаверин; Sd – спермидин; in – внутриклеточное содержание; out – содержание в среде

FIG. 1.

The amount of putrescine, spermidine and cadaverine in cells and in the medium of the polyamine-deficient strain SHT03 with the addition of putrescine, cadaverine and spermidine at 0.1 mM at 0 h: Pt – putrescine; Cd – cadaverine; Sd – spermidine; in – the intracellular amount; out – the amount in the medium

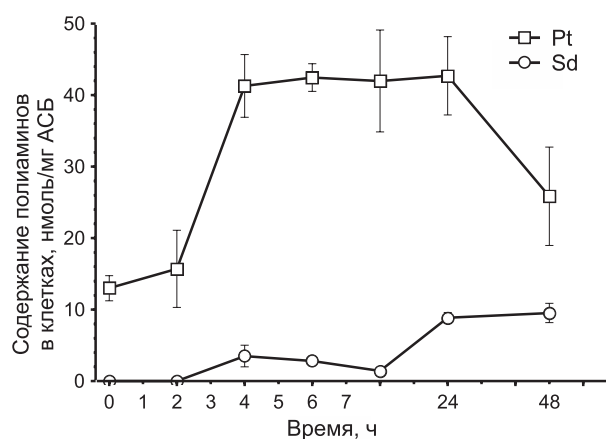


РИС. 2.

Внутриклеточное содержание полиаминов при физиологических условиях (без добавления полиаминов) у штамма дикого типа BW25141: Pt – путресцин; Sd – спермидин; АСБ – абсолютная сухая биомасса

FIG. 2.

The intracellular amount of polyamines under physiological conditions (without the addition of polyamines) in the wild-type strain BW25141: Pt – putrescine; Sd – spermidine; ACB – absolute dry biomass

Нами показано, что при добавлении полиаминов в среду увеличивается уровень экспрессии всех исследуемых генов (рис. 3, 4). При этом наибольший стимулирующий эффект полиаминов на экспрессию большинства из них наблюдается в стационарной фазе. Исключение составили гены *stpA* и *raiA*, максимальная стимуляция экспрессии которых показана в экспоненциальной фазе роста. При этом наибольший эффект на уровень их транскрипции оказывали путресцин и кадаверин.

Показано, что экспрессия генов *rpoS*, *relA* и *spoT*, кодирующих регуляторы общего стрессового ответа и голодания, стимулируется преимущественно спермидином в стационарной фазе, когда клетки подвержены воздействию ряда стрессов.

Регуляторный эффект полиаминов на гены-паралоги *hns* и *stpA*, кодирующие ДНК-связывающие белки, дифференцирован во времени и характеризуется специфичностью по отношению к различным полиаминам. За наибольшую стимуляцию транскрипции *stpA*, наблюдаемую в экспоненциальной фазе, ответственны путресцин и кадаверин, тогда как на экспрессию *hns* наибольший эффект оказывает спермидин в стационарной фазе. По-видимому, это связано с тем, что H-NS является глобальным репрессором и действует преимущественно в этот период [30, 31]. StpA и H-NS являются паралогами и функционируют совместно в виде гетеродимеров. Кроме того, StpA может существовать и самостоятельно в виде гомодимеров [22, 23]. Ранее считалось, что StpA играет лишь роль резервной копии H-NS, однако по мере накопления исследований, уточняющих функции StpA, данному фактору стала отводиться более самостоятельная

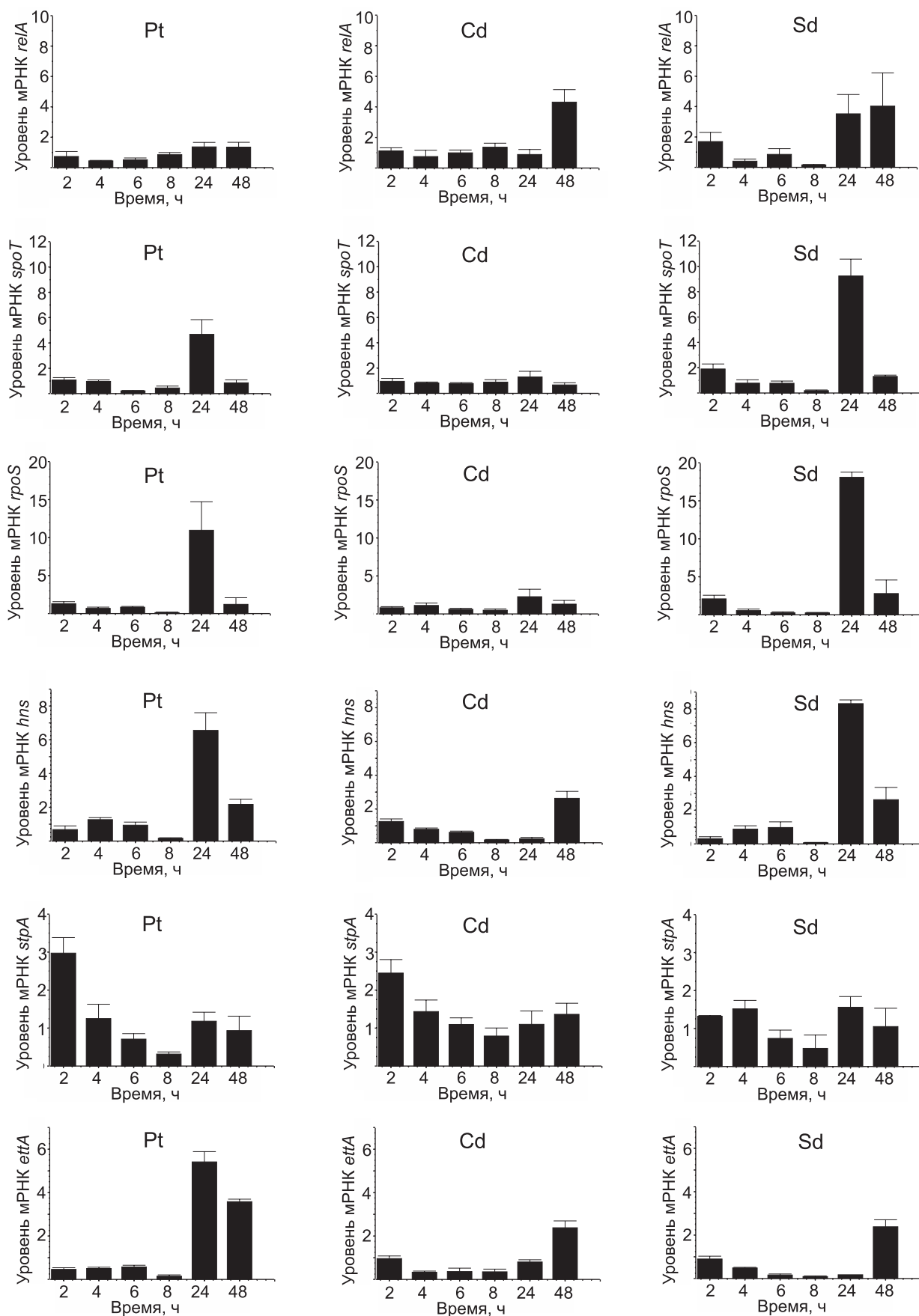


РИС. 3.

Полиамины стимулируют экспрессию генов *relA*, *spoT*, *rpoS*, *hns*, *stpA*, *ettA*: Pt – нутресцин; Cd – кадаверин; Sd – спермидин

FIG. 3.

Polyamines upregulate the expression of genes *relA*, *spoT*, *rpoS*, *hns*, *stpA*, *ettA*: Pt – putrescine; Cd – cadaverine; Sd – spermidine

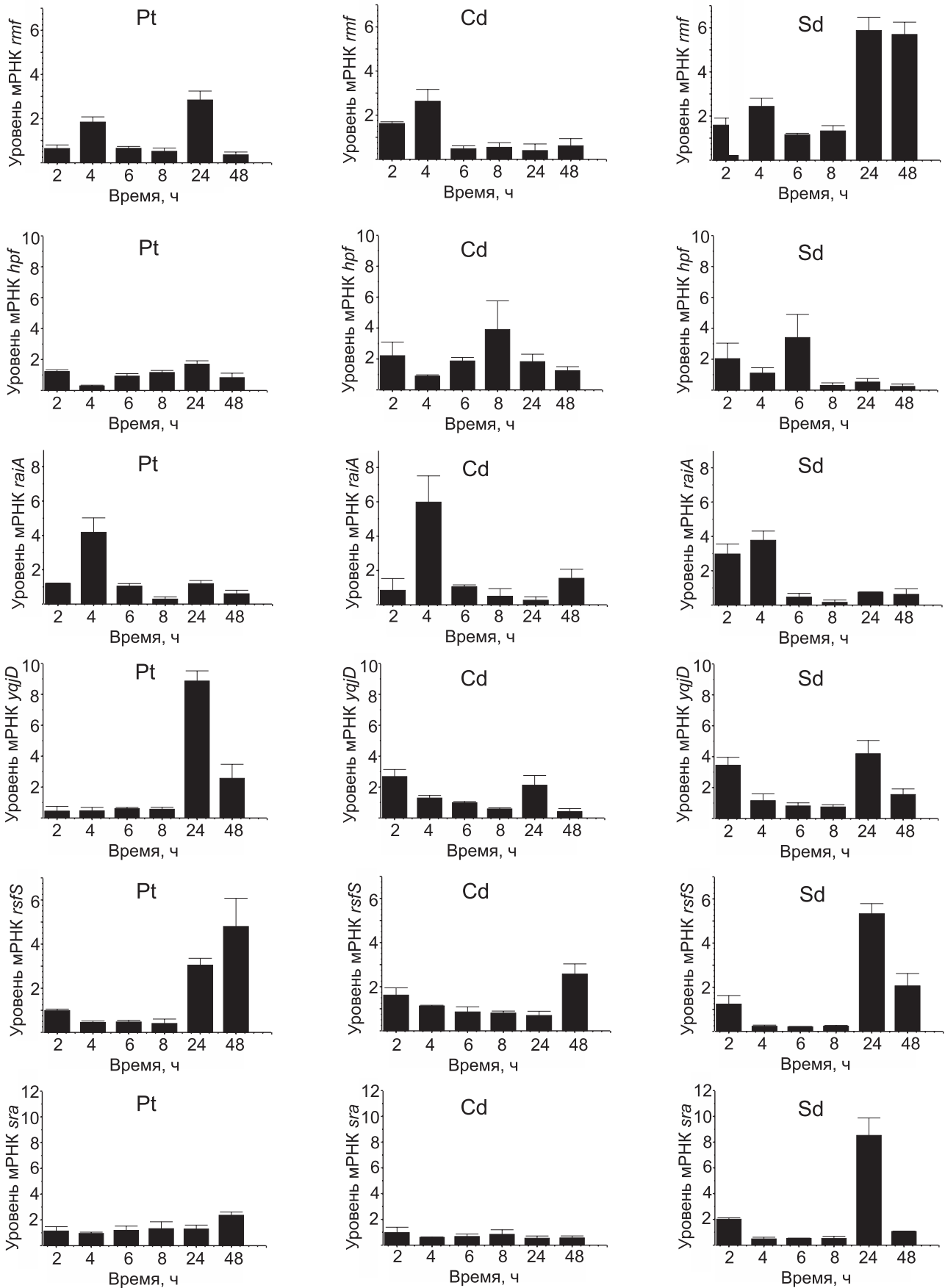


РИС. 4.

Полиамины стимулируют экспрессию генов *rmf*, *hpf*, *raiA*, *yqjD*, *rsfS*, *sra*: Pt – путресцин; Cd – кадаверин; Sd – спермидин

FIG. 4.

Polyamines upregulate the expression of genes *rmf*, *hpf*, *raiA*, *yqjD*, *rsfS*, *sra*: Pt – putrescine; Cd – cadaverine; Sd – spermidine

роль [32], что подтверждается данными, полученными в настоящей работе.

Стимулирующий эффект на экспрессию генов *rmf* и *hpf* преимущественно оказывает добавка спермидина, что наблюдается в стационарной фазе. В этот период факторы RMF и HPF функционируют совместно, формируя неактивные 100S димеры рибосом [33, 34]. Их антагонист, фактор RaiA, стабилизирует и инактивирует 70S мономеры рибосом [35]. На транскрипцию гена *raiA*, в отличие от *rmf* и *hpf*, наибольшее влияние оказывают путресцин и кадаверин в экспоненциальной фазе. Регуляторные эффекты на экспрессию остальных генов, кодирующих факторы гибернации рибосом, наблюдаются в стационарной фазе и обладают специфичностью по отношению к различным полиаминам: *ettA* и *yqjD* – к путресцину, *rsfS* – к путресцину и спермидину, *sra* – к спермидину. Факторы гибернации рибосом посредством различных механизмов ингибируют трансляцию. «Биологическая целесообразность» их активности в первую очередь обусловлена необходимостью избежать непроизводительных затрат энергии на синтез белка, один из самых энергоёмких процессов, в условиях голодания и других неблагоприятных воздействий [24]. В соответствии с этим, каждая из рибосом, присутствующих в бактериальной клетке в данный момент времени, может находиться как в активном, так и неактивном состоянии, благодаря действию различных механизмов гибернации рибосом, формирующих, таким образом, гетерогенный набор их неактивных форм. Специфическая зависимость генной экспрессии от полиаминов также может указывать на разделение функций между факторами гибернации рибосом.

Регуляторный эффект индола на экспрессию генов адаптации к стрессу у *E. coli*

Полученные нами результаты показывают, что экзогенный триптофан конвертируется в эквивалентное количество индола на 24 ч культивирования во время стационарной фазы (рис. 5). Согласно полученным данным, в течение 7 ч культивирования концентрация индола в среде с добавкой триптофана находится на низком уровне, сходном с контролем, однако резко возрастает на 24 ч культивирования. Известно, что реакция образования индола из триптофана у *E. coli* катализируется ферментом триптофаназой TnaA. Экспрессия *tnaA* находится под строгим контролем RpoS и происходит в стационарной фазе [36]. Это согласуется с данными о том, что внутриклеточная концентрация индола *E. coli*, культивируемой на полноценной среде, также значительно возрастает при переходе в стационарную фазу роста, достигая 60 мМ («пульс» индола) [37], и может быть ответственной за индукцию экспрессии факторов адаптации к стрессу.

Выявлено, что через 24 ч культивирования, когда происходит накопление индола в клетках с последующим его выходом в среду, наблюдается стимуляция экспрессии генов *raiA* и *rmf*, тогда как на экспрессию остальных генов индол влияния не оказывал (рис. 6).

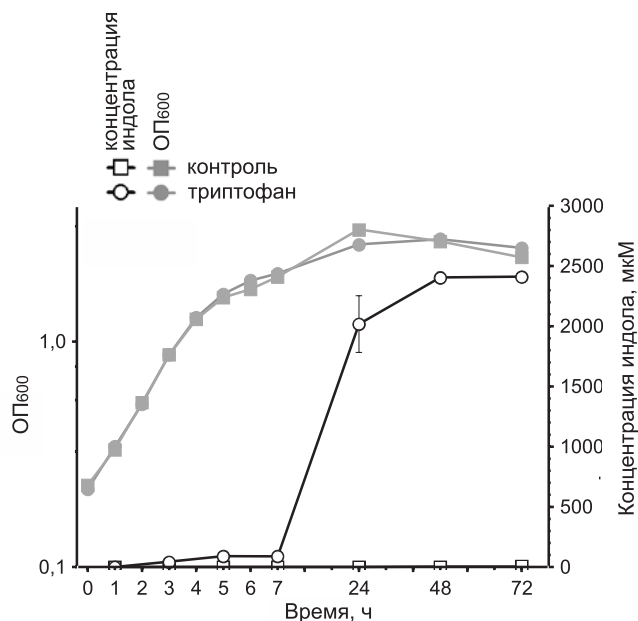


РИС. 5.

Триптофан эквивалентно превращается в индол на 24 ч культивирования: ОП – оптическая плотность

FIG. 5.

Tryptophan is equivalently converted to indole at 24 h: ОП – optical density

Таким образом, при переходе клеток *E. coli* в стационарную фазу происходит эквимольная конвертация экзогенного триптофана во внутриклеточный индол за счёт активности триптофаназы. Возрастание содержания индола в клетках впоследствии сменяется его выходом в среду. В этот период происходит стимуляция экспрессии факторов гибернации рибосом, основным предназначением которых является снижение активности трансляционных процессов в условиях стресса [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе исследовано влияние полиаминов и индола – продуктов метаболизма *E. coli* – на экспрессию генов, ответственных за адаптацию к стрессу. Выявлено, что полиамины в той или иной степени стимулируют экспрессию всех исследованных в данной работе генов. При этом стимулирующий эффект полиаминов на их транскрипционную активность специфичен по фазе культивирования и типу полиамина. В то же время индол влияет на экспрессию лишь двух генов из всех изученных нами в данной работе, а именно *raiA* и *rmf*. Выживание бактериальных клеток в неблагоприятных условиях обеспечивается функционированием различных механизмов стрессорного ответа, организованных в виде сложных, перекрещивающихся регуляторных сетей, которые осуществляют тонкую настройку генно-экспрессионного профиля клетки и её физиологического состояния адекватно условиям среды [1].

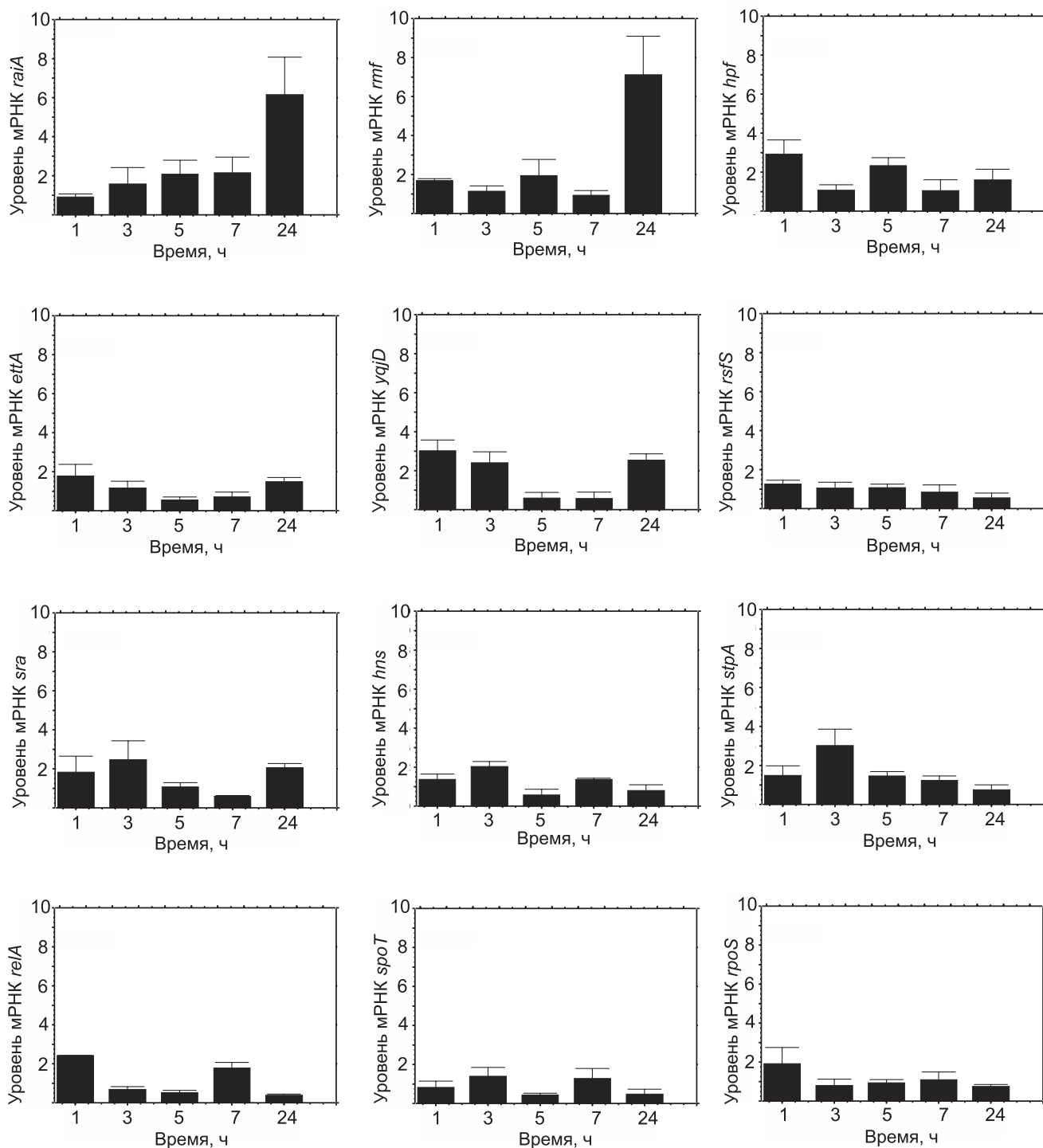


РИС. 6.

Регуляторный эффект индола на генную экспрессию

FIG. 6.

The regulatory effect of indole on gene expression

Полученные данные служат основанием для предположения, что основные факторы гибернации рибосом RMF и RaiA могут играть роль точки пересечения регуляторных сетей, контролируемых полиаминами и индолом. Это даёт перспективу для дальнейших исследований в данном направлении.

Финансирование

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 18-73-10156.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ткаченко А.Г. *Молекулярные механизмы стрессорных ответов у микроорганизмов*. Екатеринбург, 2012.
2. Tabor CW, Tabor H. Polyamines in microorganisms. *Microbiol Rev*. 1985; 49(1): 81-99. doi: 10.1128/mr.49.1.81-99.1985
3. Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y. Polyamines: Essential factors for growth and survival. *Planta*. 2008; 228(3): 367-381. doi: 10.1007/s00425-008-0772-7
4. Miller-Fleming L, Olin-Sandoval V, Campbell K, Ralser M. Remaining mysteries of molecular biology: The role of polyamines in the cell. *J Mol Biol*. 2015; 427(21): 3389-3406. doi: 10.1016/j.jmb.2015.06.020
5. Igarashi K, Kashiwagi K. Modulation of cellular function by polyamines. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010; 42(1): 39-51. doi: 10.1016/j.biocel.2009.07.009
6. Igarashi K, Kashiwagi K. Effects of polyamines on protein synthesis and growth of *Escherichia coli*. *J Biol Chem*. 2018; 293(48): 18702-18709. doi: 10.1074/jbc.TM118.003465
7. Igarashi K, Ito K, Kashiwagi K. Polyamine uptake systems in *Escherichia coli*. *Res Microbiol*. 2001; 152(3-4): 271-278. doi: 10.1016/S0923-2508(01)01198-6
8. Agostinelli E, Marques MP, Calheiros R, Gil FP, Tempera G, Viceconte N, et al. Polyamines: Fundamental characters in chemistry and biology. *Amino Acids*. 2010; 38(2): 393-403. doi: 10.1007/s00726-009-0396-7
9. Zarkan A, Liu J, Matuszewska M, Gaimster H, Summers DK. Local and universal action: The paradoxes of indole signalling in bacteria. *Trends Microbiol*. 2020; 28(7): 566-577. doi: 10.1016/j.tim.2020.02.007
10. Нестерова Л.Ю., Ахова А.В., Ткаченко А.Г. Влияние индола на содержание клеточных полиаминов и антибиотикочувствительность *Escherichia coli*. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2021; 76(4): 219-224.
11. Tkachenko AG, Nesterova LY. Polyamines as modulators of gene expression under oxidative stress in *Escherichia coli*. *Biochemistry (Mosc)*. 2003; 68(8): 850-856. doi: 10.1023/a:1025790729797
12. Tkachenko AG, Shumkov MS, Akhova AV. Putrescine as a modulator of the level of RNA polymerase sigma S subunit in *Escherichia coli* cells under acid stress. *Biochemistry (Mosc)*. 2006; 71(2): 185-193. doi: 10.1134/S0006297906020118
13. Tkachenko AG, Kashevarova NM, Karavaeva EA, Shumkov MS. Putrescine controls the formation of *Escherichia coli* persister cells tolerant to aminoglycoside netilmicin. *FEMS Microbiol Lett*. 2014; 361(1): 25-33. doi: 10.1111/1574-6968.12613
14. Tkachenko AG, Kashevarova NM, Tyuleneva EA, Shumkov MS. Stationary-phase genes upregulated by polyamines are responsible for the formation of *Escherichia coli* persister cells tolerant to netilmicin. *FEMS Microbiol Lett*. 2017; 364(9): fnx084. doi: 10.1093/femsle/fnx084
15. Shah P, Swiatlo E. A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. *Mol Microbiol*. 2008; 68(1): 4-16. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06126.x
16. Lang M, Krin E, Korlowski C, Sismeiro O, Varet H, Copée JY, et al. Sleeping ribosomes: Bacterial signaling triggers RaiA mediated persistence to aminoglycosides. *iScience*. 2021; 24(10): 103128. doi: 10.1016/j.isci.2021.103128
17. Magnusson LU, Farewell A, Nyström T. ppGpp: A global regulator in *Escherichia coli*. *Trends Microbiol*. 2005; 13(5): 236-242. doi: 10.1016/j.tim.2005.03.008
18. Haurlyuk V, Atkinson GC, Murakami KS, Tenson T, Gerdes K. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nat Rev Microbiol*. 2015; 13(5): 298-309. doi: 10.1038/nrmicro3448
19. Bougdour A, Gottesman S. ppGpp regulation of RpoS degradation via anti-adaptor protein IraP. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104(31): 12896-12901. doi: 10.1073/pnas.0705561104
20. Hengge-Aronis R. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the sigma(S) (RpoS) subunit of RNA polymerase. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2002a; 66(3): 373-395. doi: 10.1128/MMBR.66.3.373-395.2002
21. Hengge-Aronis R. Stationary phase gene regulation: What makes an *Escherichia coli* promoter sigmaS-selective? *Curr Opin Microbiol*. 2002b; 5(6): 591-595. doi: 10.1016/S1369-5274(02)00372-7
22. Williams RM, Rimsky S. Molecular aspects of the *E. coli* nucleoid protein, H-NS: A central controller of gene regulatory networks. *FEMS Microbiol Lett*. 1997; 156(2): 175-185. doi: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb12724.x
23. Johansson J, Eriksson S, Sondén B, Wai SN, Uhlin BE. Heteromeric interactions among nucleoid-associated bacterial proteins: localization of StpA-stabilizing regions in H-NS of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 2001; 183(7): 2343-2347. doi: 10.1128/JB.183.7.2343-2347.2001
24. Prossliner T, Skovbo Winther K, Sørensen MA, Gerdes K. Ribosome hibernation. *Annu Rev Genet*. 2018; 52: 321-348. doi: 10.1146/annurev-genet-120215-035130
25. Datsenko KA, Wanner BL. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(12): 6640-6645. doi: 10.1073/pnas.120163297
26. Tabor H, Hafner EW, Tabor CW. Construction of an *Escherichia coli* strain unable to synthesize putrescine, spermidine, or cadaverine: Characterization of two genes controlling lysine decarboxylase. *J Bacteriol*. 1980; 144(3): 952-956. doi: 10.1128/jb.144.3.952-956.1980
27. Ruijter JM, Ramakers C, Hoogaars WM, Karlen Y, Bakker O, van den Hoff MJ, et al. Amplification efficiency: Linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res*. 2009; 37(6): e45. doi: 10.1093/nar/gkp045
28. Rhee HJ, Kim EJ, Lee JK. Physiological polyamines: Simple primordial stress molecules. *J Cell Mol Med*. 2007; 11(4): 685-703. doi: 10.1111/j.1582-4934.2007.00077.x
29. Lightfoot HL, Hall J. Endogenous polyamine function – the RNA perspective. *Nucleic Acids Res*. 2014; 42(18): 11275-11290. doi: 10.1093/nar/gku837
30. Dorman CJ. H-NS: A universal regulator for a dynamic genome. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2(5): 391-400. doi: 10.1038/nrmicro883
31. Fang FC, Rimsky S. New insights into transcriptional regulation by H-NS. *Curr Opin Microbiol*. 2008; 11(2): 113-120. doi: 10.1016/j.mib.2008.02.011
32. Free A, Dorman CJ. The *Escherichia coli* stpA gene is transiently expressed during growth in rich medium and is induced in minimal medium and by stress conditions. *J Bacteriol*. 1997; 179(3): 909-918. doi: 10.1128/jb.179.3.909-918.1997
33. Wada A. Growth phase coupled modulation of *Escherichia coli* ribosomes. *Genes Cells*. 1998; 3(4): 203-208. doi: 10.1046/j.1365-2443.1998.00187.x

34. Polikanov YS, Blaha GM, Steitz TA. How hibernation factors RMF, HPF, and YfiA turn off protein synthesis. *Science*. 2012; 336(6083): 915-918. doi: 10.1126/science.1218538
35. Agafonov DE, Kolb VA, Nazimov IV, Spirin AS. A protein residing at the subunit interface of the bacterial ribosome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(22): 12345-12349. doi: 10.1073/pnas.96.22.12345
36. Li G, Young KD. Indole production by the tryptophanase TnaA in *Escherichia coli* is determined by the amount of exogenous tryptophan. *Microbiology (Reading)*. 2013; 159(Pt 2): 402-410. doi: 10.1099/mic.0.064139-0
37. Gaimster H, Cama J, Hernández-Ainsa S, Keyser UF, Summers DK. The indole pulse: A new perspective on indole signalling in *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2014; 9(4): e93168. doi: 10.1371/journal.pone.0093168

REFERENCES

1. Tkachenko AG. *Molecular mechanisms of stress responses of microorganisms*. Ekaterinburg, 2012. (In Russ.).
2. Tabor CW, Tabor H. Polyamines in microorganisms. *Microbiol Rev*. 1985; 49(1): 81-99. doi: 10.1128/mr.49.1.81-99.1985
3. Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y. Polyamines: Essential factors for growth and survival. *Planta*. 2008; 228(3): 367-381. doi: 10.1007/s00425-008-0772-7
4. Miller-Fleming L, Olin-Sandoval V, Campbell K, Ralser M. Remaining mysteries of molecular biology: The role of polyamines in the cell. *J Mol Biol*. 2015; 427(21): 3389-3406. doi: 10.1016/j.jmb.2015.06.020
5. Igarashi K, Kashiwagi K. Modulation of cellular function by polyamines. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010; 42(1): 39-51. doi: 10.1016/j.biocel.2009.07.009
6. Igarashi K, Kashiwagi K. Effects of polyamines on protein synthesis and growth of *Escherichia coli*. *J Biol Chem*. 2018; 293(48): 18702-18709. doi: 10.1074/jbc.TM118.003465
7. Igarashi K, Ito K, Kashiwagi K. Polyamine uptake systems in *Escherichia coli*. *Res Microbiol*. 2001; 152(3-4): 271-278. doi: 10.1016/s0923-2508(01)01198-6
8. Agostinelli E, Marques MP, Calheiros R, Gil FP, Tempera G, Viceconte N, et al. Polyamines: Fundamental characters in chemistry and biology. *Amino Acids*. 2010; 38(2): 393-403. doi: 10.1007/s00726-009-0396-7
9. Zarkan A, Liu J, Matuszewska M, Gaimster H, Summers DK. Local and universal action: The paradoxes of indole signalling in bacteria. *Trends Microbiol*. 2020; 28(7): 566-577. doi: 10.1016/j.tim.2020.02.007
10. Nesterova LY, Akhova AV, Tkachenko AG. Influence of indole on intracellular polyamines and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli*. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2021; 76(4): 219-224. (In Russ.).
11. Tkachenko AG, Nesterova LY. Polyamines as modulators of gene expression under oxidative stress in *Escherichia coli*. *Biochemistry (Mosc)*. 2003; 68(8): 850-856. doi: 10.1023/a:1025790729797
12. Tkachenko AG, Shumkov MS, Akhova AV. Putrescine as a modulator of the level of RNA polymerase sigma S subunit in *Escherichia coli* cells under acid stress. *Biochemistry (Mosc)*. 2006; 71(2): 185-193. doi: 10.1134/s0006297906020118
13. Tkachenko AG, Kashevarova NM, Karavaeva EA, Shumkov MS. Putrescine controls the formation of *Escherichia coli* persister cells tolerant to aminoglycoside netilmicin. *FEMS Microbiol Lett*. 2014; 361(1): 25-33. doi: 10.1111/1574-6968.12613
14. Tkachenko AG, Kashevarova NM, Tyuleneva EA, Shumkov MS. Stationary-phase genes upregulated by polyamines are responsible for the formation of *Escherichia coli* persister cells tolerant to netilmicin. *FEMS Microbiol Lett*. 2017; 364(9): fnx084. doi: 10.1093/femsle/fnx084
15. Shah P, Swiatlo E. A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. *Mol Microbiol*. 2008; 68(1): 4-16. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06126.x
16. Lang M, Krin E, Korlowski C, Sismeiro O, Varet H, Copée JY, et al. Sleeping ribosomes: Bacterial signaling triggers RaiA mediated persistence to aminoglycosides. *iScience*. 2021; 24(10): 103128. doi: 10.1016/j.isci.2021.103128
17. Magnusson LU, Farewell A, Nyström T. ppGpp: A global regulator in *Escherichia coli*. *Trends Microbiol*. 2005; 13(5): 236-242. doi: 10.1016/j.tim.2005.03.008
18. Haurlyuk V, Atkinson GC, Murakami KS, Tenson T, Gerdes K. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nat Rev Microbiol*. 2015; 13(5): 298-309. doi: 10.1038/nrmicro3448
19. Bougdour A, Gottesman S. ppGpp regulation of RpoS degradation via anti-adaptor protein IraP. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104(31): 12896-12901. doi: 10.1073/pnas.0705561104
20. Hengge-Aronis R. Signal transduction and regulatory mechanisms involved in control of the sigma(S) (RpoS) subunit of RNA polymerase. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2002a; 66(3): 373-395. doi: 10.1128/MMBR.66.3.373-395.2002
21. Hengge-Aronis R. Stationary phase gene regulation: What makes an *Escherichia coli* promoter sigmaS-selective? *Curr Opin Microbiol*. 2002b; 5(6): 591-595. doi: 10.1016/s1369-5274(02)00372-7
22. Williams RM, Rimsky S. Molecular aspects of the *E. coli* nucleoid protein, H-NS: A central controller of gene regulatory networks. *FEMS Microbiol Lett*. 1997; 156(2): 175-185. doi: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb12724.x
23. Johansson J, Eriksson S, Sonden B, Wai SN, Uhlin BE. Heteromeric interactions among nucleoid-associated bacterial proteins: localization of StpA-stabilizing regions in H-NS of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 2001; 183(7): 2343-2347. doi: 10.1128/JB.183.7.2343-2347.2001
24. Prossliner T, Skovbo Winther K, Sørensen MA, Gerdes K. Ribosome hibernation. *Annu Rev Genet*. 2018; 52: 321-348. doi: 10.1146/annurev-genet-120215-035130
25. Datsenko KA, Wanner BL. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(12): 6640-6645. doi: 10.1073/pnas.120163297
26. Tabor H, Hafner EW, Tabor CW. Construction of an *Escherichia coli* strain unable to synthesize putrescine, spermidine, or cadaverine: Characterization of two genes controlling lysine decarboxylase. *J Bacteriol*. 1980; 144(3): 952-956. doi: 10.1128/jb.144.3.952-956.1980
27. Ruijter JM, Ramakers C, Hoogaars WM, Karlen Y, Bakker O, van den Hoff MJ, et al. Amplification efficiency: Linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res*. 2009; 37(6): e45. doi: 10.1093/nar/gkp045
28. Rhee HJ, Kim EJ, Lee JK. Physiological polyamines: Simple primordial stress molecules. *J Cell Mol Med*. 2007; 11(4): 685-703. doi: 10.1111/j.1582-4934.2007.00077.x

29. Lightfoot HL, Hall J. Endogenous polyamine function – the RNA perspective. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18): 11275–11290. doi: 10.1093/nar/gku837
30. Dorman CJ. H-NS: A universal regulator for a dynamic genome. *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2(5): 391–400. doi: 10.1038/nrmicro883
31. Fang FC, Rimsky S. New insights into transcriptional regulation by H-NS. *Curr Opin Microbiol.* 2008; 11(2): 113–120. doi: 10.1016/j.mib.2008.02.011
32. Free A, Dorman CJ. The *Escherichia coli* stpA gene is transiently expressed during growth in rich medium and is induced in minimal medium and by stress conditions. *J Bacteriol.* 1997; 179(3): 909–918. doi: 10.1128/jb.179.3.909-918.1997
33. Wada A. Growth phase coupled modulation of *Escherichia coli* ribosomes. *Genes Cells.* 1998; 3(4): 203–208. doi: 10.1046/j.1365-2443.1998.00187.x
34. Polikanov YS, Blaha GM, Steitz TA. How hibernation factors RMF, HPF, and YfiA turn off protein synthesis. *Science.* 2012; 336(6083): 915–918. doi: 10.1126/science.1218538
35. Agafonov DE, Kolb VA, Nazimov IV, Spirin AS. A protein residing at the subunit interface of the bacterial ribosome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96(22): 12345–12349. doi: 10.1073/pnas.96.22.12345
36. Li G, Young KD. Indole production by the tryptophanase TnaA in *Escherichia coli* is determined by the amount of exogenous tryptophan. *Microbiology (Reading).* 2013; 159(Pt 2): 402–410. doi: 10.1099/mic.0.064139-0
37. Gaimster H, Cama J, Hernández-Ainsa S, Keyser UF, Summers DK. The indole pulse: A new perspective on indole signaling in *Escherichia coli*. *PLoS One.* 2014; 9(4): e93168. doi: 10.1371/journal.pone.0093168

Сведения об авторах

Хаова Елена Александровна – аспирант, лаборант лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН; младший научный сотрудник лаборатории органического синтеза, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4457-2652>

Кашеварова Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: nkashev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3751-8156>

Ткаченко Александр Георгиевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН; профессор кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Information about the authors

Elena A. Khaova – Postgraduate, Laboratory Assistant at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences; Junior Research Officer at the Laboratory of Organic Synthesis, Perm State National Research University, e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4457-2652>

Natalya M. Kashevarova – Junior Research Officer at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: nkashev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3751-8156>

Alexander G. Tkachenko – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences; Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State National Research University, e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

РОЛЬ АЛАРМОНА (p)ppGpp В РЕГУЛЯЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ ИНДОЛА КЛЕТКАМИ *ESCHERICHIA COLI* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ

Кашеварова Н.М.,
Ахова А.В.,
Хаова Е.А.,
Ткаченко А.Г.

«Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН» –
филиал ФГБУН Пермского федерального
исследовательского центра УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кашеварова Наталья Михайловна,
e-mail: nkashev@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Сигнальные молекулы индол (продукт катаболизма триптофана) и (p)ppGpp (регулятор стринджен-ответа) принимают участие в регуляции физиологических процессов, направленных на адаптацию бактериальных клеток к антибиотикам и стрессам. Однако вопрос о существовании связи между стринджен-ответом и индукцией синтеза индола требует более детального изучения.

Цель работы. Изучить влияние регулятора стринджен-ответа (p)ppGpp на продукцию индола клетками *Escherichia coli* в зависимости от содержания глюкозы в среде.

Материалы и методы. В данной работе исследована динамика накопления индола в периодических культурах родительского штамма *E. coli* BW25141 ((p)ppGpp⁺ штамм) и делеционного мутанта BW25141 $\Delta relA \Delta spoT$ ((p)ppGpp⁰ штамм) в глюкозо-минеральной среде М9, не содержащей триптофана, а также с добавкой 2 мМ триптофана. С целью изучения эффекта стресса голодания на способность бактериальных клеток синтезировать индол использовали модель лимитирования роста углеродным субстратом при двух концентрациях глюкозы – 0,1 % и 0,4 %.

Результаты. Показано, что отсутствие (p)ppGpp в клетках *E. coli* снижает их способность продуцировать индол в бестриптофановой среде и значительно замедляет скорость его накопления в среде, содержащей триптофан. Низкое содержание глюкозы (0,1 %) приводит к снижению образования индола клетками в среде, не содержащей триптофана. Наличие в среде предшественника синтеза индола триптофана, напротив, увеличивает продукцию индола в условиях добавки более низкой концентрации глюкозы как в (p)ppGpp⁺, так и в (p)ppGpp⁰ штаммах, демонстрируя прямую зависимость времени задержки начала образования индола от концентрации глюкозы, более выраженную в культуре мутанта, не способного к синтезу (p)ppGpp. Полученные данные интерпретируются нами как результат комплексного регуляторного воздействия механизма катаболитной репрессии и стринджен-ответа, вызванного действием алармона (p)ppGpp, на уровень экспрессии *tnaCAB* оперона, ответственного за биосинтез индола.

Ключевые слова: индол, (p)ppGpp, триптофан, триптофаназа, глюкоза, *Escherichia coli*, *relA*, *spoT*, адаптация

Для цитирования: Кашеварова Н.М., Ахова А.В., Хаова Е.А., Ткаченко А.Г. Роль алармона (p)ppGpp в регуляции образования индола клетками *Escherichia coli* в зависимости от содержания глюкозы. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 162-168. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.17

Статья получена: 17.03.2022

Статья принята: 20.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

ROLE OF ALARMONE (p)ppGpp IN THE REGULATION OF INDOLE FORMATION DEPENDING ON GLUCOSE CONTENT IN *ESCHERICHIA COLI*

Kashevarova N.M.,
Akhova A.V.,
Khaova E.A.,
Tkachenko A.G.

Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Ural Branch
Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalya M. Kashevarova,
e-mail: nkashev@mail.ru

ABSTRACT

Signaling molecules such as indole (product of tryptophan catabolism) and (p)ppGpp (stringent response regulator) are involved in regulation of physiological processes in bacterial cells aimed to adapt to antibiotics and stresses. However, question of existence of relationship between the stringent response and indole signaling requires more detailed investigation.

The aim. To study effect of stringent response regulator (p)ppGpp on indole production in *Escherichia coli* depending on glucose content.

Materials and methods. In this work, we studied the dynamics of indole accumulation in batch cultures of parent *E. coli* BW25141 ((p)ppGpp⁺ strain) and deletion mutant BW25141ΔrelAΔspoT ((p)ppGpp⁰ strain) in glucose-mineral tryptophan-free M9 medium, as well as with 2 mM tryptophan addition. In order to study effect of starvation stress on bacterial cell ability to synthesize indole, we used a model of growth limitation by carbon substrate at two glucose concentrations, 0.1 % and 0.4 %.

Results. We have shown here that (p)ppGpp absence in *E. coli* cells reduces their ability to produce indole in the tryptophan-free medium and significantly slows down the rate of its accumulation in the tryptophan-containing one. Low glucose concentration (0.1 %) leads to decrease in indole production by (p)ppGpp⁺ cells in the tryptophan-free medium. The presence of indole synthesis precursor, tryptophan, in growth medium, on the contrary, increases the production of indole at lower glucose concentration in both (p)ppGpp⁺ and (p)ppGpp⁰ strains demonstrating direct dependence of delay time for onset of indole formation on glucose content, which is more pronounced in the culture of deletion mutant unable of synthesizing (p)ppGpp. The data obtained can be interpreted as result of complex regulatory effect of catabolic repression and the stringent response caused by alarmone (p)ppGpp action on expression level of tnaCAB operon responsible for indole biosynthesis.

Key words: indole, (p)ppGpp, tryptophan, tryptophanase, glucose, *Escherichia coli*, relA, spoT, adaptation

Received: 17.03.2022
Accepted: 20.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Kashevarova N.M., Akhova A.V., Khaova E.A., Tkachenko A.G. Role of alarmone (p)ppGpp in the regulation of indole formation depending on glucose content in *Escherichia coli*. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 162-168. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.17

Индол – гетероциклическое ароматическое соединение, выполняющее регуляторные функции в метаболизме бактерий и продуцируемое более чем 85 их видами, – привлекает внимание исследователей на протяжении более 100 лет благодаря его значительному влиянию на физиологические процессы, направленные на адаптацию бактериальных клеток к стрессовым воздействиям, включая биоплёнообразование, антибиотикорезистентность, вирулентность, образование персистеров, подвижность [1]. Показано, что продукция индола клетками *E. coli*, осуществляемая при участии фермента триптофаназы TnaA и транспортного белка TnaB, максимальна в стационарной фазе роста на полноценной питательной среде. Стационарная фаза роста характеризуется формированием целого комплекса неблагоприятных воздействий на бактерии, что указывает на участие индола в адаптивном ответе клеток на стресс [2].

(p)ppGpp (гуанозинтетрафосфат/гуанозинпентафосфат) является ключевым компонентом строгого ответа (stringent response, стринджен-ответ) – регуляторного механизма бактерий при адаптации к различным стрессовым воздействиям, включая голодание по аминокислотам и источникам углерода и энергии. (p)ppGpp, выполняя роль сигнала стресса, за что он отнесён к группе алармонов, принимает участие в регуляции множества процессов в бактериальной клетке, включая транскрипцию, белковый и нуклеотидный синтез, репликацию, фосфатный метаболизм [3]. Показано также, что он играет ключевую роль в формировании бактериальной вирулентности и персистенции [4, 5, 6]. Синтез (p)ppGpp в клетках катализируется белками семейства RSH (RelA/SpoT Homolog) [7]. В клетках *E. coli* эту функцию выполняют белки RelA и SpoT [8].

Анализ литературы свидетельствует о том, что две сигнальные молекулы – алармон (p)ppGpp и индол – участвуют в регуляции сходных физиологических процессов в бактериальных клетках. Ранее высказано предположение о возможном существовании связи между стринджен-ответом и индольным сигналом [9], однако этот вопрос мало исследован и требует более детального изучения. В частности, до конца неизвестной остаётся природа сигнала, индуцирующего транспорт триптофана в клетку и его расщепление в цитоплазме до индола. Ранее показано, что эти процессы находятся под контролем катаболитной репрессии, и существенная роль в индукции индольного синтеза принадлежит циклическому АМФ (сАМФ) [10]. Однако появляются работы, указывающие на то, что наряду с сАМФ в регуляции синтеза индола определённая роль может принадлежать также (p)ppGpp [11]. В связи с этим **целью данной работы** является изучение влияния регулятора стринджен-ответа (p)ppGpp на продукцию индола клетками *E. coli* в глюкозо-минеральной среде М9 в зависимости от содержания глюкозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использованы штаммы *E. coli* BW25141 [12] и BW25141ΔrelAΔspoT (лабо-

раторная коллекция). Культуры, хранившиеся на агаризованной среде Лурия – Бергана (LB) (Sigma, США), высевали на пробирки с 5 мл жидкой среды LB (Sigma, США). Спустя 5 часов клетки пересеивали на колбы Эрленмейера объёмом 250 мл со средой М9, содержащей 0,1 % или 0,4 % глюкозы, и культивировали в течение 18 ч в термостатируемой шейкере (GFL 1092, Германия) при 37 °C и 120 об./мин. Ночные культуры разводили в 50 мл свежей среды М9 с соответствующими концентрациями глюкозы до оптической плотности $A_{600} = 0,2$ с внесением 2 мМ триптофана и без добавок (бестриптофановая среда) и далее культивировали при тех же условиях. В ходе экспоненциального роста пробы отбирали через каждые 2 часа для определения индола в среде культивирования, далее – в стационарной фазе – 1 раз в сутки. Оптическую плотность культур (A_{600}) измеряли на спектрофотометре UV-1650PC (Shimadzu, Япония) по величине абсорбции при 600 нм.

Генетическое конструирование. Генные нокауты получены с использованием системы сайт-специфической рекомбинации FLP/FRT по методу Datsenko и Wanner [12].

Концентрацию индола в среде измеряли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, предложенным Kim D. et al. [13], с небольшими изменениями. Хроматографическая система состояла из хроматографа LC-20A со спектрофотометрическим детектором SPD-M20A (Shimadzu, Япония), колонки Luna C18 (250 × 4,6 мм, 5 мкм) (Phenomenex, США), предколонки SecurityGuard C18 (4 × 3 мм) (Phenomenex, США). Разделение проводили при скорости потока мобильной фазы равной 1 мл/мин в изократическом режиме и 25 °C. Мобильная фаза состояла из смеси ацетонитрила (Криохром, Россия) и уксусной кислоты (0,039 %) в соотношении 1 : 1. Детектирование проводили при длине волны 280 нм. Для расчёта концентрации индола применяли метод внешнего стандарта с использованием предварительно построенной калибровочной кривой.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета стандартных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). На графиках представлены средние значения (3–5 экспериментов) ± стандартная ошибка среднего. Оценка статистической значимости различий средних произведена с использованием t-критерия Стьюдента ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Многие виды грамположительных и грамотрицательных бактерий синтезируют значительные количества индола в качестве сигнальной молекулы межклеточного взаимодействия в микробных сообществах. Биосинтез индола хорошо изучен у *E. coli*, культивируемых на разных источниках углерода и аминокислотах, показано влияние других факторов окружающей среды, таких как pH, температура, антибиотический стресс, на продукцию индола [14]. Основным его предшественником у индол-продуцирующих бактерий является аминокислота триптофан. Фермент триптофаназа, кодируемая геном *tnaA*, расщепляет триптофан до индола, пиру-

вата и аммония. В триптофановый путь синтеза индола вовлечены многие другие гены, включая *aroP*, *tnaB*, *trpE*, *tnaC*, *trpL*, *acrEF*, *mtr* [15]. Ранее показано, что источники углерода, такие как глюкоза, могут подавлять экспрессию *tnaA*, однако репрессивный эффект глюкозы полностью снимался при добавке в ростовую среду cAMP [16]. Известно, что гены триптофаназы *tnaA* и транспортного белка *tnaB*, входящие в *tnaCAB* оперон, находятся под контролем cAMP/CRP-зависимого механизма каталитической репрессии и индуцируются на уровне транскрипции при исчерпании углеводов и переходе клеток в стационарную фазу [17]. Другим механизмом, участвующим в адаптации бактерий к различным видам стресса, включая стационарную фазу роста, является стриндент-ответ, сопровождающийся синтезом (p)ppGpp. Исходя из этого, нельзя исключить, что, наряду с cAMP, (p)ppGpp также мог бы участвовать в регуляции синтеза индола. Это послужило основанием для предположения о возможности синергического эффекта двух регуляторных молекул на продукцию индола, которое косвенно подкрепляется данными о стимулирующем эффекте cAMP на синтез белка RelA, основного продуцента (p)ppGpp в клетках *E. coli* [18].

В качестве подтверждения этого предположения нами продемонстрировано участие (p)ppGpp в регуля-

ции биосинтеза индола клетками *E. coli* в зависимости от содержания глюкозы в среде, лишённой триптофана, и с добавкой 2 мМ экзогенного триптофана. Поскольку ответственными за поддержание определённого уровня (p)ppGpp в клетках *E. coli* являются белки RelA и SpoT, нами сконструирован делеционный мутант по 2 генам $\Delta relA \Delta spoT$, кодирующим основные ферменты синтеза (p)ppGpp. С целью изучения эффекта стресса голодания на способность клеток *E. coli* синтезировать индол использовали модель лимитирования роста углеродным субстратом в условиях периодического культивирования *E. coli* при двух концентрациях глюкозы – 0,1 % и 0,4 %.

Низкое содержание глюкозы в среде (0,1 %) в момент начала культивирования приводило к статистически значимому снижению оптической плотности культуры в стационарной фазе роста как родительского штамма, так и (p)ppGpp⁰ штамма (рис. 1). При этом внесение триптофана в концентрации 2 мМ не оказывало влияния на этот показатель для обоих штаммов. Делеция генов $\Delta relA \Delta spoT$ также приводила к снижению оптической плотности культуры мутантного штамма по сравнению с (p)ppGpp⁺ штаммом в стационарной фазе роста при обеих исследованных концентрациях глюкозы как в бестриптофановой среде, так и в условиях добавки триптофана (рис. 1а, б).

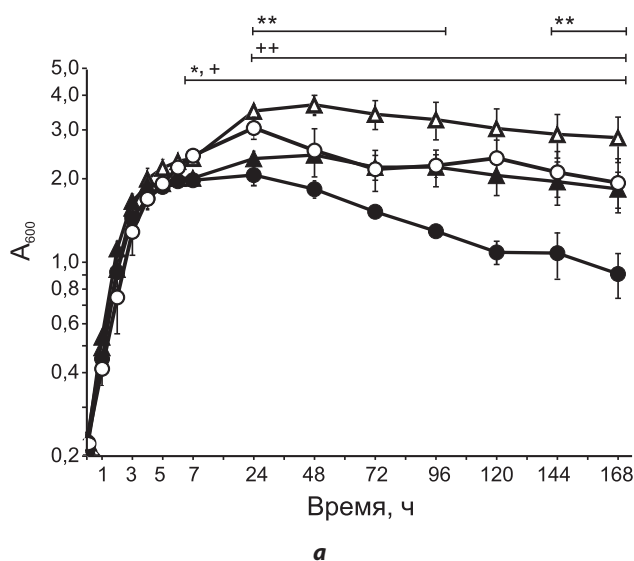


РИС. 1.

Изменение оптической плотности культур *E. coli* (p)ppGpp⁺ штамма (треугольники) и (p)ppGpp⁰ штамма (круги) при содержании 0,1 % и 0,4 % глюкозы (закрашенные и незакрашенные символы соответственно) при росте в среде без триптофана (а) и с добавкой 2 мМ триптофана (б): * – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁺ штамма при 0,4 % глюкозы; + – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ** – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ++ – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы ($p \leq 0,05$)

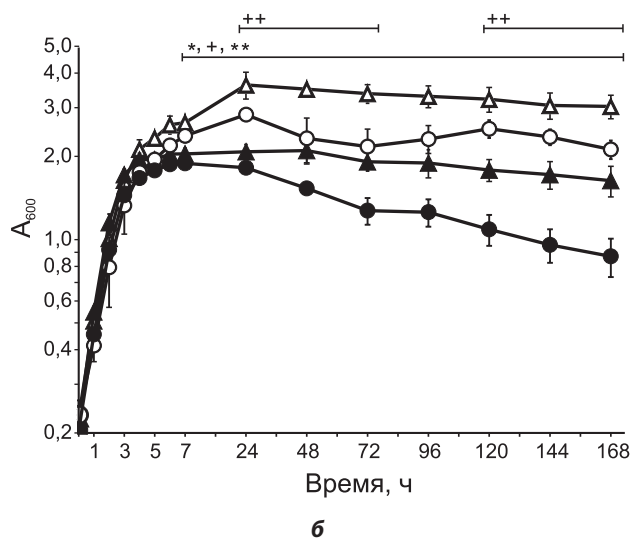


FIG. 1.

Changes in the optical density of *E. coli* cultures of (p)ppGpp⁺ strain (triangles) and (p)ppGpp⁰ strain (circles) at 0.1 % and 0.4 % glucose (filled and unfilled symbols, respectively) during growth in the medium without tryptophan (a) and with the addition of 2 mM tryptophan (b): * – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁺ strain at 0.4 % glucose; + – statistically significant difference between (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ** – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ++ – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose ($p \leq 0.05$)

При росте родительского (p)ppGpp⁺ штамма в минимальной среде М9 без триптофана с добавкой глюкозы в концентрации 0,4 % внеклеточный индол начинал обнаруживаться только после 24 ч культивирования и достигал максимальных значений к 96 ч, после чего его содержание в среде оставалось на постоянном уровне (около 20 мкМ) (рис. 2а). В то же время в культуре (p)ppGpp⁰ штамма уровень внеклеточного индола на протяжении 120 ч культивирования оставался значительно ниже, варьируя в диапазоне 0,1–0,5 мкМ и только к 168 ч достигал 1,7 мкМ. Таким образом, делеция генов *relA* и *spoT*, кодирующих основные ферменты синтеза (p)ppGpp в клетках, приводила к снижению продукции индола приблизительно в 10 раз в среде с добавкой глюкозы в концентрации 0,4 %. В условиях низкого содержания глюкозы (0,1 %) также отмечалось снижение содержания внеклеточного индола, синтезируемого клетками (p)ppGpp⁺ штамма, в 6 раз по сравнению с таковым в культуре с добавкой 0,4 % глюкозы (рис. 2а). Однако лимитирование субстратом в момент начала культивирования (0,1 % глюкозы) не оказывало влияния на образование индола в культуре (p)ppGpp⁰ мутанта.

Экзогенная добавка 2 мМ триптофана приводила к накоплению одинакового уровня индола к 96 ч культивирования в культурах (p)ppGpp⁺ штамма (при обеих исследованных концентрациях глюкозы), а также (p)ppGpp⁰ мутанта в условиях низкого содержания глю-

козы в среде (0,1 %) (рис. 2б). При этом в среде, содержащей 0,1 % глюкозы, возрастание концентрации индола в клетках (p)ppGpp⁺ штамма начиналось после 3 ч культивирования, а в среде с добавкой 0,4 % глюкозы – спустя 7 ч. Таким образом, длительность периода задержки начала возрастания продукции индола была пропорциональна концентрации глюкозы, внесённой в питательную среду в начале культивирования, что, очевидно, обусловлено более быстрым исчерпанием субстрата в среде с 0,1 % глюкозы, сопровождаемым синтезом в клетках cAMP, ответственного за индукцию *tnaCAB* оперона [10].

Делеционный мутант продемонстрировал значительную задержку во времени начала продукции индола по сравнению с (p)ppGpp⁺ штаммом пропорционально концентрации глюкозы. В культуре (p)ppGpp⁰ мутанта резкое возрастание продукции индола к 24 ч культивирования до 1,8 мМ, сходное с таковым в (p)ppGpp⁺ штамме, происходило только в условиях низкого содержания глюкозы в среде (0,1 %). При этом отсутствие (p)ppGpp статистически значимо снижало образование индола в экспоненциальной фазе роста на 5 и 7 ч культивирования, а также на 24 ч стационарной фазы по сравнению с родительским штаммом в 10, 5,5 и 1,5 раза соответственно. Однако при достижении максимальных уровней накопления индола к 48 ч культивирования его концентрация была лишь незначительно (~ в 1,2 раза)

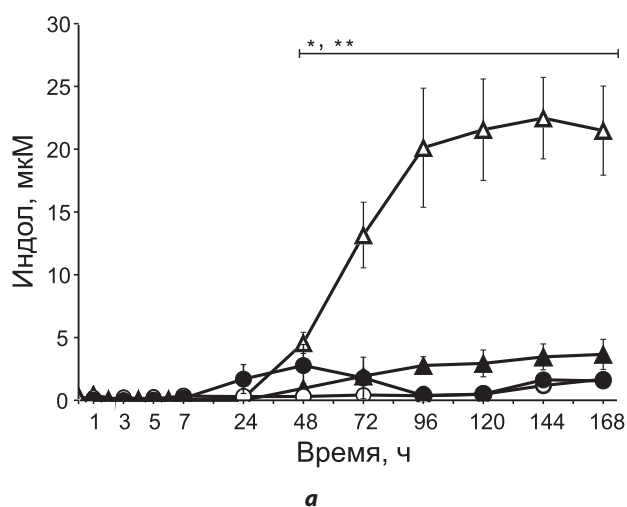


РИС. 2.

Продукция индола в культурах *E. coli* (p)ppGpp⁺ штамма (треугольники) и (p)ppGpp⁰ мутанта (круги) при содержании 0,1 % и 0,4 % глюкозы (закрашенные и незакрашенные символы соответственно) при росте в среде без триптофана (а) и с добавкой 2 мМ триптофана (б): * – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁺ штамма при 0,4 % глюкозы; + – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ** – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ++ – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы ($p \leq 0,05$)

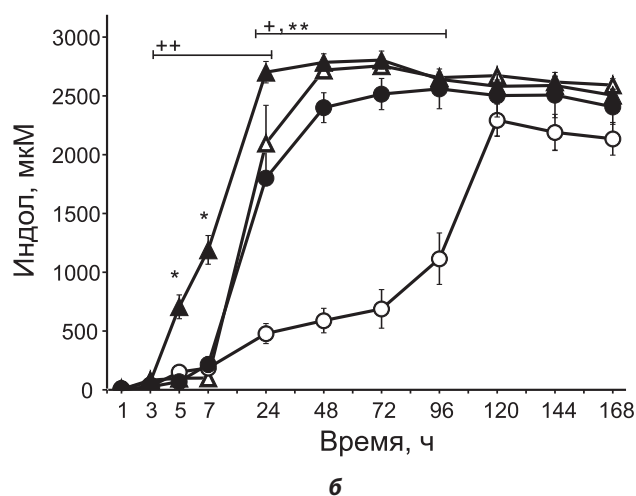


FIG. 2.

Indole production in *E. coli* cultures (p)ppGpp⁺ strain (triangles) and (p)ppGpp⁰ mutant (circles) at 0.1 % and 0.4 % glucose (filled and unfilled symbols, respectively) during growth in the medium without tryptophan (a) and with the addition of 2 mM tryptophan (b): * – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁺ strain at 0.4 % glucose; + – statistically significant difference between (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ** – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ++ – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose ($p \leq 0.05$)

ниже, чем у (p)ppGpp⁺ штамма. При дальнейшем культивировании различия в продукции индола между мутантным и родительским штаммами при низком содержании глюкозы (0,1 %) полностью исчезали после 72 ч культивирования. В отличие от этого в условиях внесения 0,4 % глюкозы к 48 ч культивирования (p)ppGpp⁰ мутант показал приблизительно 5-кратное снижение продукции индола по сравнению с (p)ppGpp⁺ штаммом. Следующее за этим возрастание содержания индола в (p)ppGpp⁰ культуре наблюдалось лишь по истечении 96 часов и достигало максимальных значений (2,3 мМ) к 120 ч культивирования. Это, по-видимому, совпадает с исчерпанием в среде источников углерода и энергии и снятием катаболической репрессии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что биосинтез индола клетками *E. coli* является (p)ppGpp-зависимым процессом. Так, отсутствие (p)ppGpp в клетках снижает их способность продуцировать индол в бестриптофановой среде и значительно замедляет скорость его накопления в среде, содержащей триптофан. Низкое содержание глюкозы (0,1 %) приводит к снижению образования индола клетками *E. coli* в среде, не содержащей триптофана. Наличие в среде предшественника синтеза индола – триптофана, напротив, увеличивает продукцию индола в условиях добавки более низкой концентрации глюкозы как в (p)ppGpp⁺ штамме, так и в (p)ppGpp⁰ штамме, демонстрируя прямую зависимость времени задержки начала образования индола от концентрации глюкозы, более выраженную в культуре мутанта, не способного к синтезу (p)ppGpp. Таким образом, эффект (p)ppGpp, сигнальной молекулы стринджен-ответа, в регуляции продукции индола клетками *E. coli* зависит от содержания глюкозы в среде культивирования, что проявляется в возрастании скорости накопления индола и сокращении времени достижения его максимальных значений при 0,1 % глюкозы на 24 ч, а в условиях 0,4 % глюкозы – на 72 ч в среде с добавкой триптофана.

Полученные результаты дают основание считать, что в основе индукции синтеза индола в клетках *E. coli* лежит взаимодействие различных адаптивных механизмов, формируемых в ответ на комплексное воздействие стрессовых факторов, действующих при переходе бактериальных клеток в стационарную фазу. Одним из них является стринджен-ответ, который сопровождается синтезом (p)ppGpp в ответ на аминокислотное голодание и замедление скорости роста клеток. Он действует в комплексе с механизмом катаболической репрессии, снятие которой индуцируется при исчерпании глюкозы и регулируется при участии cAMP.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (AAAA-A19-119112290009-1).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kim J, Park W. Indole: A signaling molecule or a mere metabolic byproduct that alters bacterial physiology at a high concentration? *J Microbiol.* 2015; 53(7): 421-428. doi: 10.1007/s12275-015-5273-3
- Vega N, Allison K, Khalil A, Collins J. Signaling-mediated bacterial persister formation. *Nat Chem Biol.* 2012; 8(5): 431-433. doi: 10.1038/nchembio.915
- Potrykus K, Cashel M. (p)ppGpp: Still magical? *Annu Rev Microbiol.* 2008; 62: 35-51. doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162903
- Korch SB, Henderson TA, Hill TM. Characterization of the *hipA7* allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol Microbiol.* 2003; 50(4): 1199-1213. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x
- Haurlyuk V, Atkinson GC, Murakami KS, Tenson T, Gerdes K. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nat Rev Microbiol.* 2015; 13(5): 298-309. doi: 10.1038/nrmicro3448
- Wood TK, Song S. Forming and waking dormant cells: The ppGpp ribosome dimerization persister model. *Biofilm.* 2020; 2: 100018. doi: 10.1016/j.biofilm.2019.100018
- Atkinson GC, Tenson T, Haurlyuk V. The RelA/SpoT Homolog (RSH) superfamily: Distribution and functional evolution of ppGpp synthetases and hydrolases across the tree of life. *PLoS One.* 2011; 6(8): e23479. doi: 10.1371/journal.pone.0023479
- Srivatsan A, Wang J. Control of bacterial transcription, translation and replication by (p)ppGpp. *Curr Opin Microbiol.* 2008; 11(2): 100-105. doi: 10.1016/j.mib.2008.02.001
- Liu S, Wu N, Zhang S, Yuan Y, Zhang W, Zhang Y. Variable persister gene interactions with (p)ppGpp for persister formation in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2017; 8: 1795. doi: 10.3389/fmicb.2017.01795
- Zarkan A, Liu J, Matuszewska M, Gaimster H, Summers DK. Local and universal action: The paradoxes of indole signalling in bacteria. *Trends Microbiol.* 2020; 28(7): 566-577. doi: 10.1016/j.tim.2020.02.007
- Sanchez-Vazquez P, Dewey CN, Kitten N, Ross W, Gourse RL. Genome-wide effects on *Escherichia coli* transcription from ppGpp binding to its two sites on RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116(17): 8310-8319. doi: 10.1073/pnas.1819682116
- Datsenko KA, Wanner BL. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97(12): 6640-6645. doi: 10.1073/pnas.120163297
- Kim D, Sitepu IR, Hashidokoa Y. Induction of biofilm formation in the betaproteobacterium *Burkholderia unamae* CK43B exposed to exogenous indole and gallic acid. *Appl Environ Microbiol.* 2013; 79(16): 4845-4852. doi: 10.1128/AEM.01209-13
- Han TH, Lee JH, Cho MH, Wood TK, Lee J. Environmental factors affecting indole production in *Escherichia coli*. *Res Microbiol.* 2011; 162(2): 108-116. doi: 10.1016/j.resmic.2010.11.005
- Hu M, Zhang C, Mu Y, Shen Q, Feng Y. Indole affects biofilm formation in bacteria. *Indian J Microbiol.* 2010; 50(4): 362-368. doi: 10.1007/s12088-011-0142-1
- Isaacs HJr, Chao D, Yanofsky C, Saier MHJr. Mechanism of catabolite repression of tryptophanase synthesis in *Escherichia coli*. *Microbiology.* 1994; 140(8): 2125-2134. doi: 10.1099/13500872-140-8-2125

17. Stewart V, Yanofsky C. Evidence for transcription anti-termination control of tryptophanase operon expression in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol.* 1985; 164(2): 731-740. doi: 10.1128/jb.164.2.731-740.1985

18. Amato SM, Orman MA, Brynildsen MP. Metabolic control of persister formation in *Escherichia coli*. *Mol Cell.* 2013; 50(4): 475-487. doi: 10.1016/j.molcel.2013.04.002

Сведения об авторах

Кашеварова Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: nkashev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3751-8156>

Ахова Анна Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: akhovan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

Хаова Елена Александровна – лаборант лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4457-2652>

Ткаченко Александр Георгиевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Information about the authors

Natalya M. Kashevarova – Junior Research Officer at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: nkashev@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3751-8156>

Anna V. Akhova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: akhovan@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

Elena A. Khaova – Laboratory Assistant at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4457-2652>

Alexander G. Tkachenko – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА И УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА У ДЕТЕЙ ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА ПРИ РАЗНОЙ КОГНИТИВНОЙ НАГРУЗКЕ

РЕЗЮМЕ

Догадкина С.Б.,
Ермакова И.В.,
Адамовская О.Н.,
Кмить Г.В.,
Рублева Л.В.,
Шарапов А.Н.

ФГБНУ «Институт возрастной физиологии
Российской академии образования»
(119121, г. Москва, ул. Погодинская, 8.,
корп. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ермакова Ирина Владимировна,
e-mail: ermek61@mail.ru

Актуальность. Актуальной задачей возрастной физиологии является изучение функционального состояния организма детей школьного возраста при когнитивной деятельности из-за большой учебной нагрузки и использования в образовательном процессе информационно-компьютерных технологий. Выявление особенностей реактивности организма обучающихся при выполнении когнитивной нагрузки разного вида, в том числе и на электронных устройствах, необходимо для организации школьной образовательной среды.

Цель исследования. Оценить характер вегетативной, сердечно-сосудистой и гормональной реактивности при когнитивной нагрузке разного вида у детей школьного возраста.

Материалы и методы. Методами анализа вариабельности сердечного ритма, электрокардиографии, тонометрии и иммуноферментного определения кортизола в слюне обследовано 117 детей школьного возраста при выполнении когнитивной нагрузки разного вида.

Результаты. При выполнении школьниками когнитивной нагрузки происходит изменение показателей вариабельности сердечного ритма. Устный счёт вызывает рост симпатических влияний на сердечный ритм при снижении парасимпатической активности, а также сдвиг вагосимпатического баланса. Работа на электронных устройствах вызывает снижение общей плотности мощности спектра и увеличение показателя соотношения низкочастотных и высокочастотных колебаний за счёт снижения парасимпатической активности.

Выявлено два типа реакции: I тип – повышение концентрации кортизола в слюне, повышение симпатических влияний на сердечный ритм с одновременным снижением парасимпатической активности (счёт), снижение общей плотности мощности спектра (ноутбук), уменьшение парасимпатической активности (планшет). II тип – понижение уровня гормона и снижение очень низкочастотных колебаний и парасимпатической активности независимо от вида предъявляемой нагрузки.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что характер реактивности показателей сердечного ритма и стресс-гормона кортизола у обучающихся зависит не столько от того на каком электронном устройстве она выполняется, а от вида когнитивной нагрузки.

Ключевые слова: дети школьного возраста, когнитивная нагрузка, вариабельность сердечного ритма, кортизол

Статья получена: 12.11.2021
Статья принята: 28.04.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Догадкина С.Б., Ермакова И.В., Адамовская О.Н., Кмить Г.В., Рублева Л.В., Шарапов А.Н. Вариабельность сердечного ритма и уровень кортизола у детей школьного возраста при разной когнитивной нагрузке. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 169-179. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.18

HEART RATE VARIABILITY AND CORTISOL LEVELS IN SCHOOL-AGE CHILDREN WITH DIFFERENT COGNITIVE TESTS

Dogadkina S.B.,
Ermakova I.V.,
Adamovskaya O.N.,
Kmit G.V.,
Rubleva L.V.,
Sharapov A.N.

Institute of Development Physiology
of the Russian Academy of Education
(Pogodinskaya str. 8, build. 2, Moscow
119121, Russian Federation)

Corresponding author:
Irina V. Ermakova,
e-mail: ermek61@mail.ru

ABSTRACT

Background. An urgent task of age-related physiology is to study the functional state of the body of school-age children in cognitive activity due to the large academic load and the use of information and computer technologies in the educational process to identify the characteristics of the reactivity of the body of students when performing cognitive load of various types, including on electronic devices, is necessary for the organization of the school educational environment.

The aim. To assess the nature of vegetative, cardiovascular and hormonal reactivity in cognitive load of various types in school-age children.

Materials and methods. By methods of heart rate variability analysis, electrocardiography, tonometry and enzyme immunoassay of cortisol in saliva, 117 school-age children were examined while performing cognitive load of various types.

Results. There is a change in heart rate variability indicators while performing cognitive load. Oral counting causes an increase in sympathetic influences on the heart rate with a decrease in parasympathetic activity, as well as a shift in the vagosympathetic balance. Operation on the electronic devices causes a decrease in the total power density of the spectrum and an increase in the index of low-frequency and high-frequency vibrations ratio due to a decrease in parasympathetic activity. Two types of reaction were revealed: type I – an increase in the concentration of cortisol in saliva, an increase in sympathetic effects on Heart rate with a simultaneous decrease in parasympathetic activity (counting), a decrease in the total power of the spectrum density (laptop), a decrease in parasympathetic activity (tablet). Type II – a decrease in hormone levels and a decrease in very low-frequency vibrations and parasympathetic activity, regardless of the type of load presented

Conclusion. The results obtained indicate that the nature of the reactivity of heart rate indicators and the stress hormone cortisol in students depends not so much on which electronic device it is performed on, but on the type of cognitive load.

Key words: school-age children, cognitive test, cardiovascular system, heart rate variability, cortisol

Received: 12.11.2021
Accepted: 28.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Dogadkina S.B., Ermakova I.V., Adamovskaya O.N., Kmit G.V., Rubleva L.V., Sharapov A.N. Heart rate variability and cortisol levels in school-age children with different cognitive tests. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 169-179. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.18

ОБОСНОВАНИЕ

Учебная деятельность, в основе которой лежат когнитивные процессы, является основной для детей школьного возраста. Когнитивная нагрузка оказывает значительное влияние на организм человека [1]. Поэтому важной задачей возрастной физиологии является изучение функционального состояния организма детей школьного возраста при когнитивной деятельности в связи с большими учебными нагрузками и использованием в образовательном процессе информационно-компьютерных технологий, которые влияют не только на уровень и качество обучения в школе [2, 3], но и на организм обучающихся.

Известно, что при когнитивной нагрузке увеличивается потребность в интенсивном кровоснабжении головного мозга, а, следовательно, отмечается более выраженная активность сердечно-сосудистой системы [4], когда увеличивается частота сердечных сокращений, повышается артериальное давление [5–7]. При поддержании деятельности интенсивно работающих органов происходит перестройка вегетативных регуляторных влияний. Биологическим маркером таких перестроек является сердечный ритм, в управлении которым участвуют различные зоны головного мозга, в том числе префронтальная кора больших полушарий и миндалина [8, 9].

Известно, что при умственной деятельности изменяется вариабельность сердечного ритма [7, 10, 11] и уровень стресс-гормона кортизола [12] – главных биологических маркеров адаптации организма к факторам внутренней и внешней среды. Динамика вариабельности сердечного ритма и концентрации кортизола во время любой деятельности отражает стресс-реактивные и адаптивные возможности организма.

Вероятно, физиологическая реакция детского организма будет различаться в зависимости от объёма или вида когнитивной нагрузки, однако работ, посвящённых этой проблеме, крайне мало [13]. По-прежнему недостаточно изученным является влияние когнитивной нагрузки, выполняемой на электронных устройствах, на функциональное состояние организма обучающихся.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель настоящего исследования заключается в изучении особенностей вариабельности сердечного ритма и гормональной реактивности при когнитивной нагрузке разного вида, в том числе выполняемой на электронных устройствах, у детей школьного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 117 детей школьного возраста, относящихся к I–II группам здоровья (средний возраст – $10,67 \pm 0,07$ года), обучающиеся в 4–5-м классе во втором полугодии учебного года. Критериями исключения были острое инфекционное заболева-

ние или обострение хронического заболевания. До начала обследования родители участников дали письменное информированное согласие.

В качестве когнитивной нагрузки использовали счёт в уме (последовательное вычитание числа 7 из 100) – КН1 и компьютеризированный вариант теста «Таблицы Шульте», выполняемый на ноутбуке – КН2 и планшете – КН3. Когнитивная нагрузка выполнялась в течение 5 минут. Обследуемые выполняли тест на планшете, ноутбуке и счёт в уме в разные исследовательские дни.

С целью оценки вариабельности сердечного ритма (BCP) проводили регистрацию ЭКГ с помощью компьютерного кардиографа «Поли-Спектр-12» («Нейрософт», г. Иваново). Регистрацию ЭКГ проводили в положении обследуемого сидя до предъявления когнитивного задания (исходное состояние) и на 3–5-й минуте выполнения теста (нагрузка). Кардиоинтервалограммы изучали методами временного и спектрального анализа вариабельности сердечного ритма. Для оценки BCP использовали показатели временного (среднее значение продолжительности R-R-интервалов (RRNN), мс); стандартное отклонение величин нормальных R-R-интервалов (SDNN, мс); квадратный корень из среднего квадратов разностей величин последовательных пар интервалов N-N (RMSSD, мс); доля последовательных интервалов N-N, различие между которыми превышает 50 мс (pNN50, %) и спектрального (общая мощность спектра (TP, мс²); мощность высокочастотных (HF, мс²), низкочастотных (LF, мс²) и очень низкочастотных (VLF, мс²) колебаний) анализа. Для оценки баланса отделов вегетативной нервной системы (ВНС) (соотношение симпатических и парасимпатических влияний) использовали отношение LF/HF [14].

Состояние центральной гемодинамики определяли по следующим показателям: систолическое (САД, мм рт. ст.) и диастолическое (ДАД, мм рт. ст.) артериальное давление, частота сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин). Давление и частота пульса измерялись с помощью цифрового аппарата AND модель UA-777 (Япония). Данные показатели регистрировались в состоянии относительного покоя (исходное состояние) и после тестового задания (нагрузка), с интервалом 1–2 мин.

Реакцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГНЧ) оценивали по концентрации кортизола в слюне, которую собирали до и после когнитивной нагрузки (с интервалом 2–3 мин) в положении сидя. Концентрацию гормона (в нг/мл) определяли на анализаторе «StatFax 2100» (США), применяемом для иммуноферментного анализа (ИФА), с помощью коммерческих наборов фирмы «DRG International, Inc.». Пробы до ИФА хранили при температуре –20 °С. Анализы выполнялись согласно протоколу диагностического набора фирмы-производителя.

Исследование проводили в первой половине дня (с 9.00 до 13.00 ч.).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы «SPSS-23». Так как большинство изучаемых показателей имело распределение отличное от нормального, применяли методы непараметрической статисти-

ки, вычисляя медиану (ME), и интерквартильный размах (25-й – Q1 и 75-й – Q3 квантили). Использовали критерий Уилкоксона при попарном сравнении сопряжённых выборок и критерий Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни для сравнения независимых выборок. При проведении корреляционного анализа для оценки тесноты статистической связи между показателями использовали коэффициент Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Основополагающим принципом исследования было отсутствие риска для здоровья детей, соблюдение гуманитарных и этических норм согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ред. 2013 г.). Работа проводилась в соответствии с решением комитета по биоэтике ФГБНУ «ИВФ РАО» (протокол № 3 от 14.10.2021).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Активность вегетативной нервной системы, обеспечивающей адаптацию организма к когнитивной деятельности, оценивали по показателям временного и спектрального анализа вариабельности сердечного ритма. Данные представлены в таблице 1. Оценена система нейрогуморальной регуляции как неспецифическая система адаптации к воздействию когнитивной нагрузки разного вида: КН1 против КН2 и КН3.

Спектральный и временной анализ вариабельности сердечного ритма у детей школьного возраста не выявил статистически значимых половых различий в значениях исследованных показателей, в связи с чем оценка реакции вегетативной регуляции сердечного ритма проводилось в общей группе.

Анализ реактивности ВСР при выполнении КН1 показал статистически значимое увеличение показателя низкочастотного компонента спектра LF и сдвига вагосимпатического баланса в сторону симпатической активности: LF/HF, у. е. ($p = 0,000$), что свидетельствует об усилении симпатических влияний на ВСР. Отмечается также

снижение активности парасимпатического отдела ВСР (HF, RMSSD, pNN50; $p = 0,002-0,000$). Вероятно, что КН1 вызывает сильное напряжение. Статистически значимое снижение VLF ($p = 0,004$) в данном случае свидетельствует об ослаблении связи автономных уровней регуляции с надсегментарными, в том числе с гипофизарно-гипоталамическим уровнем.

Выполнение КН2 и КН3 привело к значимому снижению общей вариабельности сердечного ритма (снижение показателей TP, SDNN: КН2 – $p = 0,007$ и $p = 0,002$; КН3 – $p = 0,001$ и $p = 0,001$ соответственно); наблюдается выраженное угнетение активности парасимпатического отдела ВНС (снижение показателей RMSSD, pNN50: КН2 – $p = 0,001$ и $p = 0,000$; КН3 – $p = 0,001$ и $p = 0,000$ соответственно), снижение мощности HF-компонента и сдвиг вегетативной нервной системы в сторону симпатических влияний (увеличение показателя LF/HF), т. е. отмечается относительное увеличение активности симпатoadrenalной системы. Низкочастотный компонент спектра, свидетельствующий о симпатической активности, статистически значимо не изменяется. Колебания ВСР в диапазоне VLF, отражающие нейрогуморальный и метаболический уровень регуляции, статистически значимо снижаются при КН2 ($p = 0,002$), но не при КН3 ($p = 0,125$).

Исходя из межиндивидуальных различий тонической активности вегетативной нервной системы и её влияния на сердечный ритм, можно предположить наличие нескольких типов вегетативной адаптации к когнитивной деятельности. Был проведён анализ индивидуальных различий динамики вариабельности сердечного ритма во время когнитивной нагрузки (т. к. различий изучаемых показателей в исходном состоянии не выявлено, анализировали группу в целом), что позволило выявить два типа адаптации вегетативных регуляторных механизмов к нагрузке. Основой для классификации послужило изменение общей плотности мощности – интегрального показателя, учитывающего степень активации как симпатических, так и парасимпатических влияний на сердечный ритм (рис. 1).

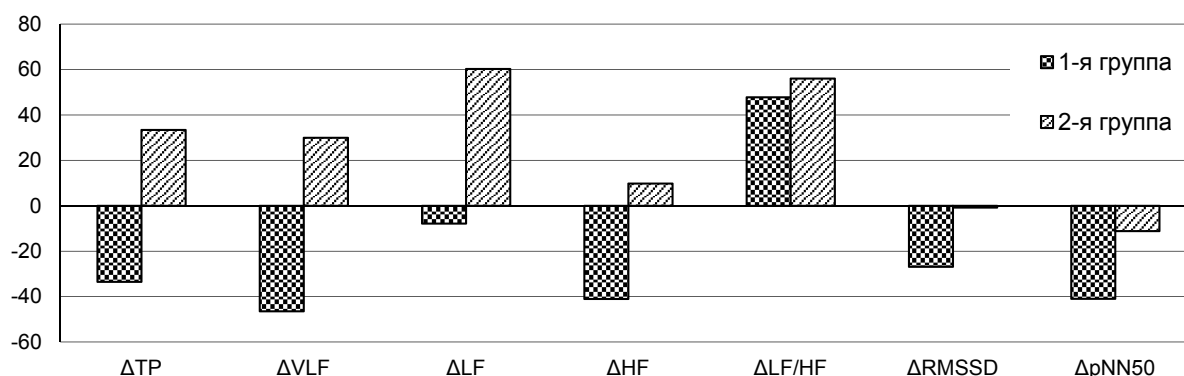


РИС. 1.

Изменения показателей временного и спектрального анализа вариабельности сердечного ритма при разных типах реакции TP во время выполнения когнитивного задания:

1-я группа – ΔTP снижается; 2-я группа – ΔTP увеличивается; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

FIG. 1.

Changes in the indicators of temporal and spectral analysis of heart rate variability in dependence of different types of TP response during the cognitive tests: group 1 – ΔTP decreases; group 2 – ΔTP increases; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$

ТАБЛИЦА 1
ПОКАЗАТЕЛИ ВРЕМЕННОГО И СПЕКТРАЛЬНОГО
АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО
РИТМА ДЕТЕЙ В ПОКОЕ И ВО ВРЕМЯ ВЫПОЛНЕНИЯ
КОГНИТИВНОГО ТЕСТА ME (Q1; Q3)

TABLE 1
INDICATORS OF TEMPORAL AND SPECTRAL ANALYSIS
OF CHILDREN'S HEART RATE VARIABILITY AT REST
AND DURING THE COGNITIVE TEST, ME (Q1; Q3)

Показатели	Проба	КН1 (n = 39)	КН2 (n = 39)	КН3 (n = 39)
TP, мс ²	фон	4038,0 (1558,0; 6079,0)	3128,0 (1675,0; 5412,0)	3784,0 (2363,0; 6647,0)
	нагрузка	3588,0 (2250,0; 5230,0)	1957,0 (1436,0; 4741,0)	2812,0 (1818,0; 4892,0)
	p (ф-н)	0,322	0,007	0,003
VLF, мс ²	фон	1244,0 (491,0; 1784,0)	1136,0 (703,0; 2015,0)	1095,0 (677,0; 1793,0)
	нагрузка	684,0 (372,0; 990,0)	638,0 (398,0; 1009,0)	840,0 (661,0; 1375,0)
	p (ф-н)	0,004	0,002	0,125
LF, мс ²	фон	1222,0 (497,0; 1702,0)	1026,0 (511,0; 1653,0)	951,0 (659,0 ;1841,0)
	нагрузка	1772,0 (1211,0; 2479,0)	700,0 (508,0; 1598,0)	1017,0 (697,0; 1643,0)
	p (ф-н)	0,000	0,426	0,802
HF, мс ²	фон	1410,0 (481,0; 2500,0)	827,0 (558,0; 2153,0)	1362,0 (613,0; 2796,0)
	нагрузка	951,0 (465,0; 1598,0)	596,0 (389,0; 1701,0)	818,0 (397,0; 1550,0)
	p (ф-н)	0,005	0,010	0,000
LF/HF, y. e.	фон	0,98 (0,51; 1,61)	0,81 (0,53; 1,52)	0,78 (0,59; 1,19)
	нагрузка	1,87 (1,35; 3,33)	1,16 (0,69; 1,51)	1,35 (0,80; 1,71)
	p (ф-н)	0,000	0,052	0,000
RRNN, мс	фон	639,0 (608,0; 693,0)	673,9 (597,0; 741,0)	678,0 (626,0; 725,0)
	нагрузка	596,0 (552,0; 619,0)	630,0 (585,0; 702,0)	653,0 (605,0; 680,0)
	p (ф-н)	0,000	0,000	0,000
SDNN, мс	фон	53,0 (33,0; 68,0)	48,0 (37,0; 62,0)	56,0 (40,0; 72,0)
	нагрузка	46,0 (37,0; 61,0)	38,0 (31,0; 61,0)	45,0 (36,0; 59,0)
	p (ф-н)	0,119	0,002	0,001
RMSSD, мс	фон	37,0 (24,0; 51,0)	41,0 (29,0; 63,0)	45,0 (30,0; 72,0)
	нагрузка	26,0 (20,0; 45,0)	35,0 (21,0; 56,0)	35,0 (26,0; 52,0)
	p (ф-н)	0,001	0,001	0,000
pNN50, %	фон	14,50 (2,85; 28,30)	18,60 (6,69; 42,60)	23,40 (8,68; 42,40)
	нагрузка	5,14 (2,12; 19,20)	7,46 (2,78; 31,70)	11,60 (5,44; 30,30)
	p (ф-н)	0,000	0,000	0,000
RR_min	фон	531 (491–559)	546 (509–577)	538 (505–572)
	нагрузка	492 (458–531)	552 (502–575)	525 (512–525)
	p (ф-н)	0,000	0,459	0,523
RR_max	фон	789 (741–920)	825 (742–913)	872 (773–932)
	нагрузка	760 (694–862)	807 (692–917)	829 (760–926)
	p (ф-н)	0,003	0,028	0,098

Проведён анализ динамических изменений общей плотности мощности спектра с учётом присутствия ориентировочной реакции в исходном состоянии, на основании которого вся выборка была разделена на две группы: 1-я группа ($n = 74$) – снижение, 2-я группа ($n = 43$) – увеличение значения данного показателя при выполнении когнитивного задания. В 1-й группе происходило статистически значимое снижение активности парасимпатического отдела ВНС (HF, RMSSD, pNN50; $p = 0,000$). При этом низкочастотные колебания (LF) в этой группе статистически значимо не изменяются ($p = 0,410$). Показатель вегетативного баланса LF/HF увеличивается на 45 %. В этой группе отмечено статистически значимое снижение VLF ($p = 0,000$), обусловленное, по-видимому, снижением гуморально-метаболических и церебральных эрготропных влияний.

Во 2-й группе происходило усиление активности низкочастотных колебаний. Статистически значимо повышается LF, LF/HF ($p = 0,000$ и $p = 0,002$ соответственно), показатели парасимпатической активности (RMSSD, pNN50) статистически значимо не изменяются ($p = 0,600$ и $p = 0,114$ соответственно). Увеличение низкочастотных и очень высокочастотных колебаний в данном случае свидетельствует о существенном увеличении симпатических влияний.

Показатели артериального давления и ЧСС в исходном состоянии между группами, разделёнными по направленности и выраженности изменения общей плотности мощности спектра, статистически значимо не различались (ME: САД – 96 (88–100) в 1-й группе против 95 (89–105) во 2-й; ДАД – 62 (57–67) против 62 (57–70); ЧСС – 83 (76–92) против 82 (74–91) соответственно). Ана-

лиз динамики артериального давления и частоты сердечных сокращений показал, что когнитивная нагрузка вызывала статистически значимый прирост САД в среднем на 5–6 %, ДАД – на 8 % и ЧСС – на 4–7 %, но различий между группами выявлено не было ($p = 0,311–0,830$).

Функциональное состояние эндокринной системы при выполнении когнитивной нагрузки (КН1, КН2 и КН3) оценивали по уровню кортизола в слюне (табл. 2).

Попарное сравнение концентрации кортизола в слюне выявило статистически значимое различие между изучаемыми показателями при выполнении когнитивной нагрузки: КН1 ($p = 0,022$), КН2 ($p = 0,010$) и КН3 ($p = 0,05$).

Индивидуальный анализ направленности динамики концентрации кортизола (δ , %) выявил два типа реакции эндокринной системы на когнитивную нагрузку: I тип – повышение и II тип – понижение уровня стресс-гормона. Оказалось, что I тип реакции характерен для 31–38 % школьников, когда концентрация кортизола в среднем увеличивается на 8–14 % после выполнения когнитивного теста. Статистически значимые различия между приростом уровня кортизола (I тип реакции) обнаружены только при КН1 и КН3 ($p = 0,04$). Уровень кортизола и в исходном состоянии, и после нагрузки при КН1 был статистически значимо выше, чем при КН2 и КН3 ($p = 0,01–0,02$). Попарное сравнение концентрации кортизола в слюне выявило статистически значимое различие между изучаемыми показателями при выполнении когнитивной нагрузки: КН1 ($p = 0,001$), КН2 ($p = 0,003$) и КН3 ($p = 0,001$).

II тип реакции – понижение уровня кортизола при различных видах когнитивной нагрузки – выявлен

ТАБЛИЦА 2
ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ КОРТИЗОЛА
ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ КОГНИТИВНОЙ НАГРУЗКИ,
МЕ (Q1; Q3)

Показатель	Проба	КН1	КН2	КН3
Вся выборка				
Кортизол, нг/мл	фон	4,92 (4,24; 6,35)	3,70 (3,35; 4,19)	3,69 (3,11; 4,90)
	нагрузка	4,83 (3,70; 5,76)	3,47 (3,00; 4,24)	3,52 (3,04; 4,35)
	p (ф-н)	0,022	0,010	0,050
I тип реакции				
Кортизол, нг/мл	фон	5,01 (3,73; 5,81)	3,64 (3,00; 4,05)	3,33 (2,78; 4,34)
	нагрузка	5,18 (4,21; 6,63)	4,01 (3,18; 4,73)	4,02 (3,24; 4,35)
	p (ф-н)	0,001	0,003	0,001
II тип реакции				
Кортизол, нг/мл	фон	4,92 (4,29; 6,39)	3,84 (3,49; 4,47)	4,08 (3,39; 5,59)
	нагрузка	4,71 (3,56; 5,62)	3,28 (2,97; 4,17)	3,44 (3,02; 4,28)
	p (ф-н)	0,000	0,000	0,000

у 62–69 % школьников, концентрация кортизола в среднем понижалась на 14–17 %. Статистически значимые различия между изучаемыми показателями при разной когнитивной нагрузке не обнаружены (0,378–0,669). Уровень кортизола и в исходном состоянии, и после нагрузки при КН1 был статистически значимо выше, чем при КН2 и КН3 ($p = 0,003$ – $0,037$). Попарное сравнение концентрации кортизола в слюне выявило статистически значимое различие между изучаемыми показателями при выполнении когнитивной нагрузки: КН1 ($p = 0,000$), КН2 ($p = 0,000$) и КН3 ($p = 0,000$).

Затем мы сравнили динамику показателей ВСР при выполнении когнитивной нагрузки в группах детей с разной реакцией ГГНС.

Когнитивная нагрузка (КН1) в группе с I типом реакции ГГНС вызвала статистически значимое усиление симпатических влияний на сердечный ритм (повышение значений LF и LF/HF; $p = 0,003$ и $p = 0,011$ соответственно) с одновременным снижением парасимпатического влияния (RMSSD и pNN50; $p = 0,038$ и $p = 0,026$ соответственно). При II типе реакции ГГНС, кроме динамики показателей, выявленной при I типе реакции, отмечалось статистически значимое снижение VLF и HF ($p = 0,020$ и $p = 0,040$ соответственно). Снижение VLF в данном случае свидетельствует об ослаблении связи автономных уровней регуляции с надсегментарными, в том числе с гипофизарно-гипоталамическим уровнем.

При выполнении КН2 в группе с I типом реакции ГГНС наблюдалось статистически значимое снижение показателей, характеризующее функциональное состояние организма: TP и SDNN ($p = 0,028$ и $p = 0,031$ соответственно) и VLF ($p = 0,019$). Остальные показатели ВСР статистически значимо не изменялись. При II типе реакции ГГНС показатели, характеризующие активность парасимпатического отдела ВНС (HF, RMSSD и pNN50), статистически значимо снижались ($p = 0,037$, $p = 0,003$, $p = 0,000$ соответственно). Также отмечалось снижение значений показателя VLF ($p = 0,041$).

Когнитивная нагрузка (КН3) в группе с I типом реакции ГГНС вызвала только статистически значимое снижение парасимпатического влияния на сердечный ритм (HF, RMSSD, pNN50; $p = 0,047$, $p = 0,033$ и $p = 0,031$ соответственно). Соотношение LF/HF увеличивалось на уровне тенденции ($p = 0,061$). При II типе реакции ГГНС также наблюдается снижение парасимпатического влияния ВНС (HF, RMSSD и pNN50; $p = 0,047$, $p = 0,033$ и $p = 0,031$ соответственно), и за счёт этого происходит повышение значения вегетативного баланса (LF/HF; $p = 0,003$). Происходит статистически значимое снижение значения VLF ($p = 0,028$).

Показатели артериального давления и ЧСС в исходном состоянии между группами, разделёнными по направленности и выраженности изменения уровня кортизола, статистически значимо не различались (ME: САД – 96 (89–100,5) в 1-й группе против 94 (88–102) во 2-й; ДАД – 61 (57–69) против 62 (57–67); ЧСС – 86 (73,5–97) против 82 (75–91) соответственно). Анализ динамики артериального давления и частоты сердечных сокращений показал, что когнитивная нагрузка вызывала статисти-

чески значимый прирост САД в среднем на 5 % при обеих типах реакции ГГНС ($p = 0,005$ – $0,000$), ДАД – на 11 % при I типе реакции ГГНС ($p = 0,002$) и 6 % – при II типе ($p = 0,000$). ЧСС так же увеличивался при когнитивной нагрузке на 7 % при I типе и на 5 % при II типе реакции ГГНС ($p = 0,000$). Корреляционный анализ позволил выявить, что при I типе реакции (повышение уровня кортизола) выявлена статистически значимая положительная связь между САД и приростом уровня кортизола ($r = +0,523$) и LF/HF ($r = +0,584$), а ДАД – с VLF ($r = +0,681$). При II типе реакции (понижение уровня кортизола) взаимосвязь между САД и LF/HF ($r = -0,535$), LF ($r = -0,54$), ДАД и VLF ($r = -0,382$) была отрицательной.

ОБСУЖДЕНИЕ

Когнитивную нагрузку можно рассматривать как кратковременное стрессовое воздействие, которое активирует вегетативную нервную систему, изменяет сердечно-сосудистую деятельность и воздействует на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, увеличивая уровень кортизола [15, 16]. Вариабельность сердечного ритма является надёжным биологическим коррелятом реакции на стресс [7].

Сравнение реактивности ВСР при когнитивных нагрузках разного вида выявило, что КН1 вызывала большее симпатическое влияние на сердечный ритм по сравнению с КН2 и КН3. Вероятно, что КН1 вызывает более сильное напряжение, чем нагрузка другого вида. По данным И.Е. Штина и соавт. (2019), у обучающихся по углублённой программе выявлена повышенная активность симпатического отдела вегетативной нервной системы [13], т. е. реакция зависит от объёма и интенсивности нагрузки. В другом исследовании отмечается, что устный ответ вызывает больший стресс у школьников, чем другие виды учебной деятельности [17]. Возможно, в этом случае на физиологическую реакцию организма кроме когнитивной нагрузки оказывает также влияние социально-оценочная угроза [12].

Исходя из межиндивидуальных различий тонической активности вегетативной нервной системы и её влияния на сердечный ритм [18], предположили наличие нескольких типов вегетативной адаптации к когнитивной деятельности. На основании оценки реакции общей плотности мощности (TP) выделено два типа реакции на предъявляемую когнитивную нагрузку. Первый тип вегетативной нервной регуляции, когда сдвиг вегетативного баланса в сторону симпатических влияний происходит за счёт статистически значимого снижения высокочастотных колебаний при неизменных значениях низкочастотных колебаний спектра, выявлен в 63 % случаев наблюдения и совпадает с результатами исследований других авторов [19, 20]. Ряд авторов также наблюдали снижение мощности спектра VLF после выполнения когнитивной нагрузки (тест Струпа) [21] и компьютеризированного варианта арифметического теста [22]. Считается, что при стрессовой реакции происходит одновременное увеличение LF/HF, свидетельству-

ющее о симпатической активации, и уменьшение парасимпатической деятельности [23], а также снижение общей плотности мощности спектра. Объяснением этому служит модель нейровисцеральной интеграции J. Thayer [8], согласно которой дезактивация парасимпатических и активация симпатических нейронов в ходе когнитивных или эмоциональных процессов происходит вследствие подавления активности миндалины из-за торможения префронтальной коры головного мозга. Некоторые авторы предлагают считать маркером стресс-реакции одновременное снижение общей мощности плотности (TP), отражающей тормозящее влияние эндогенной опиоидной системы на активацию ГНС и увеличение LF/HF, характеризующее активацию симпатической и подавление парасимпатической систем ВНС [17].

Второй тип реакции, по-видимому, менее благоприятный, связан со значительным усилением симпатической активности при выполнении КН2. Поскольку при этом повышается активность и очень низкочастотных, и низкочастотных колебаний, а одновременное повышение этих компонентов ВНС принято считать показателем симпатоадреналовой активности [24], можно предложить, что реакция на нагрузку в данной группе детей проходит с включением центрального контура регуляции.

Известно, что индивидуумы различаются по реакции сердечно-сосудистой системы и кортизола на острый стресс. В ходе нашего исследования установлено, что большая часть школьников (62–69 %) реагировала на когнитивную нагрузку понижением концентрации кортизола в слюне. Снижение секреции кортизола в слюне при стрессе, по мнению D. Carroll et al. (2017), является показателем дисрегуляции функции ГНС, отражающим нарушение регуляции лобно-лимбической области коры головного мозга [15].

Понижение уровня стресс-гормона после нагрузки объясняется упреждающим возбуждением эндокринной системы в исходном состоянии, что связано с недостаточной регуляторной способностью [25]. Такая особенность эндокринной системы детей проявляется как в ситуации учебного или социального стресса, так и во время профилактического медицинского осмотра [26–28]. В нашем исследовании повышение концентрации кортизола после когнитивной нагрузки было характерно только для 32–39 % детей. По мере взросления, в подростковом возрасте такой тип реактивности наблюдается уже в 63 % случаев [29].

При когнитивной деятельности не было статистически значимого различия уровня кортизола ни в исходном состоянии, ни после теста, выполняемого на разных электронных устройствах. Концентрация кортизола до и после счёта в уме была статистически значимо выше, чем при КН2 и КН3. Возможно, при счёте в уме школьники испытывают так называемую «математическую тревожность», проявляющуюся при работе с числовыми вычислениями. Математическая тревожность увеличивает активацию миндалины (усиливается стресс) и передней поясной коры, тем самым нарушая механизмы рабочей памяти в префронтальной коре [30].

При оценке реакции показателей ВСР на различные виды когнитивной нагрузки в группе со II типом реакции ГНС происходит выраженное снижение значений показателя VLF. Это свидетельствует об ослаблении связи автономных уровней регуляции с надсегментарными, в том числе с гипоталамическо-гипоталамическим уровнем, и является индикатором управления метаболическими процессами [31]. Устный счёт вызывал более выраженное увеличение значений низкочастотного компонента и показателя вагосимпатического взаимодействия LF/HF, что свидетельствует об усилении симпатических влияний на ВСР [32].

Выявлены положительные корреляционные связи в группе с I типом реакции ГНС на когнитивную нагрузку между АД и показателями ВСР. Этот факт вполне объясним при данном типе реакции, поскольку известно, что активация симпатического отдела вегетативной нервной системы (LF/HF), сердечно-сосудистого подкоркового нервного центра (VLF) и повышение уровня кортизола приводят к повышению артериального давления [33, 34].

Перспективы дальнейшего исследования проблемы заключаются в поиске критериев оценки функционального состояния и реактивности организма школьников, позволяющих прогнозировать успешность их обучения и применять для разработки методов, направленных на повышение работоспособности и качества образования обучающихся.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование позволило выявить, что реактивность вегетативной нервной и эндокринной систем школьников зависит не столько от того на каком электронном устройстве она выполняется, а от вида когнитивной нагрузки. Установлено, что устный счёт, по нашему мнению, являясь более стрессорным воздействием по сравнению с другой нагрузкой, вызывает самые существенные изменения показателей ВСР в процессе выполнения нагрузки. Выявлено статистически значимое увеличение низкочастотного компонента и показателя вагосимпатического взаимодействия LF/HF, что свидетельствует об усилении симпатических влияний на сердечный ритм.

Уровень кортизола при устном счёте и в исходном состоянии, и после нагрузки был статистически значимо выше, чем при других когнитивных нагрузках, что можно объяснить упреждающим возбуждением эндокринной системы в исходном состоянии, связанным с недостаточной регуляторной способностью организма детей данного возраста. В ходе выполнения когнитивной нагрузки разного вида выявлено два типа реакции эндокринной системы: I тип – повышение концентрации кортизола в слюне, II тип – понижение уровня гормона.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Куликов В.Ю., Антропова Л.К., Арчибасова Е.А. Гендерные особенности спектральной мощности альфа-ритма и variability ритма сердца при когнитивной нагрузке у здоровых студентов. *Сибирский медицинский вестник*. 2020; 3: 55-67.
- Krumsvik RJ, Berrum E, Jones LØ. Everyday Digital Schooling – implementing tablets in Norwegian primary school. Examining outcome measures in the first cohort. *Nord J Digit Lit*. 2018; 3(3): 152-178. doi: 10.18261/issn.1891-943x-2018-03-03
- Major L, Haßler B, Hennessy S. Tablet use in schools: Impact, affordances and considerations. In: Marcus-Quinn A, Hourigan T (eds). *Handbook on digital learning for K-12 schools*. 2017; 115-128. doi: 10.1007/978-3-319-33808-8_8
- Ложкина Е.М., Лукина С.Ф., Шагров Л.Л. Методы исследования влияния когнитивных нагрузок на работу сердца. *Международный студенческий научный вестник*. 2015; 2-3: 312-313.
- Atchley R, Ellingson R, Klee D, Memmott T, Oken B. A cognitive stressor for event-related potential studies: The Portland Arithmetic Stress Task. *Stress*. 2017; 20(3): 277-284. doi: 10.1080/10253890.2017.1335300
- Hunt TE, Bhardwa J, Sheffield D. Mental arithmetic performance, physiological reactivity and mathematics anxiety amongst UK primary school children. *Learn Individ Differ*. 2017; 57: 129-132. doi: 10.1016/j.lindif.2017.03.016
- Finke JB, Zhang X, Plein D, Schilling TM, Schächinger H, Larra MF. Combining mental and physical stress: Synergy or interference? *Physiol Behav*. 2021; 233: 113365. doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113365
- Thayer JF, Lane RD. Claude Bernard and the heart-brain connection: Further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009; 33(2): 81-88. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.08.004
- Wei L, Chen H, Wu GR. Structural covariance of the prefrontal-amygdala pathways associated with heart rate. *Front Hum Neurosci*. 2018; 12: 2. doi: 10.3389/fnhum.2018.00002
- Dimitriev D, Saperova EV, Dimitriev A, Karpenko Y. Recurrence quantification analysis of heart rate during mental arithmetic stress in young females. *Front Physiol*. 2020; 11: 40. doi: 10.3389/fphys.2020.00040
- Dong S-Y, Lee M, Park H, Youn I. Stress resilience measurement with heart-rate variability during mental and physical stress. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2018; 2018: 5290-5293. doi: 10.1109/embs.2018.8513531
- Kothgassner OD, Goreis A, Glenk LM, Kafka JX, Pfeiffer B, Beutl L, et al. Habituation of salivary cortisol and cardiovascular reactivity to a repeated real-life and virtual reality Trier Social Stress Test. *Physiol Behav*. 2021; 242: 113618. doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113618
- Штина И.Е., Валина С.Л., Устинова О.Ю., Эйфельд Д.А., Зенина М.Т. Особенности вегетативного и тиреоидного статуса у школьников при различной напряжённости учебного процесса. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(2): 183-188. doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-2-183-188
- Shiga K, Izumi K, Minato K, Sugio T, Yoshimura M, Kitazawa M, et al. Subjective well-being and month-long LF/HF ratio among deskworkers. *PLoS One*. 2021; 16(9): e0257062. doi: 10.1371/journal.pone.0257062
- Carroll D, Ginty AT, Whittaker AC, Lavallo WR, de Rooij SR. The behavioural, cognitive, and neural correlates of blunted cardiovascular and cortisol reactions to acute psychological stress. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017; 77: 74-86. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.02.025
- Clow A, Smyth N. Salivary cortisol as a non-invasive window on the brain. *Int Rev Neurobiol*. 2020; 150: 1-16. doi: 10.1016/bs.irm.2019.12.003
- Prokofieva V, Kostromina S, Polevaia S, Fenouille F. Understanding emotion-related processes in classroom activities through functional measurements. *Front Psychol*. 2019; 10: 2263. doi: 10.3389/fpsyg.2019.02263
- Сапожникова Е.Н., Шлык Н.И., Шумихина И.И., Кириллова Т.Г. Типологические особенности variability сердечного ритма у школьников 7–11 лет в покое и при занятиях спортом. *Вестник Удмуртского университета. Серия биология. Науки о земле*. 2012; 2: 79-88.
- Blons E, Arzac LM, Gilfriche P, McLeod H, Lespinet-Najib V, Grivel E, et al. Alterations in heart-brain interactions under mild stress during a cognitive task are reflected in entropy of heart rate dynamics. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 18190. doi: 10.1038/s41598-019-54547-7
- Celka P, Charlton PH, Farukh B, Chowienczyk P, Alastruey J. Influence of mental stress on the pulse wave features of photoplethysmogram. *Healthc Technol Lett*. 2019; 7(1): 7-12. doi: 10.1049/htl.2019.0001
- Usui H, Nishida Y. The very low-frequency band of heart rate variability represents the slow recovery component after a mental stress task. *PLoS One*. 2017; 12(8): e0182611. doi: 10.1371/journal.pone.0182611
- Montoro CI, Duschek S, del Paso GAR. Variability in cerebral blood flow velocity at rest and during mental stress in healthy individuals: Associations with cardiovascular parameters and cognitive performance. *Biol Psychol*. 2018; 135: 149-158. doi: 10.1016/j.biopsycho.2018.04.005
- Berntson GG, Quigley KS, Norman G, Lozano D. Cardiovascular psychophysiology. In: Cacioppo JT, Tassinary LG, Berntson GG (eds). *Handbook of psychophysiology; 4th ed*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2016. doi: 10.1017/9781107415782.009
- Михайлов В.М. Реакция организма при воздействии стресс-стимула. URL: <https://risr.institute/doc/publication5.pdf> [дата доступа: 05.11.2021].
- Gunnar MR, Wewerka S, Frenn K, Long JD, Griggs C. Developmental changes in hypothalamus-pituitary-adrenal activity over the transition to adolescence: normative changes and associations with puberty. *Dev Psychopathol*. 2009; 21(1): 69-85. doi: 10.1017/S0954579409000054
- Anesiadou S, Makris G, Michou M, Bali P, Papassotiropoulos I, Apostolaki F, et al. Salivary cortisol and alpha-amylase daily profiles and stress responses to an academic performance test and a moral cognition task in children with neurodevelopmental disorders. *Stress Health*. 2021; 37(1): 45-59. doi: 10.1002/smi.2971
- Kapsdorfer D, Hlavacova N, Vondrova D, Argalasova L, Sevcikova L, Jezova D. Neuroendocrine response to school load in prepubertal children: focus on trait anxiety. *Cell Mol Neurobiol*. 2018; 38(1): 155-162. doi: 10.1007/s10571-017-0544-7

28. Vlad R, Pop AM, Olah P, Monea M. The evaluation of dental anxiety in primary school children: A cross-sectional study from Romania. *Children (Basel)*. 2020; 7(10): 158. doi: 10.3390/children7100158

29. Gunnar MR, Reid BM, Donzella B, Miller ZR, Gardow S, Tsakonas NC, et al. Validation of an online version of the Trier Social Stress Test in a study of adolescents. *Psychoneuroendocrinology*. 2021; 125: 105111. doi: 10.1016/j.psyneuen.2020.105111

30. Moustafa AA, Porter A, Megreya AM. Mathematics anxiety and cognition: An integrated neural network model. *Rev Neurosci*. 2020; 31(3): 287-296. doi: 10.1515/revneuro-2019-0068

31. Флейшман А.Н., Кораблина Т.В., Халиулин И.Г., Петровский С.А., Неретин А.А. Половые различия VLF100 и VLF50 спектра вариабельности ритма сердца у здоровых лиц молодого возраста и старшего с сосудистой патологией в условиях SEVENTEST, гипервентиляции и ортостаза. *Медицина в Кузбассе*. 2017; 16(4): 23-33.

32. Cipresso P, Colombo D, Riva G. Computational psychometrics using psychophysiological measures for the assessment of acute mental stress. *Sensors (Basel)*. 2019; 19(4): 781. doi: 10.3390/s19040781

33. Бастриков О.Ю. Гормональные, иммунологические и психологические маркеры психоэмоционального напряжения у пациентов с артериальной гипертензией. *Артериальная гипертензия*. 2018; 24(2): 151-161. doi: 10.18705/1607-419X-2018-24-2-151-161

34. El Sayed K, Macefield VG, Hissen SL, Joyner MJ, Taylor CE. Blood pressure reactivity at onset of mental stress determines sympathetic vascular response in young adults. *Physiol Rep*. 2018; 6(24): e13944. doi: 10.14814/phy2.13944

REFERENCES

1. Kulikov VY, Antropova LK, Archibasova EA. Gender differences of alpha-rhythm spectral power and heart rate variability in cognitive stress in healthy students. *Sibirskiy meditsinskiy vestnik*. 2020; 3: 55-67. (In Russ.).

2. Krumsvik RJ, Berrum E, Jones LØ. Everyday Digital Schooling – implementing tablets in Norwegian primary school. Examining outcome measures in the first cohort. *Nord J Digit Lit*. 2018; 3(3): 152-178. doi: 10.18261/issn.1891-943x-2018-03-03

3. Major L, Haßler B, Hennessy S. Tablet use in schools: Impact, affordances and considerations. In: *Marcus-Quinn A, Hourigan T (eds). Handbook on digital learning for K-12 schools*. 2017; 115-128. doi: 10.1007/978-3-319-33808-8_8

4. Lozhkina EM, Lukina SF, Sharov LL. Methods of studying the influence of cognitive loads on the work of the heart. *Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik*. 2015; 2-3: 312-313. (In Russ.).

5. Atchley R, Ellingson R, Klee D, Memmott T, Oken B. A cognitive stressor for event-related potential studies: The Portland Arithmetic Stress Task. *Stress*. 2017; 20(3): 277-284. doi: 10.1080/10253890.2017.1335300

6. Hunt TE, Bhardwa J, Sheffield D. Mental arithmetic performance, physiological reactivity and mathematics anxiety amongst UK primary school children. *Learn Individ Differ*. 2017; 57: 129-132. doi: 10.1016/j.lindif.2017.03.016

7. Finke JB, Zhang X, Plein D, Schilling TM, Schächinger H, Larra MF. Combining mental and physical stress: Synergy or in-

terference? *Physiol Behav*. 2021; 233: 113365. doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113365

8. Thayer JF, Lane RD. Claude Bernard and the heart-brain connection: Further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009; 33(2): 81-88. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.08.004

9. Wei L, Chen H, Wu GR. Structural covariance of the prefrontal-amygdala pathways associated with heart rate. *Front Hum Neurosci*. 2018; 12: 2. doi: 10.3389/fnhum.2018.00002

10. Dimitriev D, Saperova EV, Dimitriev A, Karpenko Y. Recurrence quantification analysis of heart rate during mental arithmetic stress in young females. *Front Physiol*. 2020; 11: 40. doi: 10.3389/fphys.2020.00040

11. Dong S-Y, Lee M, Park H, Youn I. Stress resilience measurement with heart-rate variability during mental and physical stress. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2018; 2018: 5290-5293. doi: 10.1109/embc.2018.8513531

12. Kothgassner OD, Goreis A, Glenk LM, Kafka JX, Pfeffer B, Beutl L, et al. Habituation of salivary cortisol and cardiovascular reactivity to a repeated real-life and virtual reality Trier Social Stress Test. *Physiol Behav*. 2021; 242: 113618. doi: 10.1016/j.physbeh.2021.113618

13. Shtina EI, Valina SL, Ustinova OYu, Eisfeld DA, Zenina MT. Peculiarities of autonomous and thyroidal state in school children under different intensity of educational process. *Hygiene and Sanitation*. 2019; 98(2): 183-188. (In Russ.). doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-2-183-188

14. Shiga K, Izumi K, Minato K, Sugio T, Yoshimura M, Kitazawa M, et al. Subjective well-being and month-long LF/HF ratio among deskworkers. *PLoS One*. 2021; 16(9): e0257062. doi: 10.1371/journal.pone.0257062

15. Carroll D, Ginty AT, Whittaker AC, Lavallo WR, de Rooij SR. The behavioural, cognitive, and neural correlates of blunted cardiovascular and cortisol reactions to acute psychological stress. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017; 77: 74-86. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.02.025

16. Clow A, Smyth N. Salivary cortisol as a non-invasive window on the brain. *Int Rev Neurobiol*. 2020; 150: 1-16. doi: 10.1016/b.sirn.2019.12.003

17. Prokofieva V, Kostromina S, Polevaia S, Fenouille F. Understanding emotion-related processes in classroom activities through functional measurements. *Front Psychol*. 2019; 10: 2263. doi: 10.3389/fpsyg.2019.02263

18. Sapozhnikova EN, Shlyk NI, Shumikhina II, Kirillova TG. Typological peculiarities of heart rate variability of 7-11 years old students at rest and when doing sport. *Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*. 2012; 2: 79-88. (In Russ.).

19. Blons E, Arsac LM, Gilfriche P, McLeod H, Lespinet-Najib V, Grivel E, et al. Alterations in heart-brain interactions under mild stress during a cognitive task are reflected in entropy of heart rate dynamics. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 18190. doi: 10.1038/s41598-019-54547-7

20. Celka P, Charlton PH, Farukh B, Chowieniczky P, Alastruey J. Influence of mental stress on the pulse wave features of photoplethysmogram. *Healthc Technol Lett*. 2019; 7(1): 7-12. doi: 10.1049/htl.2019.0001

21. Usui H, Nishida Y. The very low-frequency band of heart rate variability represents the slow recovery component after a mental stress task. *PLoS One*. 2017; 12(8): e0182611. doi: 10.1371/journal.pone.0182611

22. Montoro CI, Duschek S, del Paso GAR. Variability in cerebral blood flow velocity at rest and during mental stress in healthy individuals: Associations with cardiovascular parameters and cognitive performance. *Biol Psychol.* 2018; 135: 149-158. doi: 10.1016/j.biopsycho.2018.04.005
23. Berntson GG, Quigley KS, Norman G, Lozano D. Cardiovascular psychophysiology. In: Cacioppo JT, Tassinari LG, Berntson GG (eds). *Handbook of psychophysiology*; 4th ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2016. doi: 10.1017/9781107415782.009
24. Mikhailov VM. *The reaction of the body when exposed to a stress stimulus* URL: <https://risr.institute/doc/publication5.pdf> [date of access: 05.11.2021]. (In Russ.)
25. Gunnar MR, Wewerka S, Frenn K, Long JD, Griggs C. Developmental changes in hypothalamus-pituitary-adrenal activity over the transition to adolescence: normative changes and associations with puberty. *Dev Psychopathol.* 2009; 21(1): 69-85. doi: 10.1017/S0954579409000054
26. Anesiadou S, Makris G, Michou M, Bali P, Papassotiropoulos I, Apostolou F, et al. Salivary cortisol and alpha-amylase daily profiles and stress responses to an academic performance test and a moral cognition task in children with neurodevelopmental disorders. *Stress Health.* 2021; 37(1): 45-59. doi: 10.1002/smi.2971
27. Kapsdorfer D, Hlavacova N, Vondrova D, Argalasova L, Sevcikova L, Jezova D. Neuroendocrine response to school load in prepubertal children: focus on trait anxiety. *Cell Mol Neurobiol.* 2018; 38(1): 155-162. doi: 10.1007/s10571-017-0544-7
28. Vlad R, Pop AM, Olah P, Monea M. The evaluation of dental anxiety in primary school children: A cross-sectional study from Romania. *Children (Basel).* 2020; 7(10): 158. doi: 10.3390/children7100158
29. Gunnar MR, Reid BM, Donzella B, Miller ZR, Gardow S, Tsakonas NC, et al. Validation of an online version of the Trier Social Stress Test in a study of adolescents. *Psychoneuroendocrinology.* 2021; 125: 105111. doi: 10.1016/j.psyneuen.2020.105111
30. Moustafa AA, Porter A, Megreya AM. Mathematics anxiety and cognition: An integrated neural network model. *Rev Neurosci.* 2020; 31(3): 287-296. doi: 10.1515/revneuro-2019-0068
31. Fleishman AN, Korablina TV, Khaliulin IG, Petrovsky SA, Neretin AA. Sex differences of vlf100 and vlf50 spectrum of heart rate variability in healthy individuals of young age and older subjects with vascular pathology in terms of SEVEN-TEST, hyperventilation and orthostasis. *Medicine in Kuzbass.* 2017; 16(4): 23-33. (In Russ.).
32. Cipresso P, Colombo D, Riva G. Computational psychometrics using psychophysiological measures for the assessment of acute mental stress. *Sensors (Basel).* 2019; 19(4): 781. doi: 10.3390/s19040781
33. Bastrikov OYu. Hormonal, immunological and psychological markers of emotional stress in hypertensive patients. *"Arterial'naya Gipertenziya" ("Arterial Hypertension").* 2018; 24(2): 151-161. (In Russ.). doi: 10.18705/1607-419X-2018-24-2-151-161
34. El Sayed K, Macefield VG, Hissen SL, Joyner MJ, Taylor CE. Blood pressure reactivity at onset of mental stress determines sympathetic vascular response in young adults. *Physiol Rep.* 2018; 6(24): e13944. doi: 10.14814/phy2.13944

Сведения об авторах

Дозадкина Светлана Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: almanac@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7387-9998>

Ермакова Ирина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: ermek61@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7430-4849>

Адамовская Оксана Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: krysyuk-19@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0197-3379>

Кмить Галина Васильевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: galkmit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3749-9891>

Рублева Лариса Вячеславовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: LariusR@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0363-2375>

Шарапов Алим Насимович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией, лаборатория комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: alim.sharapov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6862-8115>

Information about the authors

Svetlana B. Dogadkina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Development Physiology of the Russian Academy of Education, e-mail: almanac@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7387-9998>

Irina V. Ermakova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Development Physiology of the Russian Academy of Education, e-mail: ermek61@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7430-4849>

Oksana N. Adamovskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Development Physiology of the Russian Academy of Education, e-mail: krysyuk-19@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0197-3379>

Galina V. Kmit – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Development Physiology of the Russian Academy of Education, e-mail: galkmit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3749-9891>

Larisa V. Rubleva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Development Physiology of the Russian Academy of Education, e-mail: LariusR@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0363-2375>

Alim N. Sharapov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Development Physiology of the Russian Academy of Education, e-mail: alim.sharapov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6862-8115>

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ Т-2 ТОКСИНА И ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ

Йылдырым Е.А.^{1,2},
Грозина А.А.³,
Ильина Л.А.^{1,2},
Филиппова В.А.^{1,2},
Лаптев Г.Ю.^{1,2},
Пономарева Е.С.¹,
Дубровин А.В.¹,
Калиткина К.А.^{1,2},
Молотков В.В.¹,
Ахматчин Д.А.¹,
Тюрина Д.Г.¹

¹ ООО «БИОТРОФ»

(196602, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин,
ул. Малиновская, 8, лит. А, пом. 7-Н,
Россия)

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный аграрный университет»
(196601, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин,
Петербургское шоссе, 2, Россия)

³ ФГБНУ «Федеральный научный
центр «Всероссийский научно-
исследовательский и технологический
институт птицеводства» Российской
академии наук (141311, г. Сергиев Посад,
ул. Птицеградская, 10, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Йылдырым Елена Александровна,
e-mail: deniz@biotrof.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Т-2 токсин, поступающий с кормами, может ингибировать функцию врождённой иммунной системы у птиц.

Цель работы. Оценить влияние воздействия Т-2 токсина, искусственно внесённого с кормами, на уровень экспрессии ряда генов, связанных с иммунитетом, в тканях пищеварительной системы бройлеров.

Материалы и методы. Эксперименты проводили в виварии ФНЦ «ВНИТИП» РАН на бройлерах кросса Смена 8 от 33 до 47-суточного возраста. Была выполнена экспериментальная контаминация корма Т-2 токсином. Птиц разделили на 4 группы по 5 голов в каждой: I – контрольная, получавшая рацион без введения Т-2 токсина, II опытная – получавшая рацион с добавлением Т-2 токсина, III опытная – получавшая рацион с добавлением Т-2 токсина и сорбент Заслон2+, IV опытная – получавшая рацион с добавлением Т-2 токсина, тот же сорбент Заслон2+ и фермент Axtra Pro. Уровень экспрессии мРНК анализировали методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией.

Результаты. Полученные данные свидетельствовали о воздействии загрязнения кормов бройлеров Т-2 токсином на модуляцию уровня экспрессии генов, связанных с функционированием иммунной системы, в слепых отростках кишечника и поджелудочной железы. Воздействие Т-2 токсина (группа II) привело к увеличению экспрессии провоспалительного гена IL-6 в тканях слепых отростков кишечника в 10,8 раза и IL-8 в поджелудочной железе в 3,89 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой I. Влияние сорбента, а также комплекса, включающего сорбент и фермент, на экспрессию генов бройлеров, было позитивным. Сорбент без фермента показал большую эффективность, чем с дополнительным введением фермента.

Ключевые слова: микотоксины, Т-2 токсин, бройлеры, экспрессия генов, сельскохозяйственная птица, сорбент, фермент

Для цитирования: Йылдырым Е.А., Грозина А.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Лаптев Г.Ю., Пономарева Е.С., Дубровин А.В., Калиткина К.А., Молотков В.В., Ахматчин Д.А., Тюрина Д.Г. Экспрессия генов у сельскохозяйственной птицы под влиянием Т-2 токсина и применения биопрепаратов. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 180-189. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.19

Статья получена: 15.03.2022

Статья принята: 21.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

GENE EXPRESSION IN FARM POULTRY UNDER THE INFLUENCE OF T-2 TOXIN AND THE USE OF BIOLOGICAL PREPARATIONS

Yildirim E.A.^{1,2},
Grozina A.A.³,
Ilyina L.A.^{1,2},
Filippova V.A.^{1,2},
Laptev G.Y.^{1,2},
Ponomareva E.S.¹,
Dubrowin A.V.¹,
Kalitkina K.A.^{1,2},
Molotkov V.V.¹,
Ahmatchin D.A.¹,
Tiurina D.G.¹

¹ LLC Biotrof
(Malinovskaya str. 8, lit. A, Saint
Petersburg, Pushkin 196602,
Russian Federation)

² Saint Petersburg State Agrarian
University (Petersburgskoye highway 2,
Saint Petersburg, Pushkin 196601,
Russian Federation)

³ All-Russian Research
and Technological Poultry Institute
of Russian Academy of Sciences
(Ptitsegradskaya str. 10, Sergiev Posad
141311, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena A. Yildirim,
e-mail: deniz@biotrof.ru

ABSTRACT

Background. Feed-borne T-2 toxin may inhibit innate immune system function in birds.

The aim. To evaluate the effect of T-2 toxin, artificially introduced with feed, on the expression level of a number of immunity-related genes in the tissues of the broiler digestive system.

Materials and methods. The experiments were carried out in the vivarium of the FSC "VNITIP" RAS broilers of the Smena 8 cross from 33 to 47-day old. Experimental contamination of feed T-2 toxin was performed. The birds were divided into 4 groups of 5 animals each: I – control, receiving a diet without the introduction of T-2 toxin, II experimental – receiving a diet with the addition of T-2 toxin, III experimental – receiving a diet with the addition of T-2 toxin and the sorbent Zaslon2+, IV experimental – receiving a diet with the addition of T-2 toxin, the same sorbent Zaslon2+ and Axtra Pro enzyme. The level of mRNA expression was analyzed by quantitative reverse transcription PCR.

Results. The data obtained indicated the impact of T-2 toxin contamination of broiler feed on the modulation of the level of expression of genes associated with the functioning of the immune system in the cecum and pancreas. Exposure to T-2 toxin (group II) led to an increase in the expression of the pro-inflammatory gene IL-6 in the tissues of the caecum by 10.8 times and IL-8 in the pancreas by 3.89 times ($p \leq 0.05$) compared with control group I. The effect of the sorbent, as well as the complex, including the sorbent and the enzyme, on the expression of broiler genes was positive. The sorbent without the enzyme showed greater efficiency than with the additional introduction of the enzyme.

Key words: mycotoxins, T-2 toxin, broilers, gene expression, poultry, sorbent, enzyme

For citation: Yildirim E.A., Grozina A.A., Ilyina L.A., Filippova V.A., Laptev G.Y., Ponomareva E.S., Dubrowin A.V., Kalitkina K.A., Molotkov V.V., Ahmatchin D.A., Tiurina D.G. Gene expression in farm poultry under the influence of T-2 toxin and the use of biological preparations. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 180-189. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.19

Received: 15.03.2022
Accepted: 21.04.2022
Published: 05.07.2022

ВВЕДЕНИЕ

Микотоксины представляют собой вторичные метаболиты низкой молекулярной массы, продуцируемые широким спектром микромицетов. На сегодняшний день известно более 200 видов плесневых грибов, продуцирующих более 300 видов микотоксинов [1]. Афлатоксины, зеараленон, охратоксин А, фумонизины, трихотецены, такие как дезоксиниваленон и токсин Т-2 являются основными микотоксинами, которые могут оказывать существенное влияние на здоровье и продуктивность сельскохозяйственной птицы [2].

Трихотецены, такие как Т-2 токсин, имеют общее тетрациклическое сесквитерпеноидное 12,13-эпокситрихотек-9-еновое кольцо и 12,13-эпоксидное кольцо, ответственное за высокую токсикологическую активность [3]. Т-2 токсин принадлежит к большому семейству химически родственных токсинов, продуцируемых микромицетами родов *Fusarium*, *Myrothecium* и *Stachybotrys* [3, 4]. Т-2 токсин часто встречается в зерне пшеницы, кукурузы, ячменя, риса, соевых бобов, овсе [5], продуктах его переработки и комбикормах, включая комбикорма для птиц [6].

Существует ряд специфических симптомов микотоксикозов у птиц: серозно-геморрагическое язвенно-некротическое воспаление пищеварительного тракта с утолщением слизистой оболочки, шаткая походка, отказ от корма, но в большинстве случаев при хроническом течении эти патологии маскируются другими заболеваниями [7].

Токсичность фузариевых микотоксинов основана на возможности связываться с рибосомами эукариот и ингибировать синтез белка, а также способности к образованию свободных радикалов [8]. Ряд исследований [9, 10] подтвердили гипотезу о том, что иммунная система представляет собой одну из мишеней действия микотоксинов. В результате воздействия Т-2 токсина на животных отмечено изменение метаболических путей органов пищеварительной системы [11].

Слизистая оболочка пищеварительной системы является первым барьером на пути попадающих внутрь организма патогенов и загрязнителей, включая чужеродные антигены и токсины [12]. В тканях слизистой оболочки пищеварительной системы присутствуют хорошо развитые лимфоидные структуры, например, Пейеровы бляшки [13]. Исследователи [14] обнаружили способность некоторых трихотеценов вызывать воспалительную реакцию. В поджелудочной железе при воздействии токсина отмечают ацинарную дегенерацию и некроз [15]. Известно [16, 17], что Т-2 токсин вызывает апоптоз в различных типах клеток, таких как клетки печени, клетки HL-60, клетки U937 и клетки Vero.

Инициация и активация врожденного иммунного ответа опосредованы сложной сетью взаимодействий между многочисленными клеточными и молекулярными компонентами иммунной и неиммунной системы. Врожденная иммунная система хозяина полагается на рецепторы распознавания, экспрессируемые врожденными иммунными клетками, такими как макрофаги и дендритные клетки для распознавания и реагирования на сигналы, полученные от вторгающихся патогенов или поврежден-

ных собственных клеток. К ним относятся Toll-подобные рецепторы, индуцируемые ретиноевой кислотой ген-1 (RIG-I)-подобные рецепторы и нуклеотидсвязывающий домен, которые опосредуют первоначальное распознавание микробных компонентов, известных как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны [18, 19]. Это распознавание запускает серию сигнальных каскадов, кульминацией которых является активация транскрипционных факторов, которые индуцируют многочисленные нижестоящие гены, кодирующие широкий спектр воспалительных цитокинов, хемокинов, антимикробных пептидов, факторы комплемента и интерфероны [20, 21].

Известно, что токсин Т-2 может снижать функцию врожденной иммунной системы [22]. Сообщалось, что Т-2 токсин ингибирует выработку IL-2 и IL-5 Т-клетками. Также было установлено [23], что низкие концентрации Т-2 токсина изменяет активацию TLR, снижая распознавание патогенов, тем самым препятствуя инициации воспалительных иммунных реакций против бактерий и вирусов [23].

Несмотря на то, что было разработано множество различных стратегий борьбы с микотоксикозами, в основе наиболее распространенных методов лежит добавление адсорбентов в загрязненные корма [24]. Н. Tozaki et al. продемонстрировали [25], что перспективным направлением в деградации ксенобиотиков может быть использование ферментов, в частности протеаз.

Представляется интересным исследование изменений экспрессии спектра генов, связанных с иммунитетом при воздействии Т-2 токсина на фоне введения в рацион кормовых добавок.

Целью нашего исследования было оценить влияние 14-суточного воздействия Т-2 токсина, искусственно внесенного с кормами, на уровень экспрессии ряда генов, связанных с иммунитетом, в тканях слепых отростков кишечника и поджелудочной железы цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили в виварии ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН (ВНИТИП) на цыплятах-бройлерах кросса Смена 8 от 33 до 47-суточного возраста в 2021 г. в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (ETS № 123, Страсбург, 1986) [26]. Условия кормления и содержания соответствовали требованиям для кросса бройлеров [27]. Птица была получена из Загорского экспериментального племенного хозяйства ВНИТИП, где была проведена вакцинация от болезни Марек в суточном возрасте и Ньюкасла по схеме. Напряженность иммунитета контролировалась на протяжении всего эксперимента. Для кормления применяли комбикорм ПК-6 для бройлеров в виде россыпи со следующими показателями питательности: обменная энергия – 295 ккал/100 г, сырой протеин – 19 %, сырой жир – 4 %, сырая клетчатка – 4 %, лизин – 1,05 %, метионин – 0,6 %, кальций – 0,9 %, доступный фосфор – 0,45 %, соль – 0,4 %. Продолжительность эксперимента составила 14 суток.

Было проведено искусственное внесение в корм Т-2 токсина до определённого уровня ПДК в комбикормах, гранулированных для птиц (ГОСТ Р 51899-2002) механическим способом. Для проведения опытов была выполнена экспериментальная контаминация корма Т-2 токсином до определённого уровня ПДК механическим способом с соблюдением требований безопасности персонала. Для работы применяли сертифицированный калибровочный стандарт «Т-2 токсин» в виде порошка с массовой долей основного вещества $99,7 \pm 0,3 \%$, произведённый компанией Romer Labs (Австрия) (cat. № 10000310, LOT #S17052T).

При формировании групп бройлеров использовали метод аналогов по живой массе. На начало эксперимента вся птица была клинически здоровой. Состояние здоровья птицы в группах с применением Т-2 токсина было удовлетворительным, поскольку применяемые дозировки Т-2 токсина обычно не вызывают острого токсикоза и падежа. Для проведения эксперимента птиц разделили на 4 группы по 5 голов в каждой: I интактная (контрольная), получавшая рацион без введения Т-2 токсина, II опытная – получавшая рацион с добавлением Т-2 токсина в концентрации 200 мкг/кг (2-кратный уровень превышения ПДК), III опытная – получавшая рацион с добавлением Т-2 токсина в концентрации 200 мкг/кг и сорбент Заслон2+, состоящий из сорбирующего материала диатомита, двух культур бактерий *Bacillus spp.*, смеси натуральных эфирных масел в количестве 1 г/кг корма, IV опытная – получавшая рацион с добавлением Т-2 токсина в концентрации 200 мкг/кг, Заслон2+ в количестве 1 г/кг корма и ферментный препарат с протеолитической активностью Axtra PRO (DuPont, США) в количестве 100 мг/кг корма. Кроме указанного, рацион бройлеров практически не содержал фоновых количеств микотоксинов. Для определения фонового содержания микотоксинов в кормах была использована система ВЭЖХ-МС/МС. Для построения калибровочных графиков и в качестве внутренних стандартов были использованы стандартные растворы микотоксинов. В используемых для заражения кормах не было обнаружено афлатоксинов (B1, G1), фумонизинов (B1, B2, B3), дезоксиниваленола, Т-2 токсина, зеараленона и охратоксина А. После искусственного загрязнения, корма из мешков и кормушек отбирали на анализ трижды за неделю, концентрация Т-2 токсина соответствовала заданной.

Поскольку вынужденного убоя не было, и состояние здоровья птицы было удовлетворительным, то убой был проведён в конце эксперимента. После вскрытия выраженных патологоанатомических изменений не было обнаружено.

Для анализа экспрессии генов у бройлеров (от трёх птиц каждой группы) в конце эксперимента отбирали ткани слепых отростков кишечника и поджелудочной железы. Отобранные образцы немедленно стабилизировали с помощью реагента RNeasy lysis buffer. Все образцы были незамедлительно отправлены в молекулярно-генетическую лабораторию НПКиООО «БИОТРОФ» для выделения РНК.

Анализ экспрессии генов проводили с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией, предварительным этапом которой было выделение РНК. Ткани

измельчали путём смешивания с жидким азотом и гомогенизировали. Тотальную РНК выделяли из образцов тканей с использованием мини-набора Aurum™ Total RNA (Bio-Rad, Hercules, CA, США), следуя инструкциям производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили для получения кДНК на матрице РНК с использованием iScript™ Reverse Transcription Supermix (Bio-Rad) [28].

Для анализа экспрессии мРНК были выбраны специфические праймеры для следующих 7 исследованных генов:

для *IL6* – F: AGGACGAGATGTGCAAGAAGTTC,
R: TTGGGCAGGTTGAGGTTGTT,

для *IL8* – F: GGAAGAGAGGTGTGCTTGGA,
R: TAACATGAGGCACCGATGTG,

для *IRF7* – F: ATCCCTTGGAAGCACAACGCC,
R: CTGAGGCAACCGCGTAGACCTT,

для *PTGS2* – F: TCGAGATCACACTTGATTGACA,
R: TTTGTGCCTTGTGGGTGAC,

для *AvBD9 (Gal9)* – F: AACACCGTCAGGCATCTTCACA,
R: CGTCTTCTTGGCTGTAAGCTGGA,

для *AvBD10 (Gal10)* – F: GCTCTTCGCTGTTCTCTCT,
R: CCAGAGATGGTGAAGGTG,

для *Casp6* – F: CAGAGGAGACAAGTGCCAGA,
R: CCAGGAGCCGTTTACAGTTT.

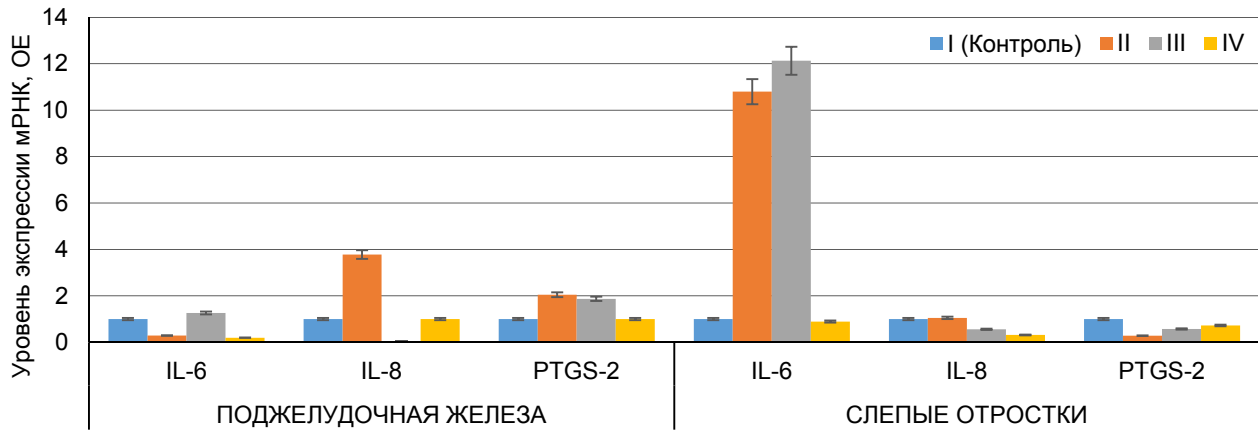
В качестве референсного контроля использовали праймеры на ген «домашнего хозяйства» – белка бета-актина (*ACTB*).

Реакции амплификации проводили с использованием SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad) в соответствии с протоколом производителя [29]. Режим и условия амплификации соответствовали каждому праймеру [30]. Оценка относительного уровня экспрессии проводилась с использованием метода $2^{-\Delta\Delta CT}$ [31].

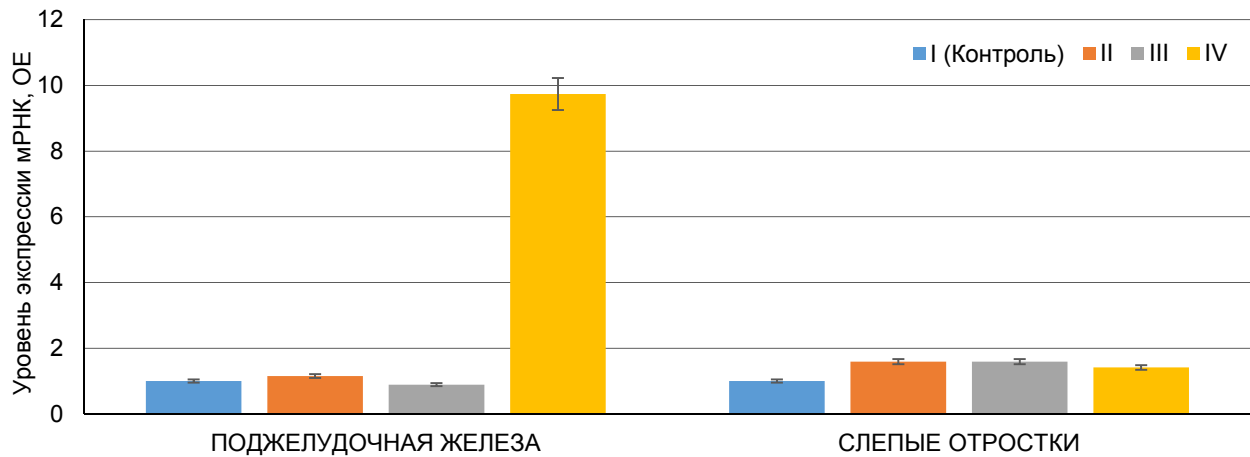
Математическую и статистическую обработку результатов осуществляли методом многофакторного дисперсионного анализа (multifactor ANalysis Of VAriance, ANOVA) в программах Microsoft Excel XP/2003 (Microsoft Corp., США), R-Studio (Version 1.1.453). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты представлены как средние (M) и стандартные ошибки средних ($\pm SEM$). Статистическую значимость различий устанавливали по t -критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Средние значения сравнивались с использованием теста статистически значимой разницы Тьюки (HSD) и функции TukeyHSD в пакете R Stats Package.

РЕЗУЛЬТАТЫ

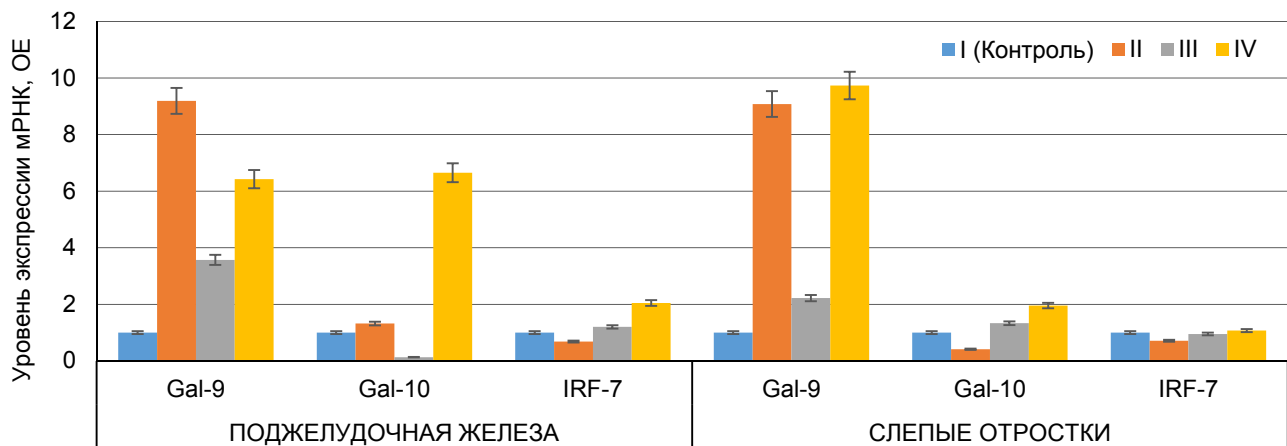
На рисунке 1 представлены результаты проведения оценки экспрессии генов бройлеров в тканях слепых отростков и поджелудочной железы в ответ на скормливание Т-2 токсина методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией. Изучена экспрессия генов, связанных с иммунитетом, таких как провоспалительные интерлейкины *IL6*, *IL8*, эндопероксидсинтаза простагландинов *PTGS2*, ген апоптоза *Casp6*, антимикробные гены (*Gal-9*, *Gal-10*) и антивирусный ген (*IRF-7*).



а



б



в

РИС. 1.

Уровень экспрессии генов, связанных с иммунитетом, в тканях эпителия пищеварительной системы бройлеров в ответ на скормливание Т-2 токсина: **а** – провоспалительные гены; **б** – ген апоптоза; **в** – гены антимикробной и противовирусной защиты; I (контроль) – опытная группа I; II – опытная группа II; III – опытная группа III; IV – опытная группа IV; OE – кратность изменений уровней экспрессии по сравнению с контрольной группой, принятой за 1

FIG. 1.

The level of expression of genes associated with immunity in the tissues of the epithelium of the digestive system of broilers in response to feeding T-2 toxin: **a** – pro-inflammatory genes; **b** – apoptosis gene; **v** – antimicrobial and antiviral protection genes; I (контроль) – experimental group I; II – experimental group II; III – experimental group III; IV – experimental group IV; OE – multiplicity changes in expression levels compared to the control group (taken as 1)

Воздействие Т-2 токсина (группа II) привело к увеличению экспрессии провоспалительных генов *IL-6* в кишечнике в 10,8 раза и *IL-8* в поджелудочной железе в 3,89 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Т-2 токсин специфическим образом действовал на уровень экспрессии провоспалительных генов у бройлеров, поскольку влияние на ген *PTGS-2*, в отличие от вышеописанных генов, было не таким выраженным. В поджелудочной железе экспрессия данного гена повысилась в 2,05 раза, а в кишечнике упала до 0,28 ($p \leq 0,05$). Подобный эффект влияния Т-2 токсина на экспрессию *IL-6* в кишечнике и поджелудочной железе бройлеров был описан нами в предыдущем исследовании [32]. Тем не менее, ранее сообщалось, что Т-2 токсин, напротив, ингибирует выработку цитокинов, таких как *IL-2* и *IL-5*, Т-клетками [16], возможно, это связано с тем, что активирующие сигналы у них различные. Скармливание кормовой добавки (группа III) повлияло на снижение уровня экспрессии *IL-8* в поджелудочной железе ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой II, что, вероятно, объясняется не только сорбционными свойствами носителя в его составе, но и противовоспалительным действием эфирных масел [33]. Введение в рацион протеазы совместно с кормовой добавкой (группа IV) оказало влияние на снижение экспрессии *IL-6* в кишечнике ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой II. Это важный вывод, поскольку гиперпродукция провоспалительных цитокинов вовлечена в патогенез целого ряда заболеваний [34], а также связана со снижением продуктивности сельскохозяйственных животных [35]. Ранее X. Jiang et al. [36] на поголовье поросят также были получены сходные результаты, подтверждающие позитивное влияние ферментных препаратов и эфирных масел на снижение уровня экспрессии гена *(IL)-1 α* .

В тканях эпителия поджелудочной железы наблюдалось увеличение в 9,74 раза уровня экспрессии гена *Casp6* (рис. 1), связанного с фактором апоптоза [37], в ответ на скармливание ферментного препарата (в группе IV по сравнению с группой I) ($p \leq 0,05$). Тем не менее, в других экспериментальных группах с введением Т-2 токсина подобного эффекта не отмечено. Есть указания на то, что активация определённой протеазы может привести к активации целого каскада протеаз – медиаторов клеточной гибели [38]. Апоптоз в тканях поджелудочной железы может иметь негативные последствия, поскольку связан с повреждением митохондрий и стимулированием высвобождения из них цитохрома [39].

Отмечена также тенденция повышения в тканях эпителия слепых отростков кишечника и поджелудочной железы бройлеров экспрессии гена *Gal-9* (*AvBD9*) при воздействии Т-2 токсина в группах II, III и IV по сравнению с группой I ($p \leq 0,05$). *Gal-9* – это ген, связанный с синтезом β -дефензинов птиц [40]. Дефензины способствуют адаптивному иммунитету с помощью селективного рекрутирования моноцитов, Т-лимфоцитов, незрелых дендритных и тучных клеток в очаги инфекции [41, 42]. Ранее [43–45] также было показано, что воздействие пищевых загрязнителей, включая токсины фумонизин В1, ниваленол, зеараленон, ДОН, и кишеч-

ных патогенов вызывает усиление экспрессии мРНК дефензинов. Применение сорбента (экспериментальная группа III) способствовало снижению уровня экспрессии *Gal-9* в тканях эпителия слепых отростков кишечника в 4,1 раза, в тканях поджелудочной железы – в 2,6 раза по сравнению с группой II ($p \leq 0,05$). Это, вероятно, имело позитивный эффект для здоровья птиц, поскольку, по мнению E. Veldhuizen et al. [46], повышенная экспрессия дефензинов может вызывать повреждение тканей и воспаление.

Как в слепых отростках кишечника, так и в поджелудочной железе бройлеров экспериментальных групп не отмечено изменения уровня экспрессии гена *IRF7*, который связан с синтезом регуляторного фактора интерферона 7, противодействующего вирусам с помощью различных стратегий по сравнению с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о воздействии загрязнения кормов бройлеров Т-2 токсином на модуляцию уровня экспрессии генов, связанных с функционированием иммунной системы, в слепых отростках кишечника и поджелудочной железы. Влияние энтеросорбента на основе диатомита, эфирных масел и полезных микроорганизмов, а также комплекса, включающего сорбент и фермент, на экспрессию генов бройлеров, было позитивным. Сорбент без фермента показал большую эффективность, чем с дополнительным введением фермента. Введение протеазы снижало эффективность сорбента.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-76-10003.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zain ME. Impact of mycotoxins on humans and animals. *J Saudi Chem Soc.* 2011; 15(2): 129-144. doi: 10.1016/j.jscs.2010.06.006
2. Fink-Gremmels J, Georgiou NA. *Risk assessment of mycotoxins for the consumer*. In: Ennen G, Kuiper HA, Valentin A (eds). Residues of veterinary drugs and mycotoxins in animal products. NL-Wageningen Press; 1996: 159-174.
3. Adhikari M, Negi B, Kaushik N, Adhikari A, Al-Khedhairy AA, Kaushik NK, et al. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. *Oncotarget.* 2017; 8(20): 33933-33952. doi: 10.18632/oncotarget.15422
4. Kalantari H, Zong MS, Chang IM. Assay of T-2 toxin contamination in domestic and imported agricultural products in Korea. *Proc Jpn Assoc Mycotoxicol.* 1989; 1989(30): 32-34. doi: 10.2520/myco1975.1989.30_32

5. Krska R, Malachova A, Berthiller F, Egmond HPV. Determination of T-2 and HT-2 toxins in food and feed: An update. *World Mycotoxin J.* 2014; 7(2): 131-142. doi: 10.3920/WMJ2013.1605
6. Кононенко Г.П., Буркин А.А., Зотова Е.В. Микотоксикологический мониторинг. Сообщение 3. Кормовая продукция от переработки зернового сырья. *Ветеринария сегодня.* 2020; 3(34): 213-219. doi: 10.29326/2304-196X-2020-3-34-213-219
7. Akande KE, Abubakar MM, Adegbola TA, Bogoro SE. Nutritional and health implications of mycotoxins in animal feeds: A review. *Pak J Nutr.* 2006; 5(5): 398-403.
8. Oswald IP, Marin DE, Bouhet S, Pinton P, Taranu I, Accensi F. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food Addit Contam.* 2005; 22(4): 354-360. doi: 10.1080/02652030500058320
9. Seeboth J, Solinhac R, Oswald IP, Guzylack-Piriou L. The fungal T-2 toxin alters the activation of primary macrophages induced by TLR-agonists resulting in a decrease of the inflammatory response in the pig. *Vet Res.* 2012; 43: 35(2012). doi: 10.1186/1297-9716-43-35
10. Pierron A, Alassane-Kpembi I, Oswald IP. Impact of mycotoxin on immune response and consequences for pig health. *Anim Nutr.* 2016; 2(2): 63-68. doi: 10.1016/j.aninu.2016.03.001
11. Wan Q, Wu G, He Q, Tang H, Wang Y. The toxicity of acute exposure to T-2 toxin evaluated by the metabolomics technique. *Mol Biosyst.* 2015; 11(3): 882-891. doi: 10.1039/c4mb00622d
12. Grenier B, Applegate TJ. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published experiments in animals. *Toxins.* 2013; 5(2): 396-430. doi: 10.3390/toxins5020396
13. Casteleyn C, Doom M, Lambrechts E, Van den Broeck W, Simoens P, Cornillie P. Locations of gut-associated lymphoid tissue in the 3-month-old chicken: A review. *Avian Pathol.* 2010; 39(3): 143-150. doi: 10.1080/03079451003786105
14. Pinton P, Oswald IP. Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: A review. *Toxins (Basel).* 2014; 6(5): 1615-1643. doi: 10.3390/toxins6051615
15. Pang VF, Adams JH, Beasley VR, Buck WB, Haschek WM. Myocardial and pancreatic lesions induced by T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin, in swine. *Vet Pathol.* 1986; 23(3): 310-319. doi: 10.1177/030098588602300312
16. Obremski K, Podlasz P, Żmigrodzka M, Winnicka A, Woźny M, Brzuza P, et al. The effect of T-2 toxin on percentages of CD4+, CD8+, CD4+CD8+ and CD21+ lymphocytes, and mRNA expression levels of selected cytokines in porcine ileal Peyer's patches. *Pol J Vet Sci.* 2013; 16(2): 341-349. doi: 10.2478/pjvs-2013-0046
17. Afsah-Hejri L, Jinap S, Hajeb P, Radu S, Shakibazadeh SH. A review on mycotoxins in food and feed: Malaysia case study. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2013; 12(6): 629-651. doi: 10.1111/1541-4337.12029
18. Hritzo Ahye MK, Golding A. Cytoplasmic FOXO1 identifies a novel disease-activity associated B cell phenotype in SLE. *Lupus Sci Med.* 2018; 5(1): e000296. doi: 10.1136/lupus-2018-000296
19. Bijl M, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CG. Fas expression on peripheral blood lymphocytes in systemic lupus erythematosus (SLE): Relation to lymphocyte activation and disease activity. *Lupus.* 2001; 10(12): 866-872. doi: 10.1191/096120301701548517
20. Wilk AJ, Rustagi A, Zhao NQ, Roque J, Martínez-Colón GJ, McKechnie JL, et al. A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19. *Nat Med.* 2020; 26(7): 1070-1076. doi: 10.1038/s41591-020-0944-y
21. Jones D, Como CN, Jing L, Blackmon A, Neff CP, Krueger O, et al. Varicella zoster virus productively infects human peripheral blood mononuclear cells to modulate expression of immunoinhibitory proteins and blocking PD-L1 enhances virus-specific CD8+ T cell effector function. *PLoS Pathog.* 2019; 15(3): e1007650. doi: 10.1371/journal.ppat.1007650
22. Guilford FT, Hope J. Deficient glutathione in the pathophysiology of mycotoxin-related illness. *Toxins (Basel).* 2014; 6(2): 608-623. doi: 10.3390/toxins6020608
23. Li Y, Zhang J, Wu Y, Liu G, Song L, Li Y, et al. High-sensitive chemiluminescent immunoassay investigation and application for the detection of T-2 toxin and major metabolite HT-2 toxin. *J Sci Food Agric.* 2017; 97(3): 818-822. doi: 10.1002/jsfa.7801
24. Liu YL, Meng G.Q, Wang HR, Zhu HL, Hou YQ, Wang WJ, et al. Effect of three mycotoxin adsorbents on growth performance, nutrient retention and meat quality in broilers fed on mould-contaminated feed. *Br Poult Sci.* 2011; 52(2): 255-263. doi: 10.1080/00071668.2011.559453
25. Tozaki H, Emi Y, Horisaka E, Fujita T, Yamamoto A, Muranishi S. Degradation of insulin and calcitonin and their protection by various protease inhibitors in rat caecal contents: Implications in peptide delivery to the colon. *J Pharm Pharmacol.* 1997; 49(2): 164-168. doi: 10.1111/j.2042-7158.1997.tb06773.x
26. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (ETS № 123). Страсбург; 1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a6a8> [дата доступа: 15.02.2022].
27. Егоров И.А., Манукян В.А., Ленкова Т.Н., Околелова Т.М., Лукашенко В.С., Шевяков А.Н. и др. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника. Под ред. В.И. Фисинина. Сергиев Посад; 2013.
28. Zeka F, Vanderheyden K, Smet E, Cuvelier C, Mestdagh P, Vandesompele J. Straightforward and sensitive RT-qPCR based gene expression analysis of FFPE samples. *Sci Rep.* 2016; 6: 21418. doi: 10.1038/srep21418
29. Meza Cerda MI, Gray R, Higgins DP. Cytokine RT-qPCR and ddPCR for immunological investigations of the endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) and other mammals. *Peer J.* 2020; 8: e10306. doi: 10.7717/peerj.10306
30. Laptev GY, Filippova VA, Kochish II, Yildirim EA, Ilina LA, Dubrovin AV, et al. Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella enteritidis* and fed a phytobiotic. *Animals (Basel).* 2019; 9(9): 615. doi: 10.3390/ani9090615
31. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001; 25(4): 402-408. doi: 10.1006/meth.2001.1262
32. Йылдырым Е.А., Грозина А.А., Вертипрахов В.Г., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Лаптев Г.Ю., и др. Экспрессия генов, ассоциированных с иммунитетом, в тканях слепых отростков кишечника и поджелудочной железы цыплят-бройлеров (*Gallus Gallus* L.) при экспериментальном Т-2 токсикозе. *Сельскохозяйственная биология.* 2021; 56(4): 664-681. doi: 10.15389/agrobiology.2021.4.664rus

33. Liu SD, Song MH, Yun W, Lee JH, Kim HB, Cho JH. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poult Sci*. 2019; 98(5): 2026-2033. doi: 10.3382/ps/pey575
34. Lotze ATM. *The cytokine handbook*. 4th ed. Academic Press; 2003.
35. Broom LJ, Kogut MH. Inflammation: friend or foe for animal production? *Poultry Science*. 2018; 97(2): 510-514. doi: 10.3382/ps/pex314
36. Jiang XR, Awati A, Agazzi A, Vitari F, Ferrari A, Bento H, et al. Effects of a blend of essential oils and an enzyme combination on nutrient digestibility, ileum histology and expression of inflammatory mediators in weaned piglets. *Animal*. 2015; 9(3): 417-426. doi: 10.1017/S1751731114002444
37. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*. 1996; 87(2): 171. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81334-3
38. Zhivotovsky B, Burgess DH, Orrenius S. Proteases in apoptosis. *Experientia*. 1996; 52(10-11): 968-978. doi: 10.1007/BF01920106
39. Wu B, Guo H, Cui H, Peng X, Fang J, Zuo Z, et al. Pathway underlying small intestine apoptosis by dietary nickel chloride in broiler chickens. *Chemic Biol Interact*. 2016; 243: 91-106. doi: 10.1016/j.cbi.2015.11.010
40. van Dijk A, Veldhuizen EJA, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet Immunol Immunopathol*. 2008; 124(1-2): 1-18. doi: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006
41. Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, et al. Beta-defensins: Linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*. 1999; 286(5439): 525-528. doi: 10.1126/science.286.5439.525
42. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Matsuda H, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *Int Immunol*. 2002; 14(4): 421-426. doi: 10.1093/intimm/14.4.421
43. Veldhuizen EJA, Hendriks HG, Hogenkamp A, van Dijk A, Gastra W, Tooten PCJ, et al. Differential regulation of porcine β -defensins 1 and 2 upon Salmonella infection in the intestinal epithelial cell line IPI-2I. *Vet Immunol Immunopathol*. 2006; 114(1-2): 94-102. doi: 10.1016/j.vetimm.2006.07.012
44. Elahi S, Buchanan RM, Attah-Poku S, Townsend HGG, Babiuk LA, Gerdtz V. The host defense peptide beta-defensin 1 confers protection against Bordetella pertussis in newborn piglets. *Infect Immun*. 2006; 74(4): 2338-2352. doi: 10.1128/IAI.74.4.2338-2352.2006
45. Zhang G, Hiraiwa H, Yasue H, Wu H, Ross CR, Troyer D, et al. Cloning and characterization of the gene for a new epithelial α -defensin. *J Biol Chem*. 1999; 274(34): 24031-24037. doi: 10.1074/jbc.274.34.24031
46. Veldhuizen EJA., Rijnders M, Claassen EA, van Dijk A, Haagsman HP. Porcine α -defensin 2 displays broad antimicrobial activity against pathogenic intestinal bacteria. *Mol Immunol*. 2008; 45(2): 386-394. doi: 10.1016/j.molimm.2007.06.001

REFERENCES

1. Zain ME. Impact of mycotoxins on humans and animals. *J Saudi Chem Soc*. 2011; 15(2): 129-144. doi: 10.1016/j.jscs.2010.06.006
2. Fink-Gremmels J, Georgiou NA. *Risk assessment of mycotoxins for the consumer*. In: Ennen G, Kuiper HA, Valentin A (eds). Residues of veterinary drugs and mycotoxins in animal products. NL-Wageningen Press; 1996: 159-174.
3. Adhikari M, Negi B, Kaushik N, Adhikari A, Al-Khedhairi AA, Kaushik NK, et al. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. *Oncotarget*. 2017; 8(20): 33933-33952. doi: 10.18632/oncotarget.15422
4. Kalantari H, Zong MS, Chang IM. Assay of T-2 toxin contamination in domestic and imported agricultural products in Korea. *Proc Jpn Assoc Mycotoxicol*. 1989; 1989(30): 32-34. doi: 10.2520/myco1975.1989.30_32
5. Krska R, Malachova A, Berthiller F, Egmond HPV. Determination of T-2 and HT-2 toxins in food and feed: An update. *World Mycotoxin J*. 2014; 7(2): 131-142. doi: 10.3920/WMJ2013.1605
6. Kononenko GP, Burkin AA, Zotova EV. Mycotoxicological monitoring. Message 3. Feed products from the processing of grain raw materials. *Veterinary Science Today*. 2020; 3(34): 213-219. (In Russ.). doi: 10.29326/2304-196X-2020-3-34-213-219
7. Akande KE, Abubakar MM, Adegbola TA, Bogoro SE. Nutritional and health implications of mycotoxins in animal feeds: A review. *Pak J Nutr*. 2006; 5(5): 398-403.
8. Oswald IP, Marin DE, Bouhet S, Pinton P, Taranu I, Accensi F. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food Addit Contam*. 2005; 22(4): 354-360. doi: 10.1080/02652030500058320
9. Seeboth J, Solinhac R, Oswald IP, Guzylack-Piriou L. The fungal T-2 toxin alters the activation of primary macrophages induced by TLR-agonists resulting in a decrease of the inflammatory response in the pig. *Vet Res*. 2012; 43: 35(2012). doi: 10.1186/1297-9716-43-35
10. Pierron A, Alassane-Kpembi I, Oswald IP. Impact of mycotoxin on immune response and consequences for pig health. *Anim Nutr*. 2016; 2(2): 63-68. doi: 10.1016/j.aninu.2016.03.001
11. Wan Q, Wu G, He Q, Tang H, Wang Y. The toxicity of acute exposure to T-2 toxin evaluated by the metabonomics technique. *Mol Biosyst*. 2015; 11(3): 882-891. doi: 10.1039/c4mb00622d
12. Grenier B, Applegate TJ. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published experiments in animals. *Toxins*. 2013; 5(2): 396-430. doi: 10.3390/toxins5020396
13. Casteleyn C, Doom M, Lambrechts E, Van den Broeck W, Simoens P, Cornillie P. Locations of gut-associated lymphoid tissue in the 3-month-old chicken: A review. *Avian Pathol*. 2010; 39(3): 143-150. doi: 10.1080/03079451003786105
14. Pinton P, Oswald IP. Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: A review. *Toxins (Basel)*. 2014; 6(5): 1615-1643. doi: 10.3390/toxins6051615
15. Pang VF, Adams JH, Beasley VR, Buck WB, Haschek WM. Myocardial and pancreatic lesions induced by T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin, in swine. *Vet Pathol*. 1986; 23(3): 310-319. doi: 10.1177/030098588602300312
16. Obremski K, Podlasz P, Żmigrodzka M, Winnicka A, Woźny M, Brzuza P, et al. The effect of T-2 toxin on percentages of CD4+, CD8+, CD4+CD8+ and CD21+ lymphocytes, and mRNA expression levels of selected cytokines in porcine ileal Peyer's patches. *Pol J Vet Sci*. 2013; 16(2): 341-349. doi: 10.2478/pjvs-2013-0046
17. Afsah-Hejri L, Jinap S, Hajeb P, Radu S, Shakibazadeh SH. A review on mycotoxins in food and feed: Malaysia case study. *Com-*

pr Rev Food Sci Food Saf. 2013; 12(6): 629-651. doi: 10.1111/1541-4337.12029

18. Hritzo Ahye MK, Golding A. Cytoplasmic FOXO1 identifies a novel disease-activity associated B cell phenotype in SLE. *Lupus Sci Med*. 2018; 5(1): e000296. doi: 10.1136/lupus-2018-000296

19. Bijl M, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CG. Fas expression on peripheral blood lymphocytes in systemic lupus erythematosus (SLE): Relation to lymphocyte activation and disease activity. *Lupus*. 2001; 10(12): 866-872. doi: 10.1191/096120301701548517

20. Wilk AJ, Rustagi A, Zhao NQ, Roque J, Martínez-Colón GJ, McKechnie JL, et al. A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19. *Nat Med*. 2020; 26(7): 1070-1076. doi: 10.1038/s41591-020-0944-y

21. Jones D, Como CN, Jing L, Blackmon A, Neff CP, Krueger O, et al. Varicella zoster virus productively infects human peripheral blood mononuclear cells to modulate expression of immunoinhibitory proteins and blocking PD-L1 enhances virus-specific CD8+ T cell effector function. *PLoS Pathog*. 2019; 15(3): e1007650. doi: 10.1371/journal.ppat.1007650

22. Guilford FT, Hope J. Deficient glutathione in the pathophysiology of mycotoxin-related illness. *Toxins (Basel)*. 2014; 6(2): 608-623. doi: 10.3390/toxins6020608

23. Li Y, Zhang J, Wu Y, Liu G, Song L, Li Y, et al. High-sensitive chemiluminescent immunoassay investigation and application for the detection of T-2 toxin and major metabolite HT-2 toxin. *J Sci Food Agric*. 2017; 97(3): 818-822. doi: 10.1002/jsfa.7801

24. Liu YL, Meng GQ, Wang HR, Zhu HL, Hou YQ, Wang WJ, et al. Effect of three mycotoxin adsorbents on growth performance, nutrient retention and meat quality in broilers fed on mould-contaminated feed. *Br Poult Sci*. 2011; 52(2): 255-263. doi: 10.1080/00071668.2011.559453

25. Tozaki H, Emi Y, Horisaka E, Fujita T, Yamamoto A, Muranishi S. Degradation of insulin and calcitonin and their protection by various protease inhibitors in rat caecal contents: Implications in peptide delivery to the colon. *J Pharm Pharmacol*. 1997; 49(2): 164-168. doi: 10.1111/j.2042-7158.1997.tb06773.x

26. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental or Other Scientific Purposes* (ETS No. 123). Strasbourg; 1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a6a8> [date of access: 15.02.2022]. (In Russ.)

27. Egorov IA, Manukyan VA, Lenkova TN, Okolelova TM, Lukashenko VS, Shevyakov AN, et al. *Methods for conducting scientific and industrial research on feeding poultry. Molecular genetic methods for determining the intestinal microflora*. Sergiev Posad; 2013. (In Russ.)

28. Zeka F, Vanderheyden K, Smet E, Cuvelier C, Mestdagh P, Vandesompele J. Straightforward and sensitive RT-qPCR based gene expression analysis of FFPE samples. *Sci Rep*. 2016; 6: 21418. doi: 10.1038/srep21418

29. Meza Cerda MI, Gray R, Higgins DP. Cytokine RT-qPCR and ddPCR for immunological investigations of the endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) and other mammals. *Peer J*. 2020; 8: e10306. doi: 10.7717/peerj.10306

30. Laptev GY, Filippova VA, Kochish II, Yildirim EA, Ilina LA, Dubrovin AV, et al. Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella enteritidis* and fed a phytobiotic. *Animals (Basel)*. 2019; 9(9): 615. doi: 10.3390/ani9090615

31. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001; 25(4): 402-408. doi: 10.1006/meth.2001.1262

32. Yildyrym EA, Grozina AA, Vertiprakhov VG, Ilyina LA, Filippova VA, Laptev GYu, et al. Expression of immune-associated genes in tissues blind processes of the intestine and pancreas of broiler chickens (*Gallus Gallus* L.) with experimental T-2 toxicosis. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. 2021; 56(4): 664-681. (In Russ.). doi: 10.15389/agrobiology.2021.4.664rus

33. Liu SD, Song MH, Yun W, Lee JH, Kim HB, Cho JH. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poult Sci*. 2019; 98(5): 2026-2033. doi: 10.3382/ps/pey575

34. Lotze ATM. *The cytokine handbook*. 4th ed. Academic Press; 2003.

35. Broom LJ, Kogut MH. Inflammation: friend or foe for animal production? *Poultry Science*. 2018; 97(2): 510-514. doi: 10.3382/ps/pex314

36. Jiang XR, Awati A, Agazzi A, Vitari F, Ferrari A, Bento H, et al. Effects of a blend of essential oils and an enzyme combination on nutrient digestibility, ileum histology and expression of inflammatory mediators in weaned piglets. *Animal*. 2015; 9(3): 417-426. doi: 10.1017/S1751731114002444

37. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*. 1996; 87(2): 171. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81334-3

38. Zhivotovsky B, Burgess DH, Orrenius S. Proteases in apoptosis. *Experientia*. 1996; 52(10-11): 968-978. doi: 10.1007/BF01920106

39. Wu B, Guo H, Cui H, Peng X, Fang J, Zuo Z, et al. Pathway underlying small intestine apoptosis by dietary nickel chloride in broiler chickens. *Chemic Biol Interact*. 2016; 243: 91-106. doi: 10.1016/j.cbi.2015.11.010

40. van Dijk A, Veldhuizen EJA, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet Immunol Immunopathol*. 2008; 124(1-2): 1-18. doi: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006

41. Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, et al. Beta-defensins: Linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*. 1999; 286(5439): 525-528. doi: 10.1126/science.286.5439.525

42. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Matsuda H, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *Int Immunol*. 2002; 14(4): 421-426. doi: 10.1093/intimm/14.4.421

43. Veldhuizen EJA, Hendriks HG, Hogenkamp A, van Dijk A, Gastra W, Tooten PCJ, et al. Differential regulation of porcine β -defensins 1 and 2 upon *Salmonella* infection in the intestinal epithelial cell line IPI-2I. *Vet Immunol Immunopathol*. 2006; 114(1-2): 94-102. doi: 10.1016/j.vetimm.2006.07.012

44. Elahi S, Buchanan RM, Attah-Poku S, Townsend HGG, Babiuk LA, Gerdtts V. The host defense peptide beta-defensin 1 confers protection against *Bordetella pertussis* in newborn piglets. *Infect Immun*. 2006; 74(4): 2338-2352. doi: 10.1128/IAI.74.4.2338-2352.2006

45. Zhang G, Hiraiwa H, Yasue H, Wu H, Ross CR, Troyer D, et al. Cloning and characterization of the gene for a new epithelial α -defensin. *J Biol Chem*. 1999; 274(34): 24031-24037. doi: 10.1074/jbc.274.34.24031

46. Veldhuizen EJA., Rijnders M, Claassen EA, van Dijk A, Haagsman HP. Porcine α -defensin 2 displays broad antimicrobial activity against pathogenic intestinal bacteria. *Mol Immunol.* 2008; 45(2): 386-394. doi: 10.1016/j.molimm.2007.06.001

Сведения об авторах

Йылдырым Елена Александровна – доктор биологических наук, главный биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ+»; профессор кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: den-iz@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>

Грозина Елена Андреевна – кандидат биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая отделом физиологии и биохимии, ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук, e-mail: alena_fisinina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3088-0454>

Ильина Лариса Александровна – кандидат биологических наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ»; доцент кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: ilina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

Филиппова Валентина Анатольевна – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ»; заведующий лабораторией кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: filippova@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>

Лаптев Георгий Юрьевич – доктор биологических наук, директор, ООО «БИОТРОФ»; профессор кафедры крупного животноводства, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: laptev@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>

Пономарева Екатерина Сергеевна – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», e-mail: kate@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>

Дубровин Андрей Валерьевич – кандидат ветеринарных наук, биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ», e-mail: dubrovin@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>

Калиткина Ксения Андреевна – биотехнолог молекулярно-генетической лаборатории, ООО «БИОТРОФ»; студент кафедры крупного животноводства (направления «Зоотехния», магистерская программа «Селекция в частной зоотехнии»), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», e-mail: kseniya.k.a@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>

Молотков Виталий Владимирович – менеджер по продажам, ООО «БИОТРОФ», e-mail: molotkov@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6196-6226>

Ахматчин Дмитрий Андреевич – менеджер по продажам, ООО «БИОТРОФ», e-mail: da@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5264-1753>

Тюрина Дарья Георгиевна – кандидат экономических наук, заместитель директора по финансам, ООО «БИОТРОФ», e-mail: tiurina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Information about the authors

Elena A. Yildirim – Dr. Sc. (Biol.), Chief Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof; Professor at the Department of Large Animal Husbandry, Saint Petersburg State Agrarian University, e-mail: deniz@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5846-5105>

Alena A. Grozina – Cand. Sc. (Biol.), Chief Research Officer, Head of the Department of Physiology and Biochemistry, All-Russian Research and Technological Poultry Institute of Russian Academy of Sciences, e-mail: alena_fisinina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3088-0454>

Larisa A. Ilina – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof; Associate Professor at the Department of Large Animal Husbandry, Saint Petersburg State Agrarian University, e-mail: ilina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2789-4844>

Valentina A. Filippova – Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof; Head of the Laboratory of the Department of Large Animal Husbandry, Saint Petersburg State Agrarian University, e-mail: filippova@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8789-9837>

Georgiy Y. Laptev – Dr. Sc. (Biol.), Head of LLC Biotrof; Professor at the Department of Large Animal Husbandry, Saint Petersburg State Agrarian University, e-mail: laptev@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8795-6659>

Ekaterina S. Ponomareva – Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, e-mail: kate@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4336-8273>

Andrey V. Dubrovin – Cand. Sc. (Vet.), Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof, e-mail: dubrovin@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8424-4114>

Kseniya A. Kalitkina – Biotechnologist at the Molecular Genetic Laboratory, LLC Biotrof; Student at the Department of Large Animal Husbandry, Saint Petersburg State Agrarian University, e-mail: kseniya.k.a@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9541-6839>

Vitaliy V. Molotkov – Sales Manager, LLC Biotrof, e-mail: molotkov@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6196-6226>

Dmitriy A. Akhmatchin – Sales Manager, LLC Biotrof, e-mail: da@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5264-1753>

Daria G. Tiurina – Cand. Sc. (Econ.), Deputy Director for Finances, LLC Biotrof, e-mail: tiurina@biotrof.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9001-2432>

Вклад авторов

Йылдырым Е.А. – подготовка текста публикации.

Грозина А.А. – постановка эксперимента на поголовье птицы.

Ильина Л.А. – руководство молекулярно-генетическими исследованиями.

Филиппова В.А. – молекулярно-генетические исследования.

Лаптев Г.Ю. – общее руководство экспериментом.

Пономарева Е.С. – молекулярно-генетические исследования.

Дубровин А.В. – наработка опытной партии сорбента.

Калиткина К.А. – оформление публикации в соответствии с требованиями.

Молотков В.В. – наработка опытной партии сорбента.

Ахматчин Д.А. – молекулярно-генетические исследования.

Тюрина Д.Г. – подготовка текста публикации.

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

АНАЛИЗ ТЕМПЕРАТУРНО-БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСЛЕДСТВИЯМИ ТРАВМЫ ШЕЙНОГО ОТДЕЛА СПИННОГО МОЗГА

Щурова Е.Н.,
Прудникова О.Г.,
Качесова А.А.

ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр травматологии
и ортопедии имени академика
Г.А. Илизарова» Минздрава России
(640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Щурова Елена Николаевна,
e-mail: elena.shurova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. У пациентов с отдалёнными последствиями позвоночно-спинномозговой травмы при выраженном неврологическом дефиците стандартная неврологическая оценка не позволяет точно выявить изменения чувствительности, определяющие уровень, степень и характер повреждения спинного мозга, а также оценить минимальную динамику этих нарушений при различных вариантах лечения. Вследствие этого объективная инструментальная оценка сенсорной сферы в отдалённом периоде травмы спинного мозга не утратила своей актуальности.

Цель: провести инструментальное исследование состояния температурно-болевой чувствительности у пациентов с частичным грубым повреждением шейного отдела спинного мозга в отдалённом периоде заболевания (тип В по шкале ASIA).

Методы. Было обследовано 23 пациента с последствиями перелома позвонков в шейном отделе позвоночника в позднем периоде травматической болезни спинного мозга степени В по шкале ASIA. Клинический анализ чувствительных нарушений проводился согласно шкалам ISNCSCI и ASIA. При исследовании температурно-болевой чувствительности определяли порог тепловой чувствительности и порог боли от горячего в дерматомов CIV–SI справа и слева с помощью электрического эстезиометра.

Результаты. У обследованных пациентов регистрировалось наличие гипестезии тепловой и болевой чувствительности, гиперестезии болевой чувствительности, термоанестезии и термоаналгезии. Степень изменений температурно-болевой чувствительности зависела от топографической локализации дерматомов. Чем более дистально располагается область исследования от уровня повреждений, тем в большей степени выражены нарушения. У 30,4 % больных была сохранена, хотя бы с одной стороны, болевая чувствительность от горячего в цепочке дерматомов с CIV по SI. В 69,6 % случаев в дерматомов с ThVII и дистально наблюдается сочетание термоанестезии с термоаналгезией.

Заключение. Инструментально регистрируемый уровень нарушения температурно-болевой чувствительности не соответствует клинически определяемой локализации сенсорных нарушений. Диапазон расхождения колеблется от 2 до 12 дерматомов, с определением субклинического дефицита чувствительности над областью клинических сенсорных нарушений.

Ключевые слова: травматическая болезнь спинного мозга (ТБСМ), травма спинного мозга, отдалённый/поздний период ТБСМ, шейный отдел спинного мозга, сенсорные нарушения, нарушения чувствительности, температурно-болевая чувствительность

Для цитирования: Щурова Е.Н., Прудникова О.Г., Качесова А.А. Анализ температурно-болевой чувствительности у пациентов с последствиями травмы шейного отдела спинного мозга. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 190-202. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.20

Статья получена: 20.10.2021

Статья принята: 18.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

ANALYSIS OF TEMPERATURE-PAIN SENSITIVITY IN PATIENTS WITH CONSEQUENCES OF THE CERVICAL SPINAL CORD INJURY

Shchurova E.N.,
Prudnikova O.G.,
Kachesova A.A.

National Ilizarov Medical Research
Centre for Traumatology and
Ortopaedics (M. Ulyanovoy str. 6,
Kurgan 640014, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena N. Shchurova,
e-mail: elena.shurova@mail.ru

ABSTRACT

Background. The standard neurological assessment in patients with long-term consequences of spine-and-spinal cord injury and severe neurological deficit does not allow to accurately identify changes in sensitivity that determine the level, degree and nature of spinal cord injury, as well as to evaluate the minimal dynamics of these disorders with different treatment options. As a result, an objective instrumental assessment of the sensory sphere in the long-term period of spinal cord injury has not lost its relevance.

The aim. To conduct an instrumental study of the temperature-pain sensitivity condition in patients with partial gross damage to the cervical spinal cord in the long-term period of the disease (type B on the ASIA scale).

Methods. We examined 23 patients with consequences of vertebral fractures of the cervical spine in the late period of traumatic spinal cord disease, Grade B on the ASIA scale ASIA. The clinical analysis of sensitive disorders was performed according to ISNCSCI and ASIA scales. While studying the temperature-pain sensitivity the threshold of thermal sensitivity and the threshold of pain from hot were determined in C_{IV} – S_I dermatomes on the right and on the left using an electric esthesiometer.

Results. The examined patients had hypesthesia of heat and pain sensitivity, hyperesthesia of pain sensitivity, thermoanesthesia and thermoanalgesia. The degree of changes in the temperature-pain sensitivity depended on the topographic localization of dermatomes. The more distally the study area was located from the level of damage, the more pronounced the disorders were. In 30.4 % of patients, the pain sensitivity from hot in the chain of dermatomes from C_{IV} to S_I was preserved on at least one side. The combination of thermoanesthesia with thermoanalgesia was observed in 69.6 % of cases in dermatomes with Th_{VII} and distally.

Conclusions. The instrumentally registered level of the temperature-pain sensitivity disorder did not correspond to clinically determined localization of sensory disorders. The range of discrepancy ranged from 2 to 12 dermatomes, with defining the sensitivity subclinical deficit over the area of clinical sensory disorders.

Key words: traumatic spinal cord disease (TSCD), spinal cord injury, long-term/late period of TSCD, cervical spinal cord, sensory disorders, sensitivity disorders, temperature-pain sensitivity

Received: 20.10.2021
Accepted: 18.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Shchurova E.N., Prudnikova O.G., Kachesova A.A. Analysis of temperature-pain sensitivity in patients with consequences of the cervical spinal cord injury. *Acta bio-medica scientifica*. 2022; 7(3): 190-202. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.20

ОБОСНОВАНИЕ

Позвоночно-спинномозговая травма является одной из сложных и актуальных проблем современной медицины и общества. Каждый год в различных регионах мира насчитывается около 790 000 новых случаев травм позвоночника [1]. В России прирост больных с позвоночно-спинномозговой травмой составляет около 8000 в год [2].

Чаще всего травматическое повреждение регистрируется в шейном отделе позвоночника (в 39–53 % случаев) [3–5], с преимущественной локализацией на уровне C_6 и/или C_7 позвонков [3, 6]. В 33–65 % случаев переломы позвоночника сопровождаются повреждением спинного мозга и, следовательно, неврологическим дефицитом [5, 7].

Пациенты с позвоночно-спинномозговой травмой шейного отдела имеют выраженные нарушения двигательных, сенсорных и вегетативных функций [8]. С течением времени, в отдалённый период повреждения спинного мозга (хроническая фаза), восстановление проводимости спинного мозга серьёзно затрудняется развитием астроглиально-фиброзного рубца, окружающего сросшиеся кистозные полости, и формируется комплекс грубых функциональных и неврологических нарушений [9, 10].

Патоморфологические изменения как спинного мозга, нервной системы, так и всего организма в целом различаются в зависимости от момента травмы. В иностранной литературе выделяют острую (до 2 месяцев), подострую (12–18 месяцев после травмы) и хроническую фазу травмы спинного мозга. В отечественной литературе соответствующей по временным характеристикам является классификация периодов травматической болезни спинного мозга (ТБСМ) О.А. Амелиной (1998): острый (несколько дней – 3–4 месяца), промежуточный (1–2 года), отдалённый (неопределённо долго) [11, 12].

С начала 1980-х годов международные стандарты неврологической классификации травм спинного мозга (ISNCSCI) и шкала нарушений Американской ассоциации травм позвоночника (ASIA) считаются золотым стандартом классификации травматической болезни спинного мозга [13, 14]. Несмотря на широкое использование этих инструментов, были подняты вопросы относительно недостаточной чувствительности, надёжности и валидности ISNCSCI, особенно в отношении его сенсорного компонента [15–17]. Стандартная неврологическая оценка может не выявить минимальные изменения при выраженных двигательных и чувствительных расстройствах, характерных для данной категории больных [18]. Кроме того, отмечаются расхождения между клинической оценкой сенсорной функции и порогоми электрического восприятия при частичном повреждении в отдалённом периоде травмы шейного отдела спинного мозга [19]. По мнению ряда авторов, классификация пациентов с неполным повреждением спинного мозга менее надёжна, чем у больных с полным повреждением спинного мозга [20, 21]. Дифференциальная ди-

агностика нарушений видов чувствительности, степени и локализации является не только основой топического диагноза, но и инструментом для оценки состояния пациентов в динамике.

Вследствие этого объективная инструментальная оценка сенсорной сферы в отдалённом периоде травмы спинного мозга не утратила своей актуальности.

В литературе представлены единичные сообщения, в которых производилась инструментальная, количественная оценка разных видов чувствительности у пациентов в хронической фазе травматической болезни с неполным повреждением спинного мозга [22–24]. Кроме того, в этих публикациях отсутствует стратификация по степеням повреждения (B, C, D) и нет чёткой акцентуации на уровень травмы спинного мозга (шейный, грудной и т. д.).

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести инструментальное исследование состояния температурно-болевой чувствительности у пациентов с неполным повреждением шейного отдела спинного мозга в отдалённом периоде заболевания (тип B по шкале ASIA).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: проспективное контролируемое моноцентровое исследование.

Критерии включения: поздний период повреждения спинного мозга, тип B неврологических нарушений по шкале ASIA, уровень повреждения – шейный отдел позвоночника. **Критерии исключения:** острый и промежуточный период повреждения спинного мозга, тип A, C, D по шкале ASIA, повреждение позвоночника на уровне грудного и поясничного отделов.

Методы исследования: клинический (неврологический статус), лучевой, МРТ, эстеziометрия, статистический.

Этическая экспертиза. Исследования были проведены в соответствии с этическими стандартами (Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации с поправками 2013 г.).

Период набора пациентов: с 2019 по 2021 г.

Обследовано 23 пациента в возрасте от 18 до 56 лет (в среднем – $29,0 \pm 1,4$ года), преимущественно мужчины (22 человека). Период времени после позвоночно-спинномозговой травмы колебался от 1 года до 12 лет (в среднем – $3,6 \pm 0,8$ года). В 12 случаях это было последствием травмы «ныряльщика», в остальных случаях ДТП и падение с высоты. В 58 % (12 больных) определялся перелом позвонков C_6 и C_7 , у 2 пациентов – C_{IV-V} позвонков, в трёх случаях – C_{IV} позвонка, в одном случае – C_{VI-VII} позвонков, у 5 больных – C_{VII} позвонка.

У всех пациентов было выполнено неотложное хирургическое лечение (декомпрессивно-стабилизирующее оперативное вмешательство) после получения трав-

мы. Больные проходили неоднократные курсы лечебно-реабилитационных мероприятий.

Клинический анализ чувствительных нарушений проводился согласно шкалам ISNCSCI и ASIA [13, 14]. Использовалась кисточка для определения тактильной чувствительности и укол игой (булавкой) – болевой чувствительности в симметричных участках кожи. Клинически было определено наличие гипестезии с дерматомов Th_{IV} в 3 случаях, с дерматомов Th_V – в 4 случаях, Th_{VI} – в 6 случаях, Th_{VII} , Th_{VIII} , Th_{IX} , Th_{XII} – по одному случаю, C_{VII} – в 3 случаях, анестезии с Th_{II} – в 1 случае, Th_V – в 1 случае, Th_{VI} – в 1 случае.

У 5 пациентов был определён тетрапарез различной степени выраженности, у 15 больных регистрировался верхний парапарез, сочетающийся с нижней параплегией, в 3 случаях – только нижняя параплегия с сохранённой функцией верхних конечностей.

Исследование температурно-болевой чувствительности осуществлялось в области дерматомов с C_{IV} по S_1 справа и слева с помощью электрического эстезиометра (термистор фирмы «EPCOS Inc.», Германия). Определяли температуру кожи в исследуемой области, порог тепловой чувствительности и порог болевой чувствительности от горячего (в градусах).

Контрольную группу составили 13 обследуемых, у которых отсутствовали клинические признаки неврологического дефицита, травмы и хирургических вмешательств на позвоночнике, спинном мозге, нижних конечностях.

Статистическая обработка данных проведена с помощью программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США) с использованием надстройки AtteStat. Нормальность распределения исследуемых данных проверялась с помощью критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. При нормальном типе распределений применялся параметрический принцип статистической обработки – критерий Стьюдента. При отсутствии нормального характера распределения использовались непараметрические методы: критерий знаковых рангов Уилкоксона для связанных выборок, U-критерий Манна – Уитни для несвязанных выборок. Критический уровень статистической значимости при проверке результатов принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование температурно-болевой чувствительности у больных с последствиями позвоночно-спинно-мозговой травмы в шейном отделе позвоночника с неполным повреждением спинного мозга определило наличие гипестезии тепловой и болевой чувствительности, гиперестезии болевой чувствительности, термоанестезии и термоаналгезии (табл. 1). У 7 (30,4 %) больных из 23 была сохранена, хотя бы с одной стороны, болевая чувствительность в цепочке дерматомов с C_{IV} по S_1 . В остальных случаях (16 больных – 69,6 %) в дерматомов с Th_{VII} и дистально наблюдается сочетание термоанестезии с термоаналгезией.

Были определены особенности изменений температурно-болевой чувствительности в зависимости от уровня измерений. Чем более дистально располагается область исследования (дерматом) от уровня повреждения позвоночника и спинного мозга, тем в большей степени выражены нарушения температурно-болевой чувствительности.

Так, в области дерматомов C_{IV} – C_{VII} наблюдалась наибольшая частота нормальных порогов тепловой (21–75 %) и болевой (14–34 %) чувствительности (табл. 1). Термоанестезия колебалась в пределах от 25 до 62 %, термоаналгезия – от 0 до 7 %.

С дерматомов C_{VIII} значительно увеличивается частота термоанестезии (≥ 75 %) и термоаналгезии (≥ 9 %). Снизилась доля дерматомов с нормальными порогоми тепловой (≤ 9 %) и болевой (≤ 9 %) чувствительности.

С дерматомов Th_{IV} значительно увеличивается процент термоаналгезии (≥ 57 %). С уровня Th_V высокий процент термоанестезии (86 %) сочетается с увеличивающейся долей термоаналгезии (≥ 66 %). Эта значительная степень нарушений сохранялась на протяжении дерматомов Th_V – S_1 (табл. 1).

В дерматомов Th_V – S_1 регистрировалось минимальное количество порогов болевой чувствительности, соответствующее показателям контрольной группы (от 0 до 5 %). Гипестезия тепловой чувствительности регистрировалась в 4–11 %, болевой – в 18–34 % (табл. 1).

Также у данной группы пациентов определялась гиперестезия болевой чувствительности. В наибольшей степени она была представлена в дерматомов C_{IV} и C_V (32–58 % случаев), в меньшей степени – в дерматомов C_{VI} – C_{VIII} (5–11 %). В более дистальных областях исследования гиперестезия идентифицировалась эпизодически, в минимальном количестве случаев (от 2 до 4 % в дерматомов с Th_{VII} по Th_{XII}).

Показатели порогов температурно-болевой чувствительности, в среднем по выборке (табл. 2), в дерматомов C_{IV} и C_V были в пределах нормы, в дерматомов C_{VI} и C_{VII} – умеренно повышены (на 1–2 градуса; $p < 0,05$).

С уровня дерматомов C_{VIII} регистрируются более значительные отличия от уровня нормы (на 2–4 градуса, $p < 0,05$). Этот характер отличия сохраняется во всех дерматомов, расположенных более дистально, где была зарегистрирована температурно-болевая чувствительность (табл. 2).

Соответствие порогов болевой чувствительности показателям контрольной группы в дерматомов C_{IV} и C_V может быть обусловлено тем, что в этих дерматомов, кроме наличия достаточной доли нормальных порогов (18–34 %), присутствует сочетание гипестезии (8–50 %) с гиперестезией (32–58 %). Отчасти такой же эффект может иметь место и в дерматомов C_{VI} и C_{VII} .

При разделении обследуемых на группы в зависимости от вида двигательных нарушений различается характер изменений температурно-болевой чувствительности. Так, в I группе (пациенты с тетрапарезом различной степени выраженности) в 60 % случаев была сохранена болевая чувствительность (рис. 1), хотя бы с одной стороны, по всей цепочке дерматомов C_{IV} по S_1 .

ТАБЛИЦА 1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ НАРУШЕНИЙ
ТЕМПЕРАТУРНО-БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
У ПАЦИЕНТОВ С ОТДАЛЁННЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ
НЕПОЛНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ШЕЙНОГО ОТДЕЛА
СПИННОГО МОЗГА (%)

TABLE 1

DISTRIBUTION OF VARIOUS TYPES
OF TEMPERATURE-PAIN SENSITIVITY DISORDERS
IN PATIENTS WITH LONG-TERM CONSEQUENCES
OF INCOMPLETE CERVICAL SPINAL CORD INJURY (%)

Дерматомы	Тепловая чувствительность			Болевая чувствительность			
	Порог в норме (%)	Гипестезия (%)	Термоанестезия (%)	Порог в норме (%)	Гипестезия (%)	Гиперестезия (%)	Термоаналгезия (%)
C _{IV} (n = 12)	75	0	25	34	8	58	0
C _V (n = 34)	35	3	62	18	50	32	0
C _{VI} (n = 42)	21	17	62	31	55	7	7
C _{VII} (n = 44)	34	18	43	14	68	11	7
C _{VIII} (n = 44)	9	16	75	9	77	5	9
Th _I (n = 42)	7	14	79	2	77	2	19
Th _{II} (n = 44)	9	9	82	5	82	0	13
Th _{III} (n = 44)	7	27	66	7	75	0	18
Th _{IV} (n = 42)	2	22	76	0	43	0	57
Th _V (n = 44)	7	7	86	0	34	0	66
Th _{VI} (n = 44)	9	11	80	4	30	0	66
Th _{VII} (n = 44)	9	9	82	0	28	4	68
Th _{VIII} (n = 44)	9	7	84	0	23	4	73
Th _{IX} (n = 44)	4	12	84	5	18	2	75
Th _X (n = 44)	9	5	86	2	23	2	73
Th _{XI} (n = 44)	7	7	86	0	28	2	70
Th _{XII} (n = 44)	0	9	91	0	28	2	70
L _I (n = 44)	2	7	91	4	24	0	72
L _{II} (n = 44)	9	4	86	4	23	0	73
L _{III} (n = 44)	4	7	89	2	25	0	73
L _{IV} (n = 44)	5	9	86	2	25	0	73
L _V (n = 44)	4	7	89	4	23	0	73
S _I (n = 44)	14	2	84	4	23	0	73

Во II группе (пациенты только с нижней параплегией, с сохранённой функцией верхних конечностей) это наблюдалось в 33 % случаев. При наличии верхнего парапареза и нижней параплегии (III группа) степень сохранения болевой чувствительности составляла 16,7 % в дерматомах C_{IV} по S_I.

При соотношении инструментальных исследований температурно-болевой чувствительности с клиническим анализом сенсорного дефицита (по ASIA и ISNCSCI) наблюдались расхождения в уровне определения нарушений, в частности, гипестезия болевой чувствительности от горячего, в большинстве случаев, регистрировалась

на 2–12 дерматомов (в среднем – на $5,5 \pm 0,7$ дерматомов) проксимальнее, чем клинически определяемые нарушения (табл. 3). Следует заметить, сопоставление величины расхождения уровней нарушения чувствительности и давности позвоночно-спинномозговой травмы показало отсутствие взаимосвязи ($r = -0,182$; $p = 0,773$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тяжёлая травма спинного мозга приводит к необратимой потере сенсомоторных и вегетативных

ТАБЛИЦА 2
ПОКАЗАТЕЛИ ТЕМПЕРАТУРНО-БОЛЕВОЙ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ (ГРАДУСЫ) У ПАЦИЕНТОВ
С ОТДАЛЁННЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ НЕПОЛНОГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ ШЕЙНОГО ОТДЕЛА СПИННОГО МОЗГА
($M \pm m$)

TABLE 2
INDICATORS OF TEMPERATURE-PAIN SENSITIVITY
(DEGREES) IN PATIENTS WITH LONG-TERM
CONSEQUENCES OF INCOMPLETE INJURY
OF THE CERVICAL SPINAL CORD ($M \pm m$)

Дерматомы	Контрольная группа ($n = 13$)			Обследуемые пациенты		
	t° кожи	ПТЧ	ПБЧ	t° кожи	ПТЧ	ПБЧ
C_{IV}	$32,4 \pm 0,2$	$34,4 \pm 0,4$	$41,4 \pm 0,5$	$33,1 \pm 0,3$	$34,0 \pm 0,6$ $n = 9$	$40,0 \pm 0,6$ $n = 12$
C_V	$33,2 \pm 0,1$	$34,3 \pm 0,2$	$41,0 \pm 0,3$	$33,2 \pm 0,2$	$34,4 \pm 0,7$ $n = 11$	$42,2 \pm 0,6$ $n = 34$
C_{VI}	$32,8 \pm 0,2$	$34,5 \pm 0,5$	$41,0 \pm 0,3$	$33,5 \pm 0,2$	$37,1 \pm 0,9^*$ $n = 16$	$43,2 \pm 0,5^*$ $n = 39$
C_{VII}	$32,5 \pm 0,2$	$35,0 \pm 0,3$	$41,2 \pm 0,4$	$33,5 \pm 0,2$	$37,5 \pm 1,0^*$ $n = 24$	$44,0 \pm 0,6^*$ $n = 40$
C_{VIII}	$32,7 \pm 0,1$	$34,8 \pm 0,3$	$41,0 \pm 0,3$	$33,7 \pm 0,1$	$38,5 \pm 1,1^*$ $n = 11$	$45,6 \pm 0,5^*$ $n = 40$
Th_I	$33,5 \pm 0,2$	$34,5 \pm 0,7$	$42,0 \pm 0,5$	$33,6 \pm 0,2$	$39,3 \pm 1,3^*$ $n = 9$	$47,2 \pm 0,5^*$ $n = 34$
Th_{II}	$33,6 \pm 0,1$	$35,0 \pm 0,6$	$41,5 \pm 0,2$	$33,9 \pm 0,1$	$39,4 \pm 1,6^*$ $n = 8$	$47,0 \pm 0,4^*$ $n = 38$
Th_{III}	$33,2 \pm 0,2$	$34,3 \pm 0,3$	$42,0 \pm 0,4$	$33,8 \pm 0,2$	$41,0 \pm 1,0^*$ $n = 15$	$46,3 \pm 0,5^*$ $n = 36$
Th_{IV}	$33,6 \pm 0,2$	$34,3 \pm 0,3$	$42,0 \pm 0,4$	$33,7 \pm 0,2$	$42,0 \pm 1,4^*$ $n = 10$	$47,8 \pm 0,7^*$ $n = 18$
Th_V	$33,5 \pm 0,2$	$34,5 \pm 0,5$	$41,5 \pm 0,3$	$33,6 \pm 0,1$	$41,0 \pm 2,9^*$ $n = 6$	$48,2 \pm 0,9^*$ $n = 15$
Th_{VI}	$33,3 \pm 0,1$	$34,5 \pm 0,3$	$41,3 \pm 0,5$	$33,7 \pm 0,2$	$40,1 \pm 1,9^*$ $n = 9$	$46,5 \pm 1,1^*$ $n = 15$
Th_{VII}	$33,6 \pm 0,1$	$34,7 \pm 0,6$	$41,4 \pm 0,5$	$33,4 \pm 0,2$	$40,8 \pm 2,2^*$ $n = 9$	$46,0 \pm 1,0^*$ $n = 14$
Th_{VIII}	$33,5 \pm 0,2$	$35,0 \pm 0,4$	$42,0 \pm 0,5$	$33,2 \pm 0,1$	$38,1 \pm 2,0^*$ $n = 7$	$45,4 \pm 1,3^*$ $n = 12$
Th_{IX}	$33,3 \pm 0,1$	$34,8 \pm 0,3$	$41,5 \pm 0,5$	$33,5 \pm 0,2$	$37,2 \pm 1,0^*$ $n = 7$	$44,7 \pm 0,9^*$ $n = 11$
Th_X	$33,8 \pm 0,1$	$34,7 \pm 0,9$	$41,2 \pm 0,4$	$33,4 \pm 0,2$	$37,3 \pm 1,5^*$ $n = 6$	$45,8 \pm 1,2^*$ $n = 12$
Th_{XI}	$33,6 \pm 0,2$	$35,0 \pm 0,6$	$42,0 \pm 0,5$	$33,6 \pm 0,1$	$37,5 \pm 1,4^*$ $n = 6$	$46,0 \pm 1,1^*$ $n = 13$
Th_{XII}	$33,5 \pm 0,1$	$35,0 \pm 0,4$	$41,5 \pm 1,6$	$33,7 \pm 0,2$	$41,5 \pm 1,6^*$ $n = 4$	$46,4 \pm 0,9^*$ $n = 13$
L_I	$34,0 \pm 0,2$	$34,5 \pm 0,7$	$42,0 \pm 0,4$	$33,5 \pm 0,2$	$40,8 \pm 1,5^*$ $n = 4$	$46,0 \pm 0,9^*$ $n = 12$
L_{II}	$32,8 \pm 0,3$	$34,8 \pm 0,3$	$42,2 \pm 0,2$	$33,2 \pm 0,2$	$37,0 \pm 1,0^*$ $n = 6$	$46,8 \pm 0,9^*$ $n = 12$
L_{III}	$32,8 \pm 0,1$	$34,5 \pm 0,1$	$41,5 \pm 0,5$	$33,3 \pm 0,4$	$39,0 \pm 2,5^*$ $n = 5$	$46,5 \pm 1,0^*$ $n = 12$
L_{VI}	$32,5 \pm 0,3$	$34,5 \pm 0,1$	$41,6 \pm 0,2$	$33,2 \pm 0,2$	$39,8 \pm 1,3^*$ $n = 6$	$46,3 \pm 0,9^*$ $n = 12$
L_V	$31,3 \pm 0,3$	$33,8 \pm 0,3$	$41,7 \pm 0,1$	$33,9 \pm 0,2$	$38,0 \pm 2,2^*$ $n = 5$	$46,5 \pm 0,9^*$ $n = 12$
S_I	$30,1 \pm 0,3$	$33,5 \pm 0,7$	$41,4 \pm 0,8$	$32,7 \pm 0,4$	$36,2 \pm 1,8^*$ $n = 7$	$46,4 \pm 1,1^*$ $n = 12$

Примечание. * – статистическая значимость отличий показателей от уровня нормы ($p < 0,05$); ПТЧ – порог тепловой чувствительности; ПБЧ – порог болевой чувствительности.

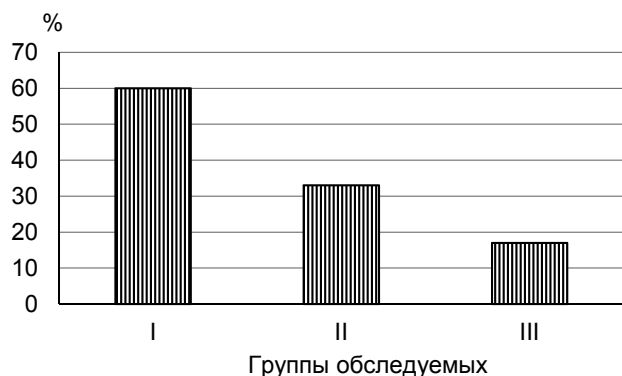


РИС. 1.

Степень сохранности болевой чувствительности в цепочке дерматомов C_{IV} по S_1 в зависимости от уровня двигательных нарушений у пациентов с отдалёнными последствиями неполного повреждения шейного отдела спинного мозга: I – группа пациентов с тетрапарезом различной степени выраженности; II – группа пациентов с нижней параплегией; III – группа пациентов с верхним парапарезом и нижней параплегией

FIG. 1.

The degree of preservation of pain sensitivity in the chain of dermatomes C_{IV} to S_1 depending on the level of movement disorders in patients with long-term consequences of incomplete injury of the cervical spinal cord: I – a group of patients with quadripareisis of varying severity; II – group of patients with lower paraplegia; III – a group of patients with upper paraparesis and lower paraplegia

функций, что вызывает резкое изменение в повседневной деятельности, психосоциальном статусе, качестве жизни [8].

Травматическая болезнь спинного мозга (ТБСМ) обладает уникальной патофизиологией, где за начальным травматическим поражением (первичным повреждением) следует каскад прогрессирующих вторичных нарушений: ишемия, проапоптотическая передача сигналов и инфильтрация периферических воспалительных клеток. В течение последующих часов высвобождение провоспалительных цитокинов и цитотоксических остатков (ДНК, АТФ, активные формы кислорода) циклически усиливает неблагоприятное микроокружение после травмы [9]. По мере того, как поражение перерастает в хроническую фазу, регенерация серьёзно затрудняется развитием астроглиально-фиброзного рубца, окружающего сросшиеся кистозные полости [9, 10].

Отдалённый период травмы спинного мозга характеризуется сформированными неврологическими нарушениями и изменённым функциональным статусом пациентов. Примерно через один год после травмы у большинства пациентов с ТБСМ нейрональная дисфункция полностью установлена и остаётся более или менее стабильной в последующие годы [25].

Большинство травм позвоночника приводят к повреждению спинного мозга с двух сторон и нарушают целостность афферентных (сенсорных) аксонов, проецирующихся через дорсальные столбы спинного мозга к головному. Вследствие особенностей расположе-

ния в спинном мозге, пути дорсальных столбов особенно уязвимы при травматической болезни спинного мозга [26].

Исследование восходящих сенсорных трактов имеет решающее значение при оценке степени травмы, а также пластичности и процессов восстановления после травматического повреждения спинного мозга.

Сенсорная дисфункция является тяжёлым последствием травматического повреждения спинного мозга. Она может проявляться в виде потери чувствительности, гипо- или гиперестезии, боли или аллодинии [23]. Помимо потери сенсорной функции ниже уровня поражения при полной ТБСМ, чувствительные расстройства могут быть обнаружены и выше уровня повреждения, вследствие пластичности нервной системы [27].

Стандартная неврологическая оценка является прилимитной, она не позволяет селективно выявить субклинические нарушения и не может выявить тонких терапевтических эффектов при лечении [18, 23]. Кроме того, в ISNCSCI для классификации нарушений чувствительной сферы при травме спинного мозга используется шкала укола булавкой (иглой) и лёгкого прикосновения [13, 14]. Отсутствие анализа проприоцепции, тепловой и болевой чувствительности могут повлиять на надёжность и валидность данной шкалы [22, 23, 28]. Разными исследователями неоднократно поднимался вопрос о необходимости использования простых клинических методов, таких как термическое и проприоцептивное сенсорное тестирование [23, 24, 29].

В литературе представлены единичные сообщения, в которых производилась инструментальная, количественная оценка разных видов чувствительности у пациентов в хронической фазе травматической болезни с неполным повреждением спинного мозга [22–24].

A. Krassioukov et al. (1999) проводили количественное сенсорное тестирование у 21 пациента с неполным повреждением спинного мозга (более 1 года после травмы, степени B, C, D по ASIA, с неврологическим уровнем повреждения от C_{IV} до Th_{XII}) с помощью комплекса QST (Quantitative sensory testing – количественного сенсорного тестирования) с определением порогов восприятия тепла, холода, боли от холода и вибрации в дерматомах L_{IV} , L_V и S_1 с обеих сторон. Были определены повышенные пороги холодовой, тепловой и вибрационной чувствительности соответствующие гипестезии, что также подтверждено клиническим обследованием у большинства пациентов. Средние величины порогов болевой чувствительности от холода статистически значимо не отличались от показателей контрольной группы (регистрировалась как гипоалгезия, так и гипералгезия) [22].

A. Nicotra, P.H. Ellaway (2006) показали, что безвредные термические тесты (как компонента QST) способны выявлять сенсорную дисфункцию в дерматомах на уровне повреждения (который является наиболее каудальным нормальным уровнем, определяемым клинически по ASIA) при хронической неполной травме спинного мозга (10 пациентов с уровнем

ТАБЛИЦА 3

РАСХОЖДЕНИЕ УРОВНЕЙ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГИПЕСТЕЗИИ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ КЛИНИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ СЕНСОРНЫХ НАРУШЕНИЯ (ПО ASIA И ISNCSCI) И ИНСТРУМЕНТАЛЬНОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОТ ГОРЯЧЕГО У ПАЦИЕНТОВ С ОТДАЛЁННЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ НЕПОЛНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ШЕЙНОГО ОТДЕЛА СПИННОГО МОЗГА

TABLE 3

THE DISCREPANCY BETWEEN THE LEVELS OF DEFINITION OF PAIN SENSITIVITY HYPESTHESIA IN THE CLINICAL ANALYSIS OF SENSORY DISORDERS (ACCORDING TO ASIA AND ISNCSCI) AND INSTRUMENTAL DETERMINATION OF PAIN SENSITIVITY FROM HEAT IN PATIENTS WITH LONG-TERM CONSEQUENCES OF INCOMPLETE INJURY OF THE CERVICAL SPINAL CORD

Пациенты	Гипестезия, определяемая клинически	Гипестезия, определяемая инструментально	Расхождение уровней (количество дерматомов)
№ 1	Th _{VI}	C _V	9
№ 2	Th _{VIII}	C _{VIII}	8
№ 3	Th _{VI}	C _{VI}	8
№ 4	Th _{VI}	C _V	9
№ 5	Th _{IV}	C _{VII}	5
№ 6	Th _{IV}	C _{VIII}	4
№ 7	Th _V	Th _I	4
№ 8	C _{VII}	C _V	2
№ 9	Th _X	Th _{IV}	6
№ 10	C _{VII}	C _{VII}	0
№ 11	Th _{IV}	C _V	7
№ 12	C _{VII}	C _V	2
№ 13	Th _{VI}	C _{VII}	7
№ 14	Th _V	C _{VIII}	5
№ 15	Th _I	C _{VI}	3
№ 16	C _{VI}	C _{VIII}	2
№ 17	Th _{XII}	C _{VIII}	12
№ 18	Th _V	C _{VIII}	5
№ 19	Th _{VII}	Th _I	6
<i>M ± m</i>	–	–	5,5 ± 0,7

травмы от C_{III} до L_{IV}, степенью В, С или D). Они определили, что пороги тепловой и холодовой чувствительности в области исследования значительно выше, чем в норме. Пороги болевой чувствительности от горячего и холода статистически значимо не отличались от показателей контрольной группы [23]. Ниже уровня поражения пороги тактильной, тепловой и холодовой чувствительности были выше нормы (гипестезия). В данном исследовании, тепловые пороги, измеренные для одного или двух дерматомов непосредственно над уровнем поражения, оказались нормальными. Таким образом, наблюдается выборочный субклинический тепловой сенсорный дефицит для дерматомов, клинически определяемый как нормальный (наиболее каудальный нормальный сенсорный уровень) по стандартам ASIA [23].

В работе G. Savic et al. (2007) проводился обобщённый анализ количественного исследования вибрационной, электрической и тепловой чувствительности у пациентов с хронической ТБСМ. Во всех трёх описанных модальностях чувствительности регистрировалась полная потеря чувствительности ниже зоны нормального уровня (определяемого клинически по ASIA), о чём судили по количественным пределам тестов [24].

R.A. Macklin et al. (2016) регистрировали расхождение (≈5 дерматомов, от 1 до 9) между клиническими оценками сенсорной функции (по ASIA и ISNCSCI) и порогом электрического восприятия у 17 пациентов после неполной хронической травмы шейного отдела спинного мозга. Разница между уровнем сенсорных нарушений при определении электрической чувствитель-

ности и оценкой ISNCSCI отрицательно коррелировала со временем после травмы [19].

К сожалению, в работах, посвящённых объективной, количественной оценке разных видов чувствительности у пациентов в хронической фазе ТБСМ с неполным повреждением спинного мозга, нет стратификации по степеням (B, C, D) и отсутствует чёткая акцентуация на уровень повреждения спинного мозга (шейный, грудной и т. д.).

В нашей работе мы провели исследование температурно-болевой чувствительности в дерматомах от C_{IV} до S_1 у 23 пациентов с частичным хроническим повреждением шейного отдела спинного мозга степени В и позвоночника (на уровне C_{IV} – C_{VII} позвонков).

Известно, что температурно-болевая чувствительность – это поверхностная кожная чувствительность. Тепловые рецепторы в основном иннервируются немиелинизированными С-волокнами. Болевая тепловая чувствительность определяется функциональным состоянием в основном С-волокон с некоторым участием А-дельта-волокон [30]. Аfferентные импульсы от терморецепторов проходят через спинномозговые центры, затем через латеральный спиноталамический тракт, таламус и идут к термосенсорной коре, нейроны которой сосредоточены в верхней стенке силивиевой борозды [31].

Изменения (пластические) в этих структурах в хронической фазе ТБСМ могут обуславливать различные сдвиги температурно-болевой чувствительности.

Результаты наших исследований показали, что у пациентов с неполным повреждением шейного отдела спинного мозга в позднем периоде ТБСМ регистрировалось наличие гипестезии тепловой и болевой чувствительности, гиперестезии болевой чувствительности, термоанестезии и термоаналгезии.

Также в наших исследованиях были определены особенности изменений температурно-болевой чувствительности в зависимости от уровня измерений. Чем более дистально располагается область исследования (дерматом) от уровня повреждения позвоночника и спинного мозга, тем в большей степени выражены нарушения температурно-болевой чувствительности.

В нашей группе пациентов в наибольшей степени была сохранена чувствительность в дерматомах, которые соответствовали уровню повреждения позвоночника и спинного мозга (C_{IV} – C_{VII} дерматомы). В этих дерматомах регистрировалась наибольшая частота нормальных порогов тепловой и болевой чувствительности. С дерматома C_{VIII} снижалось количество случаев с нормальными порогоми тепловой и болевой чувствительности, значительно увеличивалась частота термоанестезии и термоаналгезии. У 7 больных (30,4 %) из 23 была сохранена, хотя бы с одной стороны, болевая чувствительность в цепочке дерматомов с C_{IV} по S_1 . В остальных случаях (16 больных, 69,6 %) в дерматомах с Th_{VII} и дистально преимущественно наблюдается сочетание термоанестезии с термоаналгезией.

Восстановление функции после ТБСМ частично обусловлено нейропластическими изменениями или ре-

организацией центральной нервной системы. Нейропластичность может возникнуть в коре головного мозга [32, 33], стволе головного мозга, спинном мозге, периферической нервной системе [26, 34].

Нейропластичность включает в себя адаптивные (и дезадаптивные) изменения в сохранённых нейронных цепях и, таким образом, отражает реорганизацию нервной системы после травматического повреждения [34, 35]. Посттравматическая пластичность проявляется в виде изменения синаптических образований и синаптической силы [36], разрастания аксонов [37] и т. д.

Функциональное значение нейропластичности после ТБСМ, по-прежнему, остаётся неясным. В некоторых ситуациях изменения пластичности могут привести к функциональному улучшению, а в других случаях они могут иметь вредные последствия [34].

Отсутствие чувствительности ниже зоны нормального уровня, определяемого клинически и инструментально, было определено и другими авторами [18, 24]. Согласно данным литературы, для сенсомоторной системы дезадаптивная пластичность включает изменения функции нейронов ниже уровня поражения [34]. Нейрональные цепи спинного мозга, лишённые надспинального возбуждения, развивают нейрональную дисфункцию, которая проявляется в потере потенциалов действия ниже и удалённых от уровня поражения [38, 39].

В работах A. Nicotra et al., G. Savic et al. также отмечено отсутствие или нарушение тепловой чувствительности (повышенные пороги) ниже нормального уровня (определяемого клинически по ASIA) [23, 24].

Повышенные тепловые пороги обусловлены, по видимому, тем, что вход в спиноталамический тракт через межнейронные связи от первичных афферентов, участвующих в передаче сигналов о тепловых раздражениях, является ненормальным. Этого следовало ожидать, поскольку травматическое повреждение, вероятно, затрагивает центральную часть спинного мозга, где происходит переход на противоположную сторону афферентных импульсов от терморецепторов к латеральному спиноталамическому тракту [23].

При соотнесении наших инструментальных исследований температурно-болевой чувствительности с клиническим анализом сенсорных нарушений (по ASIA и ISNCSCI) наблюдались расхождения в уровне определения нарушений, в частности, гипестезия болевой чувствительности от горячего в большинстве случаев регистрировалась на 2–12 дерматомов проксимальнее, чем клинически определяемые нарушения. Наблюдался субклинический сенсорный дефицит (боли от горячего) в дерматомах, расположенных проксимально от уровня клинически определяемых сенсорных нарушений.

Данный факт может быть обусловлен неточным, ориентировочным, приблизительным характером стандартной неврологической оценки, структурно-функциональными особенностями сенсорных систем температурно-болевой, тактильной, механической болевой чувствительности [30, 31, 40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с неполным повреждением шейного отдела спинного мозга в позднем периоде травматической болезни спинного мозга при грубом неврологическом дефиците (тип В по ASIA) регистрировалось наличие гипестезии тепловой и болевой чувствительности, гиперестезии болевой чувствительности, термоанестезии и термоаналгезии. Степень изменений температурно-болевой чувствительности зависела от топографической локализации дерматомов. Чем более дистально располагается область исследования от уровня повреждений, тем в большей степени выражены нарушения. У 30,4 % больных была сохранена, хотя бы с одной стороны, болевая чувствительность от горячего в цепочке дерматомов с C_{IV} по S_I. В 69,6 % случаев в дерматомах с Th_{VII} и дистально наблюдается сочетание термоанестезии с термоаналгезией. Инструментально регистрируемый уровень нарушения температурно-болевой чувствительности не соответствовал клинически определяемой локализации сенсорных нарушений (по ASIA и ISNCSCI). Диапазон расхождения колебался от 2 до 12 дерматомов, с определением субклинического дефицита над уровнем клинических сенсорных нарушений.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar R, Lim J, Mekary RA, Rattani A, Dewan MC, Sharif SY, et al. Traumatic spinal injury: Global epidemiology and worldwide volume. *World Neurosurg.* 2018; 113: e345-e363. doi: 10.1016/j.wneu.2018.02.033
2. Морозов И.Н., Млявых С.Г. Эпидемиология позвоночно-спинномозговой травмы (обзор). *Медицинский альманах.* 2011; 4(17): 157-159.
3. Yilmaz U, Hellen P. Cervical spine trauma. *Radiologe.* 2016; 56(8): 667-672. [In German]. doi: 10.1007/s00117-016-0135-5
4. Bárbara-Bataller E, Méndez-Suárez JL, Alemán-Sánchez C, Sánchez-Enríquez J, Sosa-Henríquez M. Change in the profile of traumatic spinal cord injury over 15 years in Spain. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2018; 26(1): 27. doi: 10.1186/s13049-018-0491-4
5. Bakhsh A, Aljuzair AH, Eldawood H. An epidemiological overview of spinal trauma in the kingdom of Saudi Arabia. *Spine Surg Relat Res.* 2020; 4(4): 300-304. doi: 10.22603/ssrr.2019-0118
6. Wang H, Xiang Q, Li C, Zhou Y. Epidemiology of traumatic cervical spinal fractures and risk factors for traumatic cervical spinal cord injury in China. *J Spinal Disord Tech.* 2013; 26(8): E306-E313. doi: 10.1097/BSD.0b013e3182886db9
7. Ерохин А.Н., Кобызов А.Е., Сергеев О.М., Туровина Е.Ф. Стимуляция диафрагмального нерва посредством модифицированного имплантируемого устройства в комплексе реабилитационных мероприятий после повреждения шейного отдела спинного мозга (случай из практики). *Гений ортопедии.* 2020; 26(1): 89-94. doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-1-89-94
8. Rabinstein AA. Traumatic spinal cord injury. *Continuum (Minneapolis).* 2018; 24(2, Spinal Cord Disorders): 551-566. doi: 10.1212/CON.0000000000000581
9. Ahuja CS, Nouri S, Tetreault L, Wilson J, Kwon B, Harrop J, et al. Traumatic spinal cord injury – repair and regeneration. *Neurosurgery.* 2017; 80(3S): S9-S22. doi: 10.1093/neuros/nyw080
10. Ong B, Wilson JR, Henzel MK. Management of the patient with chronic spinal cord injury. *Med Clin North Am.* 2020; 104(2): 263-278. doi: 10.1016/j.mcna.2019.10.006
11. Burns AS, Marino RJ, Kalsi-Ryan S, Middleton JW, Tetreault LA, Dettori JR, et al. Type and timing of rehabilitation following acute and subacute spinal cord injury: A systematic review. *Global Spine J.* 2017; 7(3S): 175S-194S. doi: 10.1177/2192568217703084
12. Амелина О.А. Травма спинного мозга. В: Макаров А.Ю. (ред.). *Клиническая неврология с основами медико-социальной экспертизы.* СПб.: ООО Золотой век; 1998: 232-248.
13. Ditunno J, Young W, Donovan W, Creasey G. The international standards booklet for neurological and functional classification of spinal cord injury. *Paraplegia.* 1994; 32(2): 70-80. doi: 10.1038/sc.1994.13
14. Kirshblum S, Snider B, Eren F, Guest J. Characterizing natural recovery after traumatic spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2021; 38(9): 1267-1284. doi: 10.1089/neu.2020.7473
15. Hales M, Biros E, Reznick JE. Reliability and validity of the sensory component of the International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury (ISNCSCI): A systematic review. *Top Spinal Cord Inj Rehabil.* 2015; 21(3): 241-249. doi: 10.1310/sci2103-241
16. Mulcahey MJ, Gaughan J, Betz RR, Vogel LC. Rater agreement on the ISNCSCI motor and sensory scores obtained before and after formal training in testing technique. *J Spinal Cord Med.* 2007; 30(1): S146-S149.
17. Прудникова О.Г., Качесова А.А., Рябых С.О. Реабилитация пациентов в отдалённом периоде травмы спинного мозга: метаанализ литературных данных. *Хирургия позвоночника.* 2019; 16(3): 8-16. doi: 10.14531/ss2019.3.8-16
18. Kramer JK, Taylor P, Steeves JD, Curt A. Dermatome somatosensory evoked potentials and electrical perception thresholds during recovery from cervical spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair.* 2010; 24(4): 309-317. doi: 10.1177/1545968309348312
19. Macklin RA, Brooke VJ, Calabro FJ, Ellaway PH, Perez MA. Discrepancies between clinical assessments of sensory function and electrical perceptual thresholds after incomplete chronic cervical spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2016; 54(1): 16-23. doi: 10.1038/sc.2015.104
20. Schulz C, Franz S, Brüggemann K, Heutheaus L, Weidner N, Kirshblum SC, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury: Impact of the revised worksheet (revision 02/13) on classification performance. *J Spinal Cord Med.* 2016; 39(5): 504-512. doi: 10.1080/10790268.2016.1180831
21. Marino R, Jones L, Kirshblum S, Tal J, Dasgupta A. Reliability and repeatability of the motor and sensory examination of the international standards for neurological classification of spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2008; 31(2): 166-170. doi: 10.1080/10790268.2008.11760707
22. Krassioukov A, Wolfe DL, Hsieh JT, Hayes KC, Durham CE. Quantitative sensory testing in patients with incomplete spinal

cord injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 1999; 80(10): 1258-1263. doi: 10.1016/s0003-9993(99)90026-6

23. Nicotra A, Ellaway P. Thermal perception thresholds: Assessing the level of human spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2006; 44(10): 617-624. doi: 10.1038/sj.sc.3101877

24. Savic G, Bergström EMK, Davey NJ, Ellaway PH, Frankel HL, et al. Quantitative sensory tests (perceptual thresholds) in patients with spinal cord injury. *J Rehabil Res Dev.* 2007; 44(1): 77-82. doi: 10.1682/jrrd.2005.08.0137

25. Hubli M, Dietz V. The physiological basis of neurorehabilitation-locomotor training after spinal cord injury. *J Neuroeng Rehabil.* 2013; 10: 5. doi: 10.1186/1743-0003-10-5

26. Ozdemir RA, Perez MA. Afferent input and sensory function after human spinal cord injury. *J Neurophysiol.* 2018; 119(1): 134-144. doi: 10.1152/jn.00354.2017

27. Finnerup NB, Johannesen IL, Bach FW, Jensen TS. Sensory function above lesion level in spinal cord injury patients with and without pain. *Somatosensory Mot Res.* 2003; 20(1): 71-76. doi: 10.1080/0899022031000083843

28. Walsh LD, Moseley GL, Taylor JL, Gandevia SC. Proprioceptive signals contribute to the sense of body ownership. *J Physiol.* 2011; 589(Pt 12): 3009-3021. doi: 10.1113/jphysiol.2011.204941

29. Kirshblum S, Waring W, Biering-Sorensen F, Burns SP, Johansen M, Schmidt-Read M, et al. Reference for the 2011 revision of the International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury. *J Spinal Cord Med.* 2011; 34(6): 547-554. doi: 10.1179/107902611X13186000420242

30. Mucke M, Cuhls C, Radbruch L, Baron R, Maier C, Tölle T, et al. Quantitative sensory testing. *Schmerz.* 2014; 28: 635-648. [In German]. doi: 10.1007/s00482-014-1485-4

31. Mano H, Yoshida W, Shibata K, Zhang S, Koltzenburg M, Kawato M, et al. Thermosensory perceptual learning is associated with structural brain changes in parietal-opercular (SII) cortex. *J Neurosci.* 2017; 37(39): 9380-9388. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1316-17.2017

32. Mohammed H, Hollis ER. 2nd. Cortical reorganization of sensorimotor systems and the role of intracortical circuits after spinal cord injury. *Neurotherapeutics.* 2018; 15(3): 588-603. doi: 10.1007/s13311-018-0638-z

33. Simis M, Camsari DD, Imamura M, Filippo TRM, De Souza DR, Battistella LR, et al. Electroencephalography as a biomarker for functional recovery in spinal cord injury patients. *Front Hum Neurosci.* 2021; 15: 548558. doi: 10.3389/fnhum.2021.548558

34. Dietz V, Fouad K. Restoration of sensorimotor functions after spinal cord injury. *Brain.* 2014; 137(Pt 3): 654-667. doi: 10.1093/brain/awt262

35. Beuparlant J, van den Brand R, Barraud Q, Friedli L, Musienko P, Dietz V, et al. Undirected compensatory plasticity contributes to neuronal dysfunction after severe spinal cord injury. *Brain.* 2013; 136(Pt 11): 3347-3361. doi: 10.1093/brain/awt204

36. Rioult-Pedotti MS, Donoghue JP, Dunaevsky A. Plasticity of the synaptic modification range. *J Neurophysiol.* 2007; 98(6): 3688-3695. doi: 10.1152/jn.00164.2007

37. Bareyre FM, Kerschensteiner M, Raineteau O, Mettenleiter TC, Weinmann O, Schwab ME. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat Neurosci.* 2004; 7(3): 269-277. doi: 10.1038/nn1195

38. Lin CS, Macefield VG, Elam M, Wallin BG, Engel S, Kieran MC. Axonal changes in spinal cord injured patients distal to the site of injury. *Brain.* 2007; 130(Pt 4): 985-994. doi: 10.1093/brain/awl339

39. Баиндурашвили А.Г., Виссарионов С.В., Белянчиков С.М., Картавенко К.А., Солохина И.Ю., Козырев А.С. и др. Комплексное лечение пациента с осложнённой травмой грудного отдела позвоночника с использованием методики чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (клиническое наблюдение). *Гений ортопедии.* 2020; 26(1): 79-88. doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-1-79-88

40. Pfau DB, Haroun O, Lockwood DN, Maier C, Schmitter M, Vollert J, et al. Mechanical detection and pain thresholds: Comparability of devices using stepped and ramped stimuli. *Pain Rep.* 2020; 5(6): e865. doi: 10.1097/PR9.0000000000000865

REFERENCES

1. Kumar R, Lim J, Mekary RA, Rattani A, Dewan MC, Sharif SY, et al. Traumatic spinal injury: Global epidemiology and worldwide volume. *World Neurosurg.* 2018; 113: e345-e363. doi: 10.1016/j.wneu.2018.02.033

2. Morozov IN, Mlyavykh SG. Epidemiology of spine and spinal cord injury (review). *Medical Almanac.* 2011; 4(17): 157-159. (In Russ.).

3. Yilmaz U, Hellen P. Cervical spine trauma. *Radiologe.* 2016; 56(8): 667-672. [In German]. doi: 10.1007/s00117-016-0135-5

4. Bárbara-Bataller E, Méndez-Suárez JL, Alemán-Sánchez C, Sánchez-Enríquez J, Sosa-Henríquez M. Change in the profile of traumatic spinal cord injury over 15 years in Spain. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2018; 26(1): 27. doi: 10.1186/s13049-018-0491-4

5. Bakhsh A, Aljuzair AH, Eldawood H. An epidemiological overview of spinal trauma in the kingdom of Saudi Arabia. *Spine Surg Relat Res.* 2020; 4(4): 300-304. doi: 10.22603/ssrr.2019-0118

6. Wang H, Xiang Q, Li C, Zhou Y. Epidemiology of traumatic cervical spinal fractures and risk factors for traumatic cervical spinal cord injury in China. *J Spinal Disord Tech.* 2013; 26(8): E306-E313. doi: 10.1097/BSD.0b013e3182886db9

7. Erokhin AN, Kobizev AE, Sergeenko OM, Turovinina EF. Phrenic nerve stimulation in complex rehabilitation for cervical spinal cord injury using modified implantable device (case report). *Genij Ortopedii.* 2020; 26(1): 89-94. (In Russ.). doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-1-89-94

8. Rabinstein AA. Traumatic spinal cord injury. *Continuum (Minneapolis).* 2018; 24(2, Spinal Cord Disorders): 551-566. doi: 10.1212/CON.0000000000000581

9. Ahuja CS, Nori S, Tetreault L, Wilson J, Kwon B, Harrop J, et al. Traumatic spinal cord injury – repair and regeneration. *Neurosurgery.* 2017; 80(3S): S9-S22. doi: 10.1093/neuros/nyw080

10. Ong B, Wilson JR, Henzel MK. Management of the patient with chronic spinal cord injury. *Med Clin North Am.* 2020; 104(2): 263-278. doi: 10.1016/j.mcna.2019.10.006

11. Burns AS, Marino RJ, Kalsi-Ryan S, Middleton JW, Tetreault LA, Dettori JR, et al. Type and timing of rehabilitation following acute and subacute spinal cord injury: A systematic review. *Global Spine J.* 2017; 27(3S): 1755-1945. doi: 10.1177/2192568217703084

12. Amelina OA. Trauma of spinal cord. In: Makarov AYU (ed). *Clinical neurology with the basics of medical and social expertise*. Saint Petersburg: Zolotoy vek; 1998: 232-248. (In Russ.).
13. Ditunno J, Young W, Donovan W, Creasey G. The international standards booklet for neurological and functional classification of spinal cord injury. *Paraplegia*. 1994; 32(2): 70-80. doi: 10.1038/sc.1994.13
14. Kirshblum S, Snider B, Eren F, Guest J. Characterizing natural recovery after traumatic spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2021; 38(9): 1267-1284. doi: 10.1089/neu.2020.7473
15. Hales M, Biros E, Reznik JE. Reliability and validity of the sensory component of the International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury (ISNCSCI): A systematic review. *Top Spinal Cord Inj Rehabil*. 2015; 21(3): 241-249. doi: 10.1310/sci2103-241
16. Mulcahey MJ, Gaughan J, Betz RR, Vogel LC. Rater agreement on the ISNCSCI motor and sensory scores obtained before and after formal training in testing technique. *J Spinal Cord Med*. 2007; 30(1): S146-S149.
17. Prudnikova OG, Kachesova AA, Ryabykh SO. Rehabilitation of patients in late period after spinal cord injury: A meta-analysis of literature data. *Spine Surgery*. 2019; 16(3): 8-16. (In Russ.). doi: 10.14531/ss2019.3.8-16
18. Kramer JK, Taylor P, Steeves JD, Curt A. Dermatoma somatosensory evoked potentials and electrical perception thresholds during recovery from cervical spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair*. 2010; 24(4): 309-317. doi: 10.1177/1545968309348312
19. Macklin RA, Brooke VJ, Calabro FJ, Ellaway PH, Perez MA. Discrepancies between clinical assessments of sensory function and electrical perceptual thresholds after incomplete chronic cervical spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2016; 54(1): 16-23. doi: 10.1038/sc.2015.104
20. Schuld C, Franz S, Brüggemann K, Heutehaus L, Weidner N, Kirshblum SC, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury: Impact of the revised worksheet (revision 02/13) on classification performance. *J Spinal Cord Med*. 2016; 39(5): 504-512. doi: 10.1080/10790268.2016.1180831
21. Marino R, Jones L, Kirshblum S, Tal J, Dasgupta A. Reliability and repeatability of the motor and sensory examination of the international standards for neurological classification of spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 2008; 31(2): 166-170. doi: 10.1080/10790268.2008.11760707
22. Krassioukov A, Wolfe DL, Hsieh JT, Hayes KC, Durham CE. Quantitative sensory testing in patients with incomplete spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 1999; 80(10): 1258-1263. doi: 10.1016/s0003-9993(99)90026-6
23. Nicotra A, Ellaway P. Thermal perception thresholds: Assessing the level of human spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2006; 44(10): 617-624. doi: 10.1038/sj.sc.3101877
24. Savic G, Bergström EMK, Davey NJ, Ellaway PH, Frankel HL, et al. Quantitative sensory tests (perceptual thresholds) in patients with spinal cord injury. *J Rehabil Res Dev*. 2007; 44(1): 77-82. doi: 10.1682/jrrd.2005.08.0137
25. Hubli M, Dietz V. The physiological basis of neurorehabilitation-locomotor training after spinal cord injury. *J Neuroeng Rehabil*. 2013; 10: 5. doi: 10.1186/1743-0003-10-5
26. Ozdemir RA, Perez MA. Afferent input and sensory function after human spinal cord injury. *J Neurophysiol*. 2018; 119(1): 134-144. doi: 10.1152/jn.00354.2017
27. Finnerup NB, Johannesen IL, Bach FW, Jensen TS. Sensory function above lesion level in spinal cord injury patients with and without pain. *Somatosensory Mot Res*. 2003; 20(1): 71-76. doi: 10.1080/0899022031000083843
28. Walsh LD, Moseley GL, Taylor JL, Gandevia SC. Proprioceptive signals contribute to the sense of body ownership. *J Physiol*. 2011; 589(Pt 12): 3009-3021. doi: 10.1113/jphysiol.2011.204941
29. Kirshblum S, Waring W, Biering-Sorensen F, Burns SP, Johansen M, Schmidt-Read M, et al. Reference for the 2011 revision of the International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury. *J Spinal Cord Med*. 2011; 34(6): 547-554. doi: 10.1179/107902611X13186000420242
30. Mucke M, Cuhls C, Radbruch L, Baron R, Maier C, Tölle T, et al. Quantitative sensory testing. *Schmerz*. 2014; 28: 635-648. [In German]. doi: 10.1007/s00482-014-1485-4
31. Mano H, Yoshida W, Shibata K, Zhang S, Koltzenburg M, Kawato M, et al. Thermosensory perceptual learning is associated with structural brain changes in parietal-opercular (SII) cortex. *J Neurosci*. 2017; 37(39): 9380-9388. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1316-17.2017
32. Mohammed H, Hollis ER. 2nd. Cortical reorganization of sensorimotor systems and the role of intracortical circuits after spinal cord injury. *Neurotherapeutics*. 2018; 15(3): 588-603. doi: 10.1007/s13311-018-0638-z
33. Simis M, Camsari DD, Imamura M, Filippo TRM, De Souza DR, Battistella LR, et al. Electroencephalography as a biomarker for functional recovery in spinal cord injury patients. *Front Hum Neurosci*. 2021; 15: 548558. doi: 10.3389/fnhum.2021.548558
34. Dietz V, Fouad K. Restoration of sensorimotor functions after spinal cord injury. *Brain*. 2014; 137(Pt 3): 654-667. doi: 10.1093/brain/awt262
35. Beauparlant J, van den Brand R, Barraud Q, Friedli L, Musienko P, Dietz V, et al. Undirected compensatory plasticity contributes to neuronal dysfunction after severe spinal cord injury. *Brain*. 2013; 136(Pt 11): 3347-3361. doi: 10.1093/brain/awt204
36. Rioult-Pedotti MS, Donoghue JP, Dunaevsky A. Plasticity of the synaptic modification range. *J Neurophysiol*. 2007; 98(6): 3688-3695. doi: 10.1152/jn.00164.2007
37. Bareyre FM, Kerschensteiner M, Raineteau O, Mettenleiter TC, Weinmann O, Schwab ME. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat Neurosci*. 2004; 7(3): 269-277. doi: 10.1038/nn1195
38. Lin CS, Macefield VG, Elam M, Wallin BG, Engel S, Kiernan MC. Axonal changes in spinal cord injured patients distal to the site of injury. *Brain*. 2007; 130(Pt 4): 985-994. doi: 10.1093/brain/awl339
39. Baidurashvili AG, Vissarionov SV, Belianchikov SM, Kartavenko KA, Solokhina IYu, Kozyrev AS, et al. Comprehensive treatment of a patient with complicated thoracic spine injury using percutaneous electrical spinal cord stimulation (case report). *Genij Ortopedii*. 2020; 26(1): 79-88. (In Russ.). doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-1-79-88
40. Pfau DB, Haroun O, Lockwood DN, Maier C, Schmitter M, Vollert J, et al. Mechanical detection and pain thresholds: Comparability of devices using stepped and ramped stimuli. *Pain Rep*. 2020; 5(6): e865. doi: 10.1097/PR9.0000000000000865

Сведения об авторах

Щурова Елена Николаевна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории Клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: elena.shurova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0816-1004>

Прудникова Оксана Германовна — доктор медицинских наук, нейрохирург, травматолог-ортопед, старший научный сотрудник, заведующая травматолого-ортопедическим отделением № 10 Клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: pog6070@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1432-1377>

Качесова Анастасия Анатольевна — аспирант, врач-невролог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: k-an-an@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9065-7388>

Information about authors

Elena N. Shchurova — Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Clinical Laboratory, Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, e-mail: elena.shurova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0816-1004>

Oxana G. Prudnikova — Dr. Sc. (Med.), Neurosurgeon, Traumatologist-Orthopedist, Senior Research Officer, Head of the Traumatology and Orthopedic Department No. 10, Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, e-mail: pog6070@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1432-1377>

Anastasiia A. Kachesova — Postgraduate, Neurologist, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, e-mail: k-an-an@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9065-7388>

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ «МАЛЫХ» МЕТАСТАЗОВ В ХОРИОИДЕУ

Стояхина А.С.,
Юсеф Ю.Н.

ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт глазных болезней» (119021,
г. Москва, ул. Россолимо, 11, корп. А, Б,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Стояхина Алевтина Сергеевна,
e-mail: a.stoyukhina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Мультифокальный рост имеют 23–30 % случаев метастатического поражения хориоидеи. У 10–20 % больных метастазы в хориоидею располагаются эксцентрично и не сопровождаются субъективными жалобами. В этих случаях их выявляют случайно при осмотре. В литературе практически отсутствуют сведения о возможности ранней диагностики «малых» очагов метастатического поражения хориоидеи с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ).

Цель исследования. Выявить диагностические признаки «малых» метастазов в хориоидею.

Материалы и методы. В исследование включены 4 пациентки, у которых «малые» метастазы (15 очагов) не были визуализированы по данным ультразвукового исследования (УЗИ).

Результаты. Хориоидальные метастазы, не выявляемые по данным УЗИ, преимущественно характеризовались мультифокальным характером роста, были расположены преимущественно вне центральных отделов глазного дна. ОКТ-картина в этих случаях характеризовалась расширением хориоидального комплекса до 1300 мкм с асимметричной формой скатов, неровностями его передней поверхности при умеренно гипорефлективной структуре. Целостность мембраны Бруха при этом сохраняется, но характерно нарушение архитектоники хориокапиллярного слоя при ровном профиле передней поверхности склеры. Вторичные изменения надлежащей сетчатки представлены утолщением ретинального пигментного эпителия, отёком фоторецепторного слоя и на уровне ядерных слоёв, при этом отслойка нейроэпителия (ОНЭ) появляется преимущественно при толщине очага более 400 мкм. Первоначально метастатическое поражение хориоидеи можно выявить по данным исследования глазного дна в режиме MultiColor (МС) и ОКТ. По мере появления изменений в надлежащей сетчатке – отёка фоторецепторного слоя с гиперрефлективными включениями и ОНЭ – появляются изменения в картине коротковолновой аутофлюоресценции (BAF, blue-peak autofluorescence): гиперBAF с точечными гипоBAF-включениями, – что приводит к изменению картины глазного дна в режиме МС.

Заключение. Всем пациентам сотягощённым онкологическим анамнезом даже при отсутствии зрительных жалоб, помимо тщательного осмотра глазного дна обоих глаз, необходимо проводить исследование глазного дна в режимах MultiColor и коротковолновой аутофлюоресценции с последующим проведением ОКТ в зонах наличия изменений.

Ключевые слова: метастатическое поражение хориоидеи, оптическая когерентная томография, аутофлюоресценция, MultiColor

Статья поступила: 29.11.2021

Статья принята: 27.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Стояхина А.С., Юсеф Ю.Н. Возможности диагностики «малых» метастазов в хориоидею. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 203-215. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.21

DIAGNOSTIC OF SMALL CHOROIDAL METASTASIS

Stoyukhina A.S.,
Yusef Yu.N.

Research Institute of Eye Diseases
(Rossolimo str. 11A, B, Moscow 119021,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alevtina S. Stoyukhina,
e-mail: a.stoyukhina@yandex.ru

ABSTRACT

Choroidal metastasis in 23–30 % of cases have multifocal growth. In 10–20 % of patients do not have subjective complaints, due to eccentric localization of choroidal metastases. In these cases, they are detected by chance during examination. In the literature there is no information on the possibility of early diagnosis of “small” foci of metastatic lesions of the choroid using optical coherence tomography (OCT).

The aim. To identify diagnostic signs of “small” choroidal metastases.

Materials and methods. The study included 4 patients in whom “small” metastases (15 foci) were not visualized by ultrasound.

Results. Choroidal metastases, which were not detected by ultrasound, mainly characterized by a multifocal growth pattern, and located mainly outside the central regions of the fundus. The OCT picture in these cases was characterized by the expansion of the choroidal complex up to 1300 µm with an asymmetric shape of the slopes, irregularities of its anterior surface with a moderate hyporeflective structure. At the same time, Bruch’s membrane was preserved, but a violation of the architectonics of the choriocapillary layer is characteristic with a flat profile of the anterior surface of the sclera. Secondary changes in the proper retina are represented by thickening of the retinal pigment epithelium, edema of the photoreceptor layer and of the nuclear layers, while neuroepithelium detachment (NED) appears mainly when the focus is more than 400 µm thick. Initially, choroidal metastasis can be detected by the fundus examination in MultiColor and OCT, as changes appear in the retina – edema of the photoreceptor layer with hyperreflective inclusions and NED, changes appear in the blue-peak autofluorescence (BAF) – hyperBAF with point hypoBAF inclusions, which leads to a change fundus pictures in MultiColor mode.

Conclusion. For all patients with a burdened oncological history, even in the absence of visual complaints, in addition to an examination of the fundus of both eyes, it is necessary to provide an examination of the fundus in MultiColor and short-wave autofluorescence modes, followed by OCT in the zones of changes.

Key words: choroidal metastasis, optical coherence tomography, autofluorescence, MultiColor

Received: 29.11.2021
Accepted: 27.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Stoyukhina A.S., Yusef Yu.N. Diagnostic of small choroidal metastasis. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 203-215. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.21

В последние годы отмечен рост метастатических опухолей органа зрения, что, вероятнее всего, обусловлено успехами лечения и увеличением продолжительности жизни больных злокачественными новообразованиями. Частота внутриглазных метастазов составляет 64–67 % от всех метастатических опухолей органа зрения, при этом преимущественно поражается хориоидея (88–90,7 %), реже – радужка и цилиарное тело (соответственно 7,3–9 % и 2 %) [1–4].

В хориоидею чаще всего метастазируют рак молочной железы (до 75 %) и рак лёгкого (до 39,4 %), на опухоли желудочно-кишечного тракта приходится до 4 % случаев [3, 5] и по 2 % – на опухоли предстательной железы, почек и кожи [6, 7]. Установить первичный очаг опухоли не удаётся у 16 % больных [7].

Мультифокальный рост имеют 23–30 % случаев метастатического поражения хориоидеи, чаще всего это наблюдают при раке молочной железы [1, 5, 8]. Билатеральное поражение метастазами хориоидеи имеют 15–31 % больных, чаще всего страдающие раком молочной железы (до 1/3 больных) [2, 4, 8] и раком лёгкого (1/5 всех больных) [1, 9].

В подавляющем большинстве случаев метастазы локализируются в центральных отделах глазного дна (в 80 % – между экватором и макулярной зоной). Зрительные жалобы при этом включают в себя метаморфопсии, нечёткое зрение, снижение остроты и сужение поля зрения. Как показали исследования последних десятилетий, в основном это обусловлено накоплением субретинальной жидкости, отёком и отслойкой сетчатки [2, 10].

Офтальмоскопически очаги метастатического поражения хориоидеи имеют беловато-розовый или желтоватый цвет и нечёткие границы. В ряде случаев наблюдают оранжевый цвет очагов, что более характерно для почечно-клеточного рака, карциноидной опухоли и рака щитовидной железы, или коричнево-серый, что характерно для метастатической меланомы [5–7, 11–13]; при метастазах рака молочной железы встречается окраска по типу «шкур леопарда» [14, 15].

У 10–20 % больных метастазы в хориоидею располагаются эксцентрично и не сопровождаются субъективными жалобами. В этих случаях их выявляют случайно при осмотре [3, 6].

По данным ультразвукового исследования (УЗИ) метастатическое поражение хориоидеи можно выявить в 75 % случаев [16]. УЗ-картина характеризуется достаточно высокой рефлексивностью и акустической негомогенностью, неровной поверхностью очага при незначительной его проминенции [6, 17–19]. Возможно выявление внутриопухолевых полостей [20]. Серозная отслойка сетчатки обычно более выражена, чем в случаях меланом и гемангиом хориоидеи. С учетом мультифокального характера роста метастазов возможно появление нескольких патологических очагов [2, 19].

Отличительным признаком метастатического поражения хориоидеи по данным оптической когерентной томографии (ОКТ) является «комковатый» неровный (“lumpy, bumpy”) профиль поверхности увеличенного хориоидального комплекса [5, 16, 18, 21, 22] с признаками компрессии

и облитерации хориокапилляров [22, 23]. Хориоидальные метастазы характеризуются низкой рефлексивностью и расширением супрахориоидального пространства [24].

В надлежащей сетчатке наряду с высокой протяжённой отслойкой нейроэпителия (ОНЭ) выявляют утолщение комплекса ретинальный пигментный эпителий (РПЭ)/хориокапилляры, интратретинальный отёк и расслоение на уровне наружного ядерного и внутренних слоёв сетчатки, мелкокистозные изменения во внутренних слоях сетчатки [16, 18, 25, 26], а также участки отложения субретинального липофусцина («поля оранжевого пигмента») [16]. Могут быть выявлены участки повреждения мембраны Бруха [15].

Известно, что ОКТ позволяет выявить метастазы хориоидеи на начальном этапе их развития (при проминенции менее 1 мм), до того, как они могут быть выявлены по данным офтальмоскопии и/или УЗИ [16, 23, 27]. Однако в литературе практически отсутствуют сведения о возможности ранней диагностики «малых» (не выявляемых по данным УЗИ, толщина которых, по данным ОКТ, не превышает 1,3 мм) очагов метастатического поражения хориоидеи с помощью ОКТ.

Учитывая изложенное, была сформулирована **цель исследования**: выявить диагностические признаки «малых» метастазов в хориоидею.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 8 пациентов (7 женщин, 1 мужчина). Первичная локализация опухоли: в 5 случаях – рак молочной железы; по 1 случаю – аденокарцинома матки и аденокарцинома сигмовидной кишки. В 1 случае на момент написания статьи первичная опухоль не выявлена, однако по данным позитронно-эмиссионной томографии, совмещённой с компьютерной томографией, выявлено метастатическое поражение лёгких.

Средний возраст на момент выявления метастатического поражения хориоидеи составил $52 \pm 15,64$ года. У 5 пациентов поражение было монолатеральным (в одном глазу – мультифокальные очаги), у 3 больных – билатеральным (в 3 глазах (2 пациента) – мультифокальные очаги).

У 7 пациентов одиночные метастазы были выявлены эхографически (VOLUSON E8 Expert (Kretz, США)). Средняя проминенция – $2,81 \pm 1,24$ мм (1,5–4,8 мм), средний диаметр – $9,05 \pm 2,72$ мм (6,0–12,9 мм). В одном из этих случаев по данным УЗИ выявлен только единичный очаг в макулярной области размером $3,0 \times 6,0$ мм, а выявляемые офтальмоскопически очаги в назальной половине глазного дна при проведении УЗИ не визуализировались (рис. 1). Также в 2 случаях выявляемые офтальмоскопически очаги на парном глазу не были выявлены по данным УЗИ (рис. 2, 3). В 1 случае имело место билатеральное многофокусное поражение (4 очага в правом глазу, 5 очагов – в левом), явившееся случайной находкой и не выявляемое по данным УЗИ (рис. 4, 5). Всего выявлено 15 «скрытых» и 7 выявляемых по данным УЗИ метастазов.

Таким образом, в исследование включены 4 пациентки, у которых «малые» метастазы (15 очагов) не были ви-

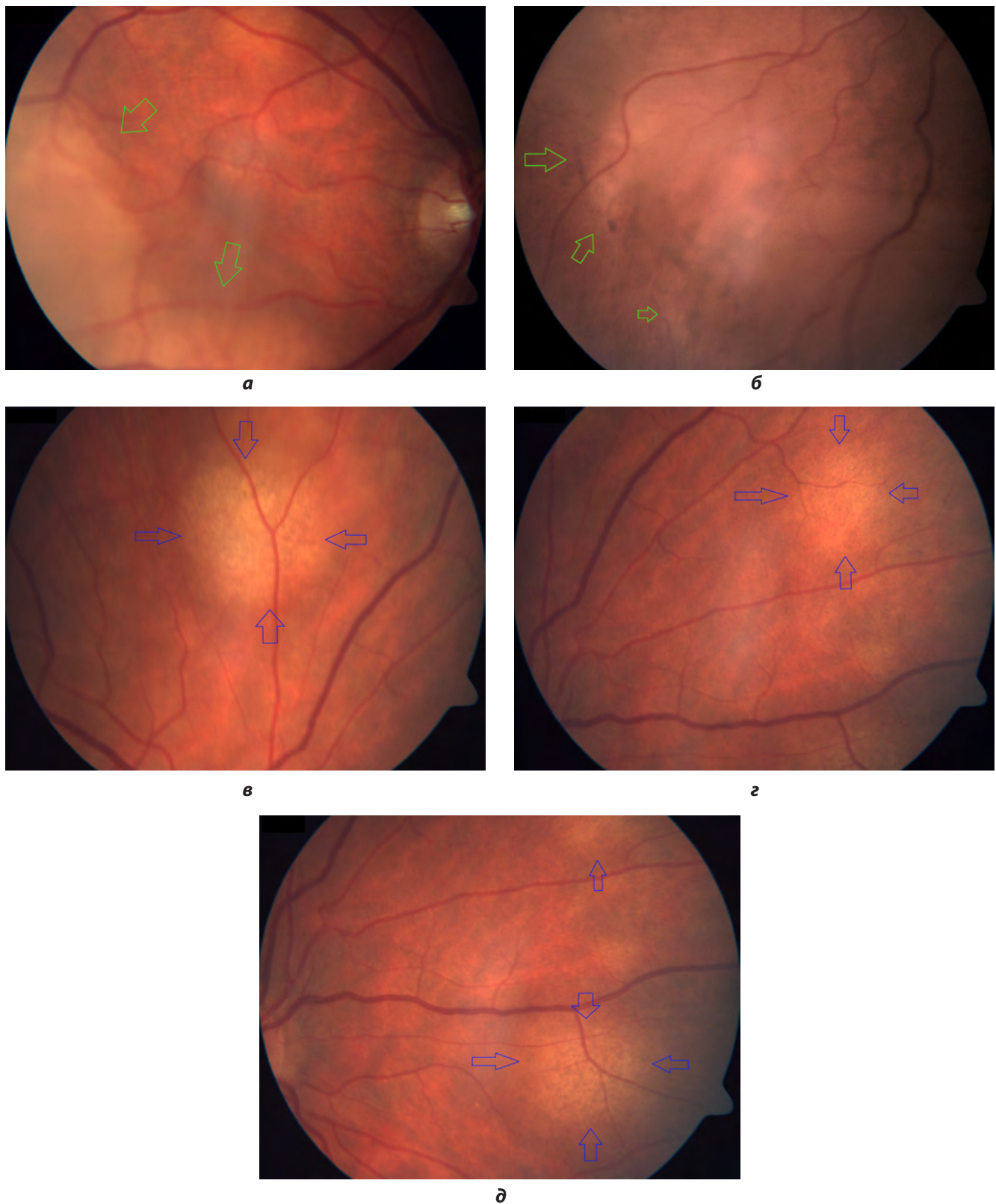


РИС. 1.

Фото глазного дна правого глаза пациентки К., 46 лет:
а – вторичная отслойка сетчатки в макулярной зоне;
б – вторичная отслойка в нижнем квадранте; **в** – очаг в 1,5 ДД сверху от диска зрительного нерва; **г, д** – очаги в назальной половине глазного дна; синие стрелки – очаги метастатического поражения хориоидеи; зелёные стрелки – вторичная отслойка сетчатки

FIG. 1.

Patient K., 46 years old. Photos of the right eye fundus: **a** – retinal detachment in macular zone; **б** – retinal detachment in inferior segment; **в** – lesion in 1,5 pD upper of optic nerve head; **г, д** – lesions in nasal segment; blue arrows – choroidal metastasis; green arrows – secondary retinal detachment

зуализированы по данным УЗИ. В 3 случаях первичная локализация опухоли – молочная железа. В 1 случае на момент написания статьи первичная опухоль не выявлена.

Оптическую когерентную томографию, оптическую когерентную томографию-ангиографию (ОКТ-А), исследование в режиме BluePeak коротковолновой аутофлуоресценции (BAF, blue-peak autofluorescence) и в режиме MultiColor (MC) выполняли на приборе Spectralis (Heidelberg Engineering, Германия); фоторегистрацию глазного дна выполняли на фундус-камере FF 450 plus (Carl Zeiss, Германия).

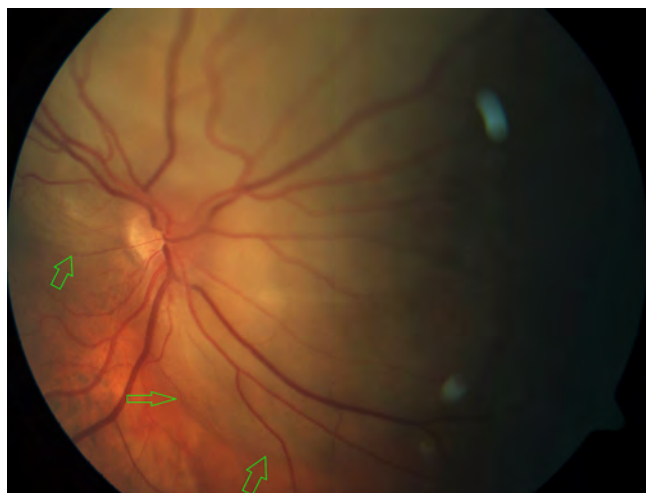


РИС. 2.
Фото глазного дна правого глаза пациентки Л., 57 лет:
стрелки – юкстапапиллярный очаг метастатического поражения хориоидеи

FIG. 2.
Patient L., 57 years. Photo of the right eye fundus: arrows – juxta-papillar choroidal metastasis with secondary retinal detachment

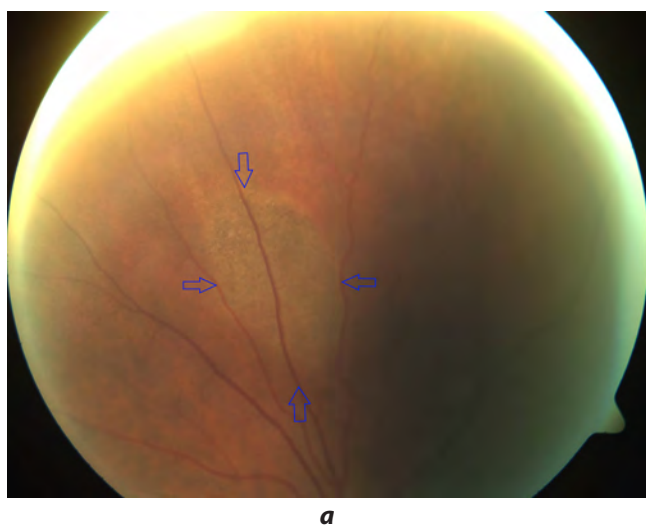


РИС. 3.
Фото глазного дна левого глаза пациентки Л., 57 лет.
а – очаг в 1,5 ДД сверху от диска зрительного нерва; **б** – очаг по ходу нижнетемпоральной аркады; стрелки – очаги метастатического поражения хориоидеи

Хориоидальные метастазы, не выявляемые по данным УЗИ, преимущественно (4 глаза из 5) характеризовались мультифокальным характером роста, были расположены преимущественно вне центральных отделов глазного дна. Офтальмоскопически они представляли собой плоские очаги бело-желтого цвета диаметром до 1,5 ДД с нечёткими границами и «крапчатостью на поверхности» (см. рис. 1в, г, д; рис. 3–5).

ОКТ-картина в этих случаях характеризовалась расширением хориоидального комплекса толщиной от 382 до 1254 мкм в зоне максимальной проминенции. Во всех случаях выявлена асимметрия формы скатов очага с неровностями передней поверхности изменённого хориоидального комплекса. Передняя поверхность склеры визуализирована во всех случаях, профиль ее во всех очагах – ровный. Структура увеличенного хориоидального комплекса также во всех случаях была неравномерной, умеренно гиперрефлективной, возможность визуализации хориокапиллярного слоя в зоне максимальной проминенции очага была нарушена (рис. 6). По краям очагов также были отмечены неровности профиля передней поверхности хориоидеи (рис. 7а). Признаков нарушения целостности мембраны Бруха выявлено не было. Во всех очагах имело место утолщение РПЭ на поверхности очагов. В половине случаев (8 очагов из 15) выявлена ОНЭ по скатам очага, распространяющаяся за его пределы, а отёк фоторецепторного слоя был визуализирован во всех очагах (рис. 6, 7б). Также во всех случаях был отмечен незначительный интратетинальный отёк на уровне ядерных слоёв.

Двум пациенткам была выполнена ОКТ-А в зонах локализации «малых» метастатических очагов: выявлены обеднение сосудистого рисунка и его деформация на уровне внутренних слоёв хориоидеи при полном отсутствии сосудистого сигнала на уровне глубоких слоёв (рис. 8).

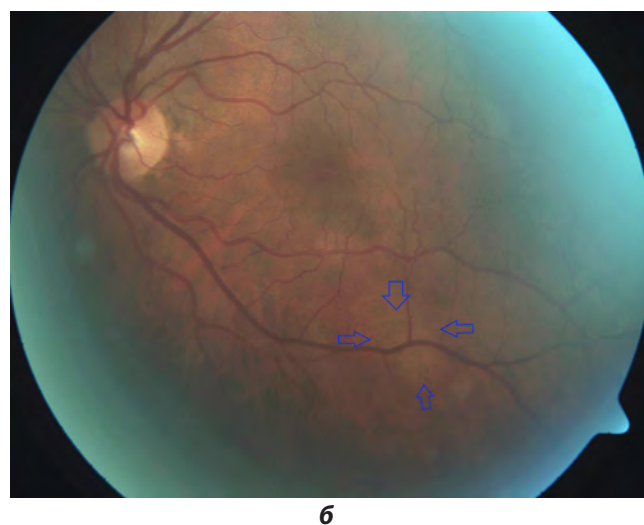


FIG. 3.
Patient L., 57 years old. Photo of the left eye fundus: **а** – lesion in 1,5 pD upper of optic nerve head; **б** – lesion in infratemporal arcade; arrows – choroidal metastasis

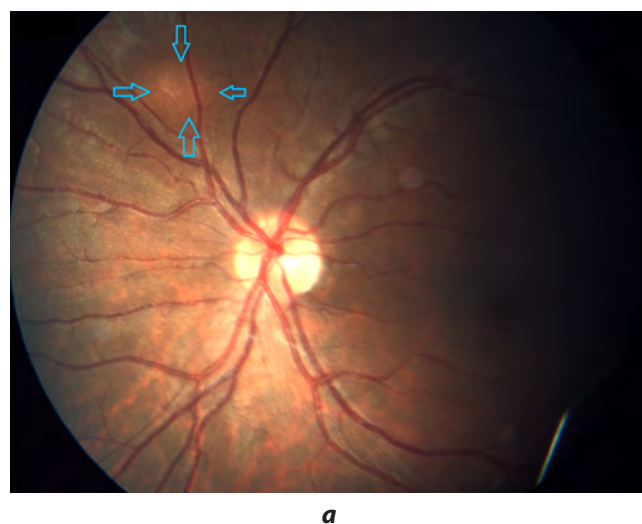


РИС. 4.

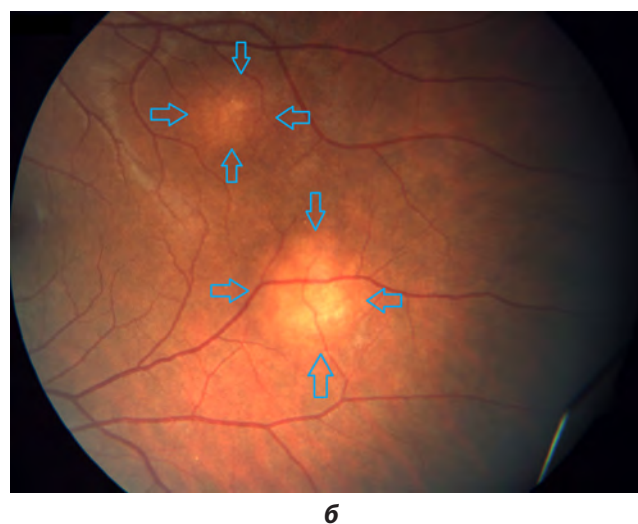
Фото глазного дна правого глаза пациентки Ш., 34 года, на момент обращения к офтальмологу: **а** – перипапиллярный очаг с темпоральной стороны; **б** – перипапиллярный очаг с назальной стороны; **в** – очаги на средней периферии с темпоральной стороны; стрелки – очаги метастатического поражения хориоидеи

FIG. 4.

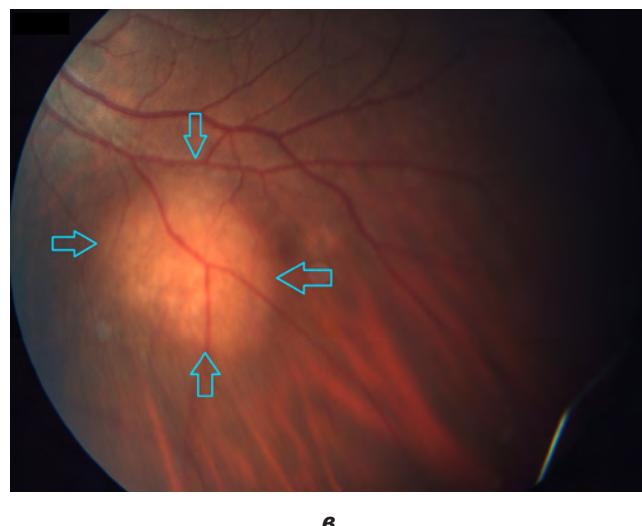
Patient Sh., 34 years old. Photo of the right eye fundus at first visit: **a** – peripapillary (temporal) lesion; **б** – peripapillary (nasal) lesion; **в** – peripheral lesions in temporal region; arrows – choroidal metastasis



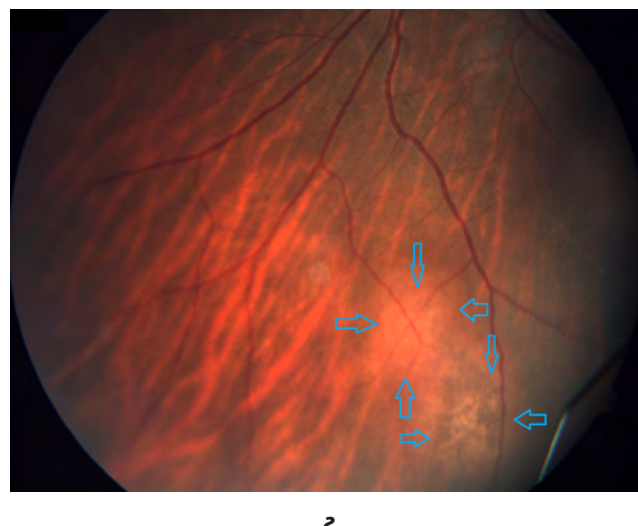
а



б



в



г

РИС. 5.

Фото глазного дна левого глаза пациентки Ш., 34 года, на момент обращения к офтальмологу: **а** – очаг по ходу верхне-назальной аркады; **б** – парамаккулярные очаги; **в** – очаг под нижне-темпоральной аркадой; **г** – очаг на средней периферии снизу; стрелки – очаги метастатического поражения хориоидеи

FIG. 5.

Patient Sh., 34 years old. Photo of the left eye fundus at first visit: **a** – peripapillary lesion; **б** – perimacular lesions; **в** – inferior region lesions; **г** – lesion on the lower middle periphery; arrows – choroidal metastasis

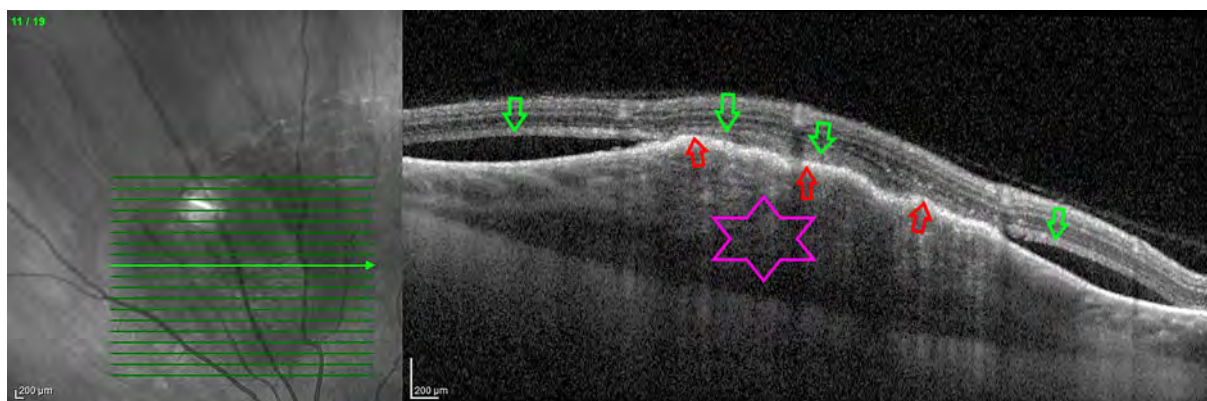
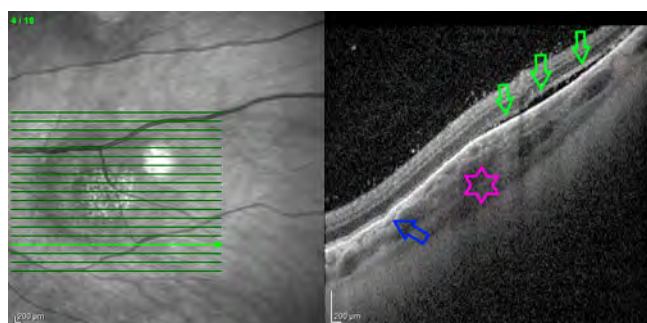


РИС. 6.

ОКТ пациентки Л., 57 лет. Горизонтальный срез через зону максимальной проминенции одного из «малых» очагов: зелёные стрелки – отёк фоторецепторного слоя; красные стрелки – зона гиперрефлективного утолщения РПЭ; звёздочка – элевация хориоидального комплекса с бугристой внутренней поверхностью и нарушением визуализации хориокапиллярного слоя

FIG. 6.

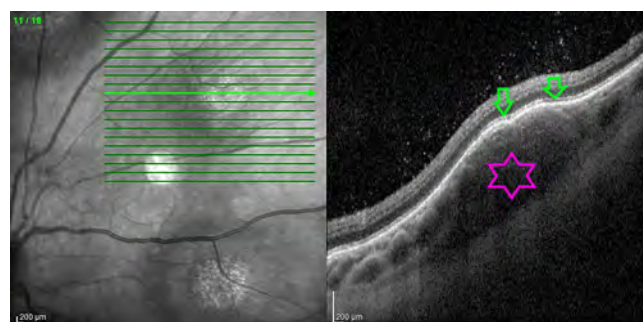
Patient L., 57 years old. OCT, horizontal scan through the zone of maximum prominence of one of the "small" lesions: green arrows – photoreceptor layer edema; red arrows – the zone of hyperreflective thickening of the retinal pigment epithelium; star – choroidal complex elevation with a tuberosity inner surface and impaired visualization of the choriocapillary layer



а

РИС. 7.

ОКТ пациентки К., 46 лет. Горизонтальный срез через нижний край «малого» очага с ОНЭ (а) и горизонтальный срез через зону максимальной проминенции «малого» очага без ОНЭ (б): зелёные стрелки – отёк фоторецепторного слоя; звёздочка – элевация хориоидального комплекса с бугристой внутренней поверхностью, в том числе по краю очага (синяя стрелка)



б

FIG. 7.

Patient K., 46 years old. OCT, horizontal scan through the lower edge of the "small" lesion with neuroepithelium detachment (а) and horizontal scan through the zone of maximum prominence of the "small" lesion without neuroepithelium detachment (б): green arrows – photoreceptor layer edema; star – choroidal complex elevation with a tuberosity inner surface, including along the edge of the lesion (blue arrow)

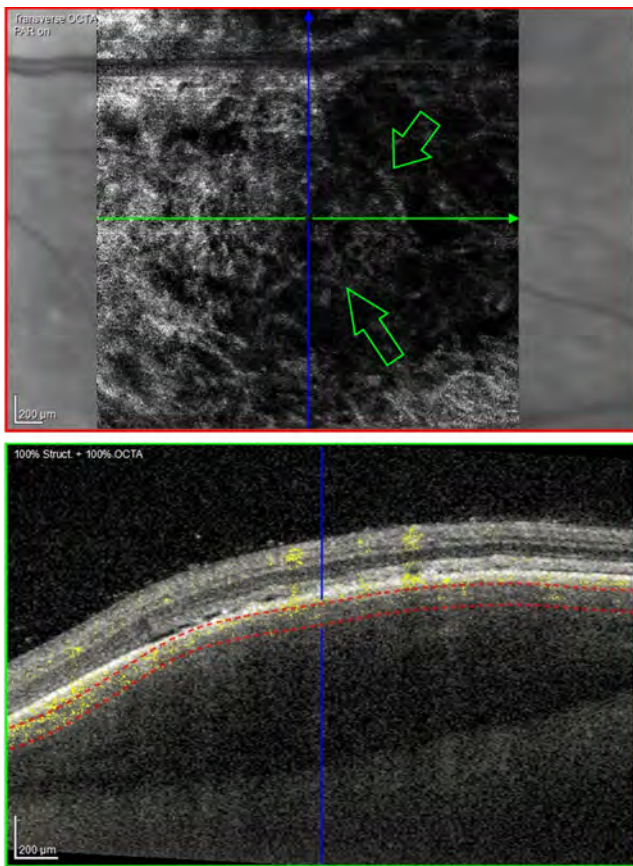
По данным литературы известно, что аутофлюоресценция при хориоидальных метастазах характеризуется поверхностными изменениями, в том числе и по краю опухоли [28, 29], и, по мнению Т. Ishida, может рассцениваться как «инвертированный» паттерн флуоресцентной ангиографии глаза [30]. Ранее нами было высказано предположение, что комбинацию гипо- или гипер-аутофлюоресцентных паттернов можно рассценивать как показатель давности существования метастатического очага [31].

Исследование глазного дна в режиме коротковолновой аутофлюоресценции было выполнено 3 пациенткам (6 очагов). Очаги, не выявляемые по данным УЗИ, в двух глазах (5 очагов) были представлены зонами гиперВAF, соответствующими ОНЭ и/или выра-

женному отёку фоторецепторного слоя по данным ОКТ (рис. 9а).

При исследовании в режиме МС эти очаги имели жёлто-зелёную окраску, гиперрефлективный характер на изображениях, полученных от всех трёх лазеров. На изображении в инфракрасном отражённом свете в очагах проявлялись множественные точечные гипорефлективные включения, которые соответствовали точечным гиперрефлективным включениям на уровне отёчного фоторецепторного слоя (рис. 9б–е).

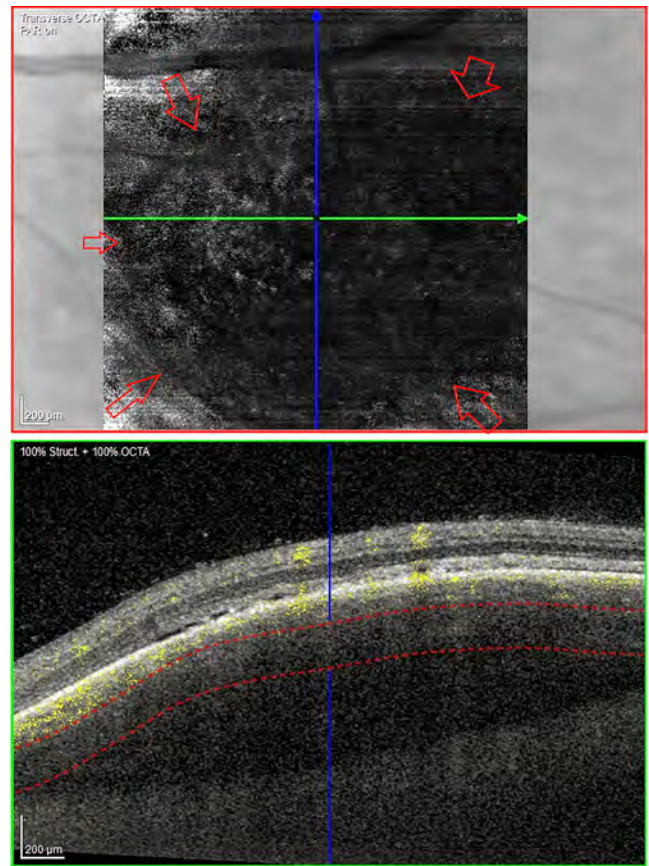
В одном глазу единичный очаг, с трудом выявляемый офтальмоскопически, при исследовании ВAF выявлен не был. Следует отметить, что ОНЭ на поверхности очага отсутствовала (рис. 10а–в). На МС-изображении данный очаг имел зелёную окраску, на изображении в ин-



a

РИС. 8.

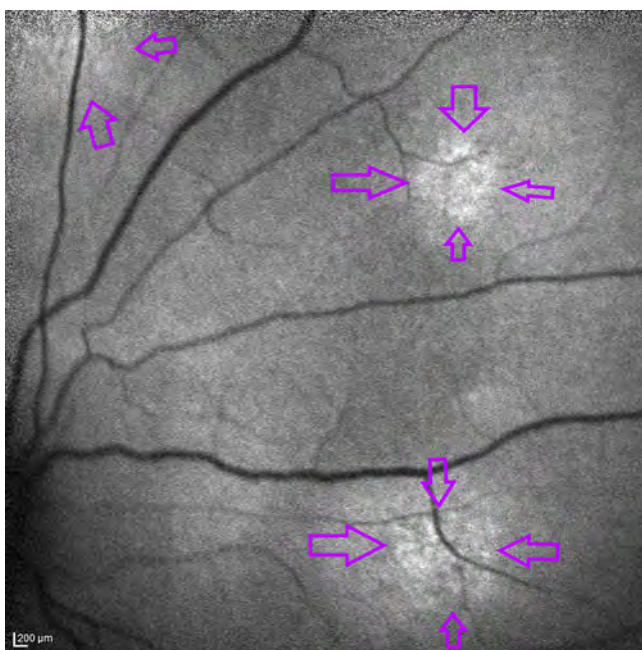
ОКТ-А пациентки К., 46 лет. Сегментация на уровне поверхностных (а) и глубоких (б) слоёв хориоидеи: зелёные стрелки – деформация сосудистого рисунка; красные стрелки – границы зоны отсутствия сосудистого рисунка



б

FIG. 8.

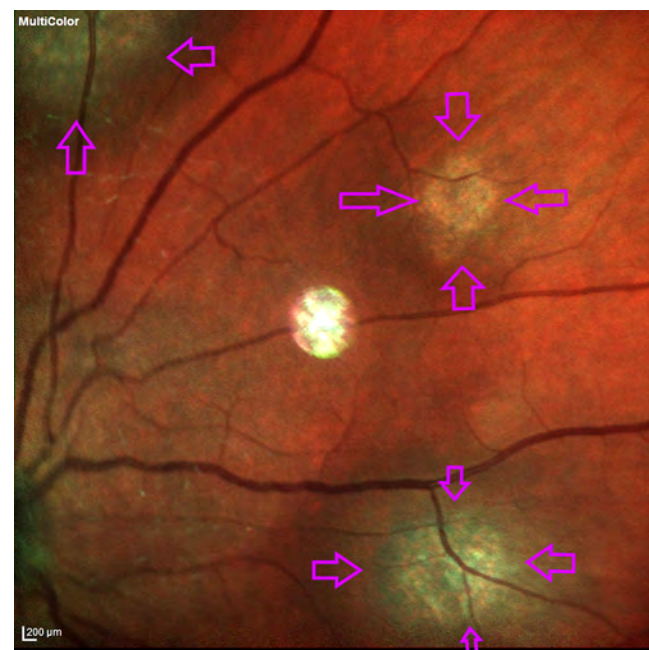
Patient K., 46 years old. OCT-A, segmentation at the level of superficial (a) and deep (б) choroidal layers: green arrows – deformation of the vascular pattern; red arrows – borders of the zone of absence of vascular pattern



a

РИС. 9.

Пациентка К., 46 лет. Исследование в режиме BAF (а) и MC (б). Фиолетовые стрелки – очаги



б

FIG. 9.

Patient K., 46 years old. Fundus examination in BAF (а) and MC (б) modes. Purple arrows – lesions

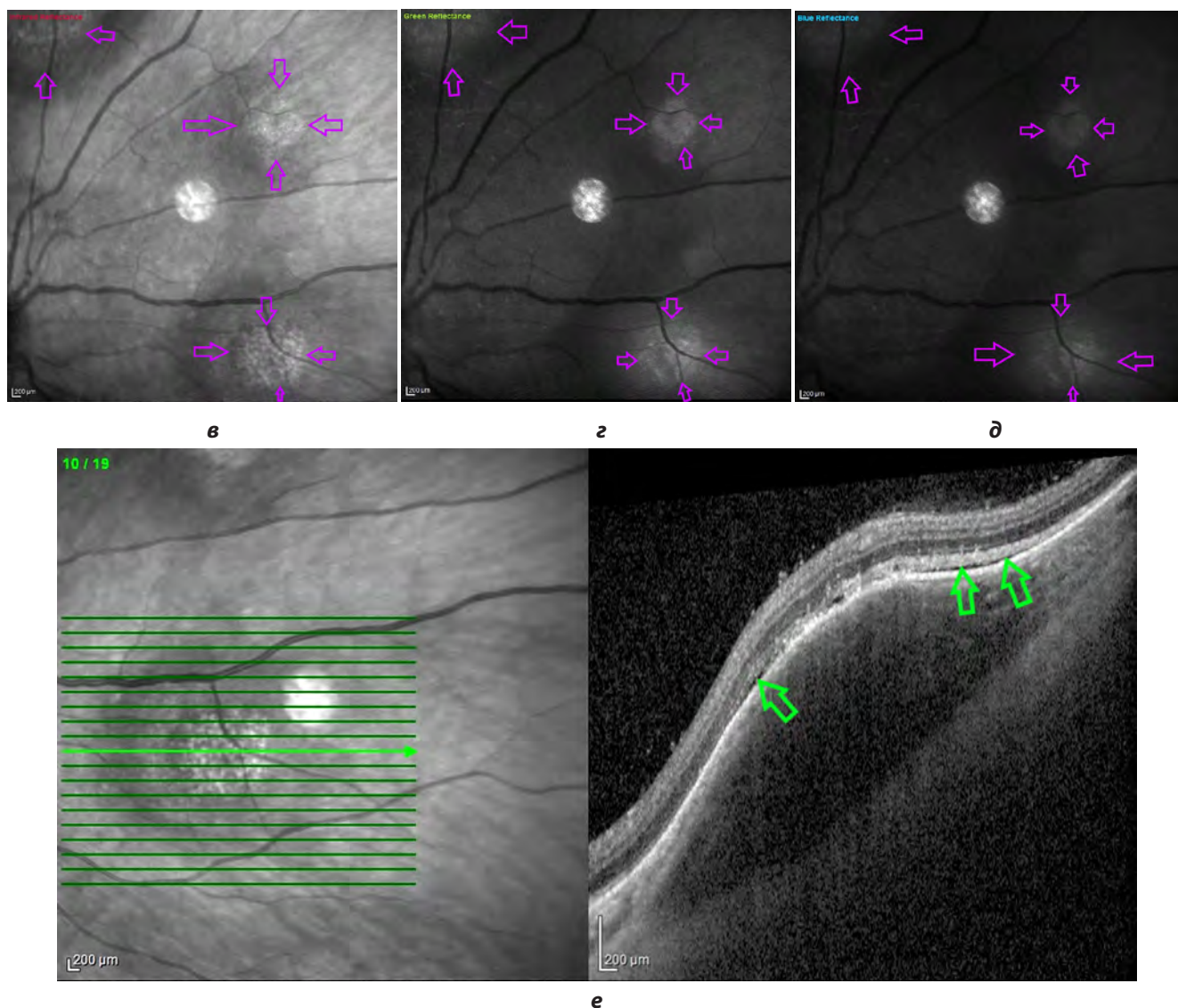


РИС. 9. (продолжение)

Пациентка К., 46 лет. Исследование в режиме BAF и MC с анализом изображений в инфракрасном (а), зелёном (z) и синем (d) отражённом свете и ОКТ – горизонтальный срез через центр очага (e). Фиолетовые стрелки – очаги; зелёные стрелки – щелевидная ОНЭ с отёком фоторецепторного слоя

FIG. 9. (continued)

Patient K., 46 years old. Fundus examination in BAF and MC modes with image analysis in infrared (a), green (z) and blue (d) reflected light and OCT – horizontal scan through the center of the lesion (e). Purple arrows – lesions; green arrows – slit-like NED with photoreceptor layer edema

фрактасном отражённом свете был гипорефлективным, в зелёном – гиперрефлективным (рис. 10г–ж), что соответствует картине, описанной для беспигментных поражений хориоидеи [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что томографическими признаками «малых» хориоидальных метастазов являются начальные изменения в хориоидеи, представленные малым (до 1,3 мм) расширением хориоидального комплекса с асимметричной формой скатов, неровностями его передней поверхности при умеренной гипорефлективной струк-

туре. Целостность мембраны Бруха при этом сохраняется, но характерно нарушение архитектоники хориокапиллярного слоя при ровном профиле передней поверхности склеры. Вторичные изменения надлежащей сетчатки представлены утолщением РПЭ, отёком фоторецепторного слоя и на уровне ядерных слоев, при этом ОНЭ появляется преимущественно при толщине очага более 400 мкм.

Описанные нами изменения подтверждают мнение S.A. Al-Dahmash et al., подчеркнувших начало роста метастазов в хориоидеи и именно в хориокапиллярном слое [23], а описанные вторичные изменения в сетчатке являются свидетельством их быстрого роста.

Таким образом, первоначально метастатическое поражение хориоидеи можно выявить по данным исследова-

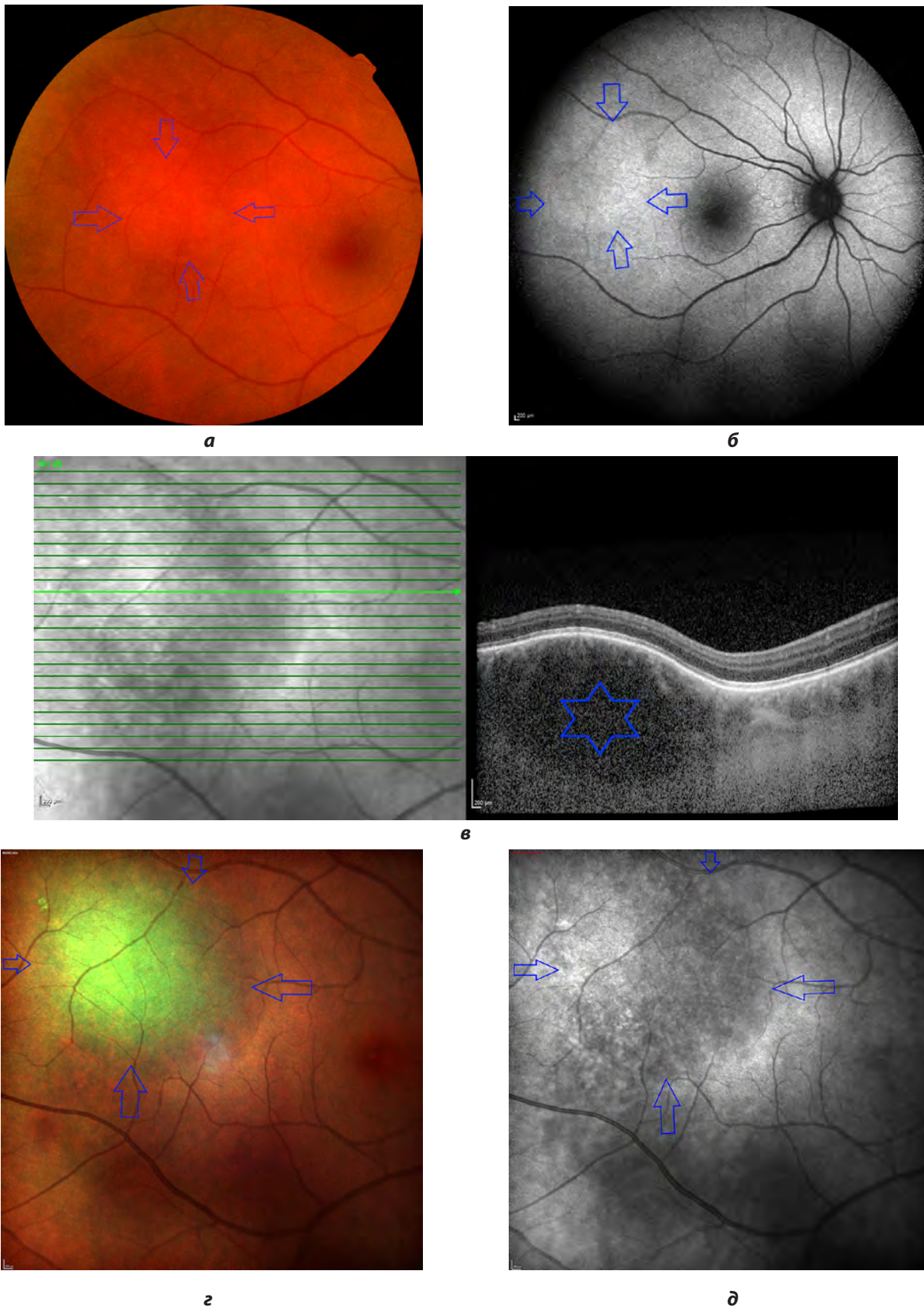
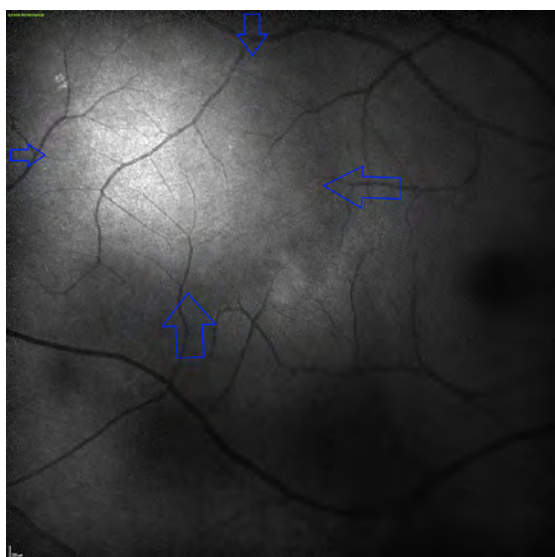


РИС. 10.

Пациентка О., 63 лет: **а** – фото глазного дна; **б** – исследование в режиме BAF; **в** – ОКТ, горизонтальный срез через центр очага; **г** – исследование в режиме МС с анализом изображений в инфракрасном (**д**). Стрелки – границы очага; звёздочка – очаг на снимке ОКТ

FIG. 10.

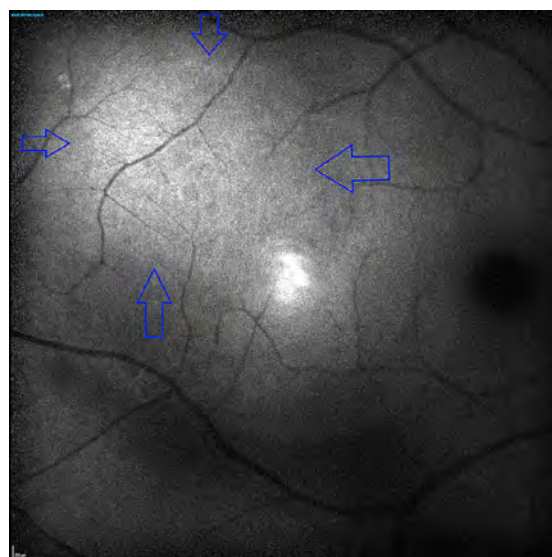
Patient O., 63 years old: **а** – fundus photo; **б** – fundus examination in BAF; **в** – OCT, horizontal scan through the center of the lesion; **г** – fundus examination in MC with image analysis in infrared (**д**). Arrows – lesion borders; star – lesion in the OCT image



е

РИС. 10. (продолжение)

Пациентка О., 63 лет: исследование в режиме МС с анализом изображений в зелёном (е) и синем (ж) отражённом свете. Стрелки – границы очага



ж

FIG. 10. (continued)

Patient O., 63 years old: fundus examination in MC with image analysis in green (e) and blue (j) reflected light. Arrows – lesion borders

ния глазного дна в режиме МС и по данным ОКТ. По мере появления изменений в надлежащей сетчатке – отёк фоторецепторного слоя с гиперрефлективными включениями и ОНЭ – появляются изменения в картине ВАФ: гиперВАФ с точечными гипоВАФ-включениями, – что приводит к изменению картины глазного дна в режиме МС.

Таким образом, всем пациентам с отягощённым онкологическим анамнезом даже при отсутствии зрительных жалоб, помимо тщательного осмотра глазного дна обоих глаз, необходимо проводить исследование глазного дна в режимах MultiColor и коротковолновой аутофлуоресценции с последующим проведением ОКТ в зонах наличия изменений.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование проведено без спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Damato B. *Ocular tumors: Diagnosis and treatment*. Oxford: Butterworth-Heinemann; 2000.
2. Бровкина А.Ф. (ред.). *Офтальмоонкология: Руководство для врачей*. М.: Медицина; 2002.
3. Гришина Е.Е. Метастатическое поражение органа зрения. РМЖ. *Клиническая офтальмология*. 2001; 2(1): 15-18.
4. Namad T, Wang J, Tilton A, Karim NA, Mauri FA. Case report. Bilateral choroidal metastasis from non-small cell lung cancer. *Case Rep Oncol Med*. 2014; 2014: 858265. doi: 10.1155/2014/858265

5. Arepalli S, Kaliki S, Shields CL. Choroidal metastases: Origin, features, and therapy. *Indian J Ophthalmol*. 2015; 63(2): 122-127. doi: 10.4103/0301-4738.154380

6. Mathis T, Jardel P, Loria O, Delaunay O, Nguyen A-M, Lanza F, et al. New concepts in the diagnosis and management of choroidal metastases. *Prog Retin Eye Res*. 2019; 68: 144-176. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.09.003

7. Shields C, Welch R, Malik K, Acaba-Berrocal LA, Selzer EB, Newman JH, et al. Uveal metastasis: Clinical features and survival outcome of 2214 tumors in 1111 patients based on primary tumor origin. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2018; 25(2): 81-90. doi: 10.4103/meajo.MEAJO_6_18

8. Walls G, Napier S, Stewart D. Visual impairment due to bilateral multifocal choroidal metastasis of parotid adenocarcinoma: A case report. *Front Oncol*. 2014; 4: 136. doi: 10.3389/fonc.2014.00136

9. Ergenc H, Onmez A, Oymak E, Tanriseven R, Celik E, Onmez FE, et al. Bilateral choroidal metastases from lung adenocarcinoma: A case report. *Case Rep Oncol*. 2016; 9(3): 530-536. doi: 10.1159/000449154

10. Chebil A, Baroudi B, Chaker N, Gheribi H, El Matri L. Bilateral exudative retinal detachment secondary to bilateral choroidal metastasis of breast cancer. *Tunis Med*. 2015; 93(4): 270-271.

11. Krema H, McGowan H, Tanzer H, Simpson R, Laperriere N. Unusual orange-colored choroidal metastases. *J Ophthalmic Vis Res*. 2013; 8(1): 53-57.

12. Belfort RN, Müller MS, Isenberg J, Ferraz P, Szejnfeld D. Metastatic choroidal melanoma to the contralateral eye: A rare case. *Arq Bras Oftalmol*. 2018; 81(6): 517-519. doi: 10.5935/0004-2749.20180099

13. Мякошина Е.Б. Начальная меланома хориоидеи и псевдомеланомы: методы дифференциальной диагностики. Часть 1. Офтальмоскопия. *Российский офтальмологический журнал*. 2019; 12(4): 99-108. doi: 10.21516/2072-0076-2019-12-4-99-108

14. Saxena S, Jain A, Akduman L. Three-dimensional spectral domain optical coherence tomography of retina in choroidal metastasis due to breast and lung carcinoma. *J Ocul Biol Dis Infor.* 2012; 5(1): 9-12. doi: 10.1007/s12177-012-9092-z
15. Ishida T, Morohoshi K, Takeuchi Y, Soma R, Uchida M, Ohno-Matsui K. Swept-source optical coherence tomographic findings in eyes with metastatic choroidal tumor. *Am J Ophthalmol Case Reports.* 2017; 8: 44-47. doi: 10.1016/j.jajoc.2017.10.005
16. Demirci H, Cullen A, Sundstrom JM. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of choroidal metastasis. *Retina.* 2014; 34(7): 1354-1359. doi: 10.1097/IAE.000000000000083
17. Нероев В.В., Саакян С.В., Амирян А.Г., Пармон Я.В., Кружкова Г.В. Дифференциально-диагностические критерии увеальной меланомы и метастатических опухолей хориоидеи по данным комплексного высокочастотного ультразвукового сканирования. *Российский офтальмологический журнал.* 2015; 8(2): 5-13.
18. Vishnevskia-Dai V, Zur D, Yaacobi S, Moroz I, Newman H, Neudorfer M. Optical coherence tomography: An adjunctive tool for differentiating between choroidal melanoma and metastasis. *J Ophthalmol.* 2016; 2016: 9803547. doi: 10.1155/2016/9803547
19. Turell M, Hayden B, Schoenfield L, Singh A. Intraocular tumors. In: Singh A, Hayden B (eds). *Ophthalmic ultrasonography*; 1st ed. Elsevier; 2012: 155-179.
20. Ayres B, McClendon T, Demirci H. Cavitory choroidal metastasis from clear cell renal cell carcinoma. *Optom Vis Sci.* 2017; 94(8): 851-853. doi: 10.1097/OPX.0000000000001097
21. Нероев В.В., Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Юровская Н.Н., Рябина М.В., Пармон Я.В. Классификация опухоле-ассоциированных изменений при увеальных новообразованиях. *Российский офтальмологический журнал.* 2010; 3(4): 25-32.
22. Саакян С.В., Мякошина Е.Б. Оценка эффективности лечения метастатической карциномы хориоидеи с помощью спектральной оптической когерентной томографии. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина.* 2017; 28(3-4): 54-61.
23. Al-Dahmash SA, Shields CL, Kaliki S, Johnson T, Shields JA. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of choroidal metastasis in 14 eyes. *Retina.* 2014; 34(8): 1588-1593. doi: 10.1097/IAE.0000000000000131
24. Cennamo G, Romano MR, Breve MA, Velotti N, Reibaldi M, de Crecchio G et al. Evaluation of choroidal tumors with optical coherence tomography: Enhanced depth imaging and OCT-angiography features. *Eye.* 2017; 31(6): 906-915. doi: 10.1038/eye.2017.14
25. Arevalo JF, Fernandez CF, Garcia RA. Optical coherence tomography characteristics of choroidal metastasis. *Ophthalmology.* 2005; 112(9): 1612-1619. doi: 10.1016/j.ophtha.2005.03.030
26. Saxena S, Jain A, Ramindar Sharma S, Meyer CH. Three-dimensional spectral domain optical coherence tomography of retina in choroidal metastasis due to uterine endometrial carcinoma. *BMJ Case Rep.* 2012; 2012: bcr2012006599. doi: 10.1136/bcr-2012-006599
27. Witkin AJ, Fischer DH, Shields CL, Reichstein D, Shields JA. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography of a subtle choroidal metastasis. *Eye (Lond).* 2012; 26(12): 1598-1599. doi: 10.1038/eye.2012.201
28. Collet LC, Pulido JS, Gündüz K, Diago T, McCannel C, Blodi C, et al. Fundus autofluorescence in choroidal metastatic lesions a pilot study. *Retina.* 2008; 28(9): 1251-1256. doi: 10.1097/IAE.0b013e318188c7d0

29. Natesh S, Chin KJ, Finger PT. Choroidal metastases fundus autofluorescence imaging: Correlation to clinical, OCT, and fluorescein angiographic findings. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2010; 41(4): 406-412. doi: 10.3928/15428877-20100426-03
30. Ishida T, Ohno-Matsui K, Kaneko Y, Tobita H, Hayashi K, Shimada N, et al. Autofluorescence of metastatic choroidal tumor. *Int Ophthalmol.* 2009; 29(4): 309-313. doi: 10.1007/s10792-008-9234-2
31. Стоюхина А.С., Мусаткина И.В. Диагностика хориоидальных метастазов. *Вестник офтальмологии.* 2016; 132(3): 66-81.
32. Muftuoglu IK, Gaber R, Bartsch D-U, Meshi A, Goldbaum M, Freeman WR. Comparison of conventional color fundus photography and multicolor imaging in choroidal or retinal lesions. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2018; 256(4): 643-649. doi: 10.1007/s00417-017-3884-6

REFERENCES

1. Damato B. *Ocular tumors: Diagnosis and treatment.* Oxford: Butterworth-Heinemann; 2000.
2. Brovkina AF (ed.). *Ophthalmic oncology: A guide for physicians.* Moscow: Meditsina; 2002. (In Russ.).
3. Grishina EE. Metastatic lesion of the eye. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology.* 2001; 2(1): 15-18. (In Russ.).
4. Namad T, Wang J, Tilton A, Karim NA, Mauri FA. Case report. Bilateral choroidal metastasis from non-small cell lung cancer. *Case Rep Oncol Med.* 2014; 2014: 858265. doi: 10.1155/2014/858265
5. Arepalli S, Kaliki S, Shields CL. Choroidal metastases: Origin, features, and therapy. *Indian J Ophthalmol.* 2015; 63(2): 122-127. doi: 10.4103/0301-4738.154380
6. Mathis T, Jardel P, Loria O, Delaunay O, Nguyen A-M, Lanza F, et al. New concepts in the diagnosis and management of choroidal metastases. *Prog Retin Eye Res.* 2019; 68: 144-176. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.09.003
7. Shields C, Welch R, Malik K, Acaba-Berrocá LA, Selzer EB, Newman JH, et al. Uveal metastasis: Clinical features and survival outcome of 2214 tumors in 1111 patients based on primary tumor origin. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2018; 25(2): 81-90. doi: 10.4103/meajo.MEAJO_6_18
8. Walls G, Napier S, Stewart D. Visual impairment due to bilateral multifocal choroidal metastasis of parotid adenocarcinoma: A case report. *Front Oncol.* 2014; 4: 136. doi: 10.3389/fonc.2014.00136
9. Ergenc H, Onmez A, Oymak E, Tanriseven R, Celik E, Onmez FE, et al. Bilateral choroidal metastases from lung adenocarcinoma: A case report. *Case Rep Oncol.* 2016; 9(3): 530-536. doi: 10.1159/000449154
10. Chebil A, Baroudi B, Chaker N, Gheribi H, El Matri L. Bilateral exudative retinal detachment secondary to bilateral choroidal metastasis of breast cancer. *Tunis Med.* 2015; 93(4): 270-271.
11. Krema H, McGowan H, Tanzer H, Simpson R, Laperriere N. Unusual orange-colored choroidal metastases. *J Ophthalmic Vis Res.* 2013; 8(1): 53-57.
12. Belfort RN, Müller MS, Isenberg J, Ferraz P, Szejnfeld D. Metastatic choroidal melanoma to the contralateral eye: A rare case. *Arq Bras Oftalmol.* 2018; 81(6): 517-519. doi: 10.5935/0004-2749.20180099
13. Myakoshina EB. Small choroidal melanoma and pseudomelanomas: Methods of differential diagnostics. Part 1. *Rus-*

sian Ophthalmological Journal. 2019; 12(4): 99-108. (In Russ.). doi: 10.21516/2072-0076-2019-12-4-99-108

14. Saxena S, Jain A, Akduman L. Three-dimensional spectral domain optical coherence tomography of retina in choroidal metastasis due to breast and lung carcinoma. *J Ocul Biol Dis Infor*. 2012; 5(1): 9-12. doi: 10.1007/s12177-012-9092-z

15. Ishida T, Morohoshi K, Takeuchi Y, Soma R, Uchida M, Ohno-Matsui K. Swept-source optical coherence tomographic findings in eyes with metastatic choroidal tumor. *Am J Ophthalmol Case Reports*. 2017; 8: 44-47. doi: 10.1016/j.ajoc.2017.10.005

16. Demirci H, Cullen A, Sundstrom JM. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of choroidal metastasis. *Retina*. 2014; 34(7): 1354-1359. doi: 10.1097/IAE.0000000000000083

17. Neroev VV, Saakyan SV, Amiryani AG, Parmon YaP, Kruzhkova GV. Differential diagnostic criteria of uveal melanoma and choroidal metastases according to complex high frequency ultrasonography. *Russian Ophthalmological Journal*. 2015; 8(2): 5-13. (In Russ.).

18. Vishnevskia-Dai V, Zur D, Yaacobi S, Moroz I, Newman H, Neudorfer M. Optical coherence tomography: An adjunctive tool for differentiating between choroidal melanoma and metastasis. *J Ophthalmol*. 2016; 2016: 9803547. doi: 10.1155/2016/9803547

19. Turell M, Hayden B, Schoenfeld L, Singh A. Intraocular tumors. In: Singh A, Hayden B (eds). *Ophthalmic ultrasonography*; 1st ed. Elsevier; 2012: 155-179.

20. Ayres B, McClendon T, Demirci H. Cavitary choroidal metastasis from clear cell renal cell carcinoma. *Optom Vis Sci*. 2017; 94(8): 851-853. doi: 10.1097/OPX.0000000000001097

21. Neroev VV, Saakyan SV, Myakoshina EB, Jurovskaya NN, Ryabina MV, Parmon YaV. A classification of retinal tumor-associated changes caused by uveal tumors. *Russian Ophthalmological Journal*. 2010; 3(4): 25-32. (In Russ.).

22. Saakyan SV, Myakoshina EB. Evaluation of the efficiency of choroidal metastatic carcinoma treatment using spectralis optical coherence tomography. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center*. 2017; 28(3-4): 54-61. (In Russ.).

23. Al-Dahmash SA, Shields CL, Kaliki S, Johnson T, Shields JA. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of cho-

roidal metastasis in 14 eyes. *Retina*. 2014; 34(8): 1588-1593. doi: 10.1097/IAE.0000000000000131

24. Cennamo G, Romano MR, Breve MA, Velotti N, Reibaldi M, de Crecchio G et al. Evaluation of choroidal tumors with optical coherence tomography: Enhanced depth imaging and OCT-angiography features. *Eye*. 2017; 31(6): 906-915. doi: 10.1038/eye.2017.14

25. Arevalo JF, Fernandez CF, Garcia RA. Optical coherence tomography characteristics of choroidal metastasis. *Ophthalmology*. 2005; 112(9): 1612-1619. doi: 10.1016/j.ophtha.2005.03.030

26. Saxena S, Jain A, Ramindar Sharma S, Meyer CH. Three-dimensional spectral domain optical coherence tomography of retina in choroidal metastasis due to uterine endometrial carcinoma. *BMJ Case Rep*. 2012; 2012: bcr2012006599. doi: 10.1136/bcr-2012-006599

27. Witkin AJ, Fischer DH, Shields CL, Reichstein D, Shields JA. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography of a subtle choroidal metastasis. *Eye (Lond)*. 2012; 26(12): 1598-1599. doi: 10.1038/eye.2012.201

28. Collet LC, Pulido JS, Gündüz K, Diago T, McCannel C, Blodi C, et al. Fundus autofluorescence in choroidal metastatic lesions a pilot study. *Retina*. 2008; 28(9): 1251-1256. doi: 10.1097/IAE.0b013e318188c7d0

29. Natesh S, Chin KJ, Finger PT. Choroidal metastases fundus autofluorescence imaging: Correlation to clinical, OCT, and fluorescein angiographic findings. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2010; 41(4): 406-412. doi: 10.3928/15428877-20100426-03

30. Ishida T, Ohno-Matsui K, Kaneko Y, Tobita H, Hayashi K, Shimada N, et al. Autofluorescence of metastatic choroidal tumor. *Int Ophthalmol*. 2009; 29(4): 309-313. doi: 10.1007/s10792-008-9234-2

31. Stoiukhina AS, Musatkina IV. Diagnostic approach to choroidal metastases. *Vestnik oftalmologii*. 2016; 132(3): 66-81. (In Russ.).

32. Muftuoglu IK, Gaber R, Bartsch D-U, Meshi A, Goldbaum M, Freeman WR. Comparison of conventional color fundus photography and multicolor imaging in choroidal or retinal lesions. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018; 256(4): 643-649. doi: 10.1007/s00417-017-3884-6

Сведения об авторах

Стоюхина Алевтина Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», e-mail: a.stoyukhina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4517-0324>

Юсеф Юсеф Наум – доктор медицинских наук, директор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», <https://orcid.org/0000-0003-4043-456X>

Information about the authors

Alevtina S. Stoyukhina – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of Retina and Optic Nerve Pathology, Research Institute of Eye Diseases, e-mail: a.stoyukhina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4517-0324>

Yusef N. Yusef – Dr. Sc. (Med.), Director, Research Institute of Eye Diseases, <https://orcid.org/0000-0003-4043-456X>

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

ОПЫТ ПЕРЕЖИВАНИЯ ЖЕНЩИНАМИ СИТУАЦИИ РАЗВОДА

Тихомирова Е.В.,
Самохвалова А.Г.,
Хазова С.А.,
Сапоровская М.В.,
Чичерина Д.А.

ФГБОУ ВО Костромской государственный
университет (156005, г. Кострома,
ул. Дзержинского, 17, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тихомирова Елена Викторовна,
e-mail: tichomirowa82@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Статья посвящена проблеме изучения опыта переживания женщинами ситуации развода на разных этапах бракоразводного и постразводного периода.

Методы. Исследование выполнено на стыке идиографического и номотетического подходов. На первом этапе описывается специфика опыта переживания развода в онлайн-пространстве, выявленная посредством интерпретативно-феноменологического анализа контента закрытого интернет-форума ($n = 297$). На втором – специфика эмоционального восприятия, когнитивной оценки и совладания с ситуацией развода в зависимости от постразводного стажа ($n = 50$).

Результаты. Переживание женщинами развода сопровождается амбивалентными эмоциями, активизирует осмысление ситуации и совладание с ней. Онлайн-коммуникация – эффективная стратегия, ориентированная на получение поддержки, самоизменение, конструирование будущего, позволяет пережить чувство общности жизненной ситуации при сохранении психологической безопасности. Оценка ситуации развода и копинг-стратегии специфичны: женщины, пережившие развод менее 3 лет назад, чаще обращаются за социальной поддержкой; женщины, пережившие развод от 3 до 10 лет назад, предпочитают стратегию «бегство-избегание»; женщины, пережившие развод более 10 лет назад, – «положительную переоценку».

Заключение. Опыт переживания женщинами ситуации развода, включающий эмоциональный, когнитивный и конативный компоненты, специфичен в зависимости от этапа бракоразводного и постразводного периода. Действенным механизмом формирования опыта переживания развода является сетевое общение в закрытой группе людей, имеющих схожие проблемы.

Ключевые слова: развод, стресс, опыт переживания, эмоциональный отклик, когнитивная оценка, совладающее поведение, бракоразводный и постразводный период, сетевое общение

Статья поступила: 16.12.2021
Статья принята: 25.04.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Тихомирова Е.В., Самохвалова А.Г., Хазова С.А., Сапоровская М.В., Чичерина Д.А. Опыт переживания женщинами ситуации развода. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 216-228. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.22

WOMEN'S EXPERIENCE OF DIVORCE

Tikhomirova E.V.,
Samokhvalova A.G.,
Khazova S.A.,
Saporovskaia M.V.,
Chicherina D.A.

Kostroma State University
(Dzerzhinskogo str. 17, Kostroma
156005, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena V. Tikhomirova,
e-mail: tichomirowa82@mail.ru

ABSTRACT

The article is devoted to the problem of studying the experience of women going through the situation of divorce at different stages of the divorce and post-divorce period.

Methods. *The study was carried out at the intersection of idiographic and nomothetic approaches. At the first stage, the specifics of the experience of experiencing divorce in the online space are described, revealed through an interpretive-phenomenological analysis of the content of a closed Internet forum (n = 297). On the second – the specifics of emotional perception, cognitive assessment and coping with the situation of divorce, depending on the post-divorce experience (n = 50).*

Results. *The experience of divorce by women is accompanied by ambivalent emotions, activates the understanding of the situation and coping with it. Online communication is an effective strategy focused on getting support, self-change, designing the future, allowing you to experience a sense of community in a life situation while maintaining psychological safety. The assessment of the divorce situation and coping strategies are specific: women who have gone through a divorce less than 3 years ago are more likely to seek social support; from 3 to 10 years – prefer the strategy of "flight-avoidance"; more than 10 years ago – "positive reevaluation".*

Conclusion. *The experience of women experiencing the situation of divorce, including emotional, cognitive and conative components, is specific depending on the stage of the divorce and post-divorce period. An effective mechanism for shaping the experience of experiencing a divorce is network communication in a closed group of people who have similar problems.*

Key words: *divorce, stress, experience, emotional response, cognitive assessment, coping behavior, divorce and post-divorce period, networking*

Received: 16.12.2021
Accepted: 25.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Tikhomirova E.V., Samokhvalova A.G., Khazova S.A., Saporovskaia M.V., Chicherina D.A. Women's experience of divorce. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 216-228. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.22

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в психологии большое внимание уделяется изучению ненормативных жизненных кризисов, их влиянию на жизнь человека, способам преодоления. В ряду таких кризисов можно выделить ситуацию, которая в современном мире становится обыденностью, – это ситуация расторжения брака. Согласно данным Росстата на 2021 г., количество разводов в нашей стране превышает количество зарегистрированных браков. В западных странах почти половина браков заканчивается разводом [1]. Всё большее распространение получает развод и в мусульманских странах с традиционными семейными ценностями [2].

Однако каким бы частым и повсеместным явлением ни становился развод, он является тяжёлым испытанием для человека. По степени стрессогенности расторжение брака среди трудных жизненных ситуаций занимает одно из первых мест в мире. Сопрежённые с ним проблемы: изменение личной траектории жизни, продолжающиеся конфликты с бывшим супругом, решение материально-бытовых вопросов и вопросов дальнейшего воспитания детей, трудности адаптации к постразводной жизни, – являются чрезвычайно травмирующими для всех членов семьи. «Постразводный синдром» часто проявляется в виде аутоагрессии, отчаяния, чувства одиночества, брошенности, пустоты, депрессии, ощущения безысходности и бессмысленности жизни [3–7]. Эмоциональное и когнитивное напряжение, связанное с ситуацией развода, пролонгируется на долгие годы, в некоторых случаях с течением времени даже возрастает [8].

Результаты исследований показывают, что развод отрицательно сказывается на состоянии здоровья партнёров: у разведённых регистрируется больше смертельных и нефатальных хронических заболеваний, больше субъективных жалоб на здоровье, наблюдается более высокая распространённость инвалидизации, чем у женатых людей [9–11].

В современных исследованиях подчёркивается, что не только женщины переживают развод глубоко и интенсивно, но и мужчины подвержены снижению объективного и субъективного благополучия [12, 13]. Ряд исследователей отмечают, что само возникновение постразводного синдрома мало коррелирует с полом, не зависит от добровольности принятия решения о разводе. В большей степени сила и длительность переживания сопряжена с тем, кто был инициатором развода, и стажем брака. Наиболее болезненно развод переживается пассивным участником, отвергнутым партнёром [14, 15].

На протяжении длительного времени учёные активно исследуют переживание развода, сравнивая его с гореванием при утрате близкого человека. Переживание утраты при разводе проходит стадии отрицания, агрессии, поиска сторонников, которыми часто становятся дети, депрессии, адаптации к новому положению и изменившимся условиям жизни. Именно на стадии адаптации формируется умение жить без поддержки супруга и справляться с возникающими трудностями; проис-

ходит изменение стиля поведения в социуме, принятие статуса; формирование новых жизненных целей, смыслов [16].

Отмечается, что при разнообразии типов поведения в ситуации развода и после него существует общая тенденция: для переживания развода характерны доминирование отрицательных эмоций и выраженная динамика поведения [17]. Особый исследовательский интерес вызывает специфика преодоления ситуации развода женщинами, имеющими детей, для которых забота о детях может, с одной стороны, выступать ресурсом преодоления кризиса, а с другой – стать фактором риска эмоционального и физического истощения и персональной дисфункциональности [18, 19].

Несомненно, развод требует приложения определённых усилий по совладанию с ситуацией разрыва близких отношений [20, 21]. Для преодоления ситуации развода всегда требуется время, чтобы вновь появились планы на будущее, осмысленность происходящего и удовлетворённость жизнью. Тем не менее, Е.Ю. Чеботаревой и Е.В. Королевой было установлено, что женщины, принявшие развод как некий опыт, более удовлетворены своей жизнью, чем женщины, никогда не состоявшие в браке [22]. Развод может стать освобождением от токсичных отношений, влекущим за собой новые жизненные перспективы [23, 24]. Одним из самых труднопреодолимых последствий развода для женщины является страх создания новых отношений, поскольку после развода женщина ощущает себя брошенной, никому не нужной и всё, что так или иначе связано с семьёй, вызывает у неё большой стресс.

Несмотря на многочисленность исследований в области психологии развода, результаты носят достаточно мозаичный характер, отличаются дефицитностью данных о формировании опыта переживания у женщин на разных этапах постразводного периода. В основном исследования затрагивают время до одного года после развода и не касаются особенностей переживания развода в более отдалённые периоды. Мало внимания уделяется новым ресурсам, таким как сетевое общение, онлайн-среда, которые активно используют женщины в современном мире. Стоит отметить и явную недостаточность идиографических исследований, которые позволили бы более глубоко взглянуть на специфику опыта переживания данной ситуации современными женщинами, в том числе в «режиме реального времени».

Феномен переживания, несмотря на высокий интерес исследователей к нему в последнее время, является очень сложным для изучения. При его рассмотрении необходимо среди большого количества психологических подходов дифференцировать традиционное понимание переживания как созерцания и переживания как деятельности. В своей работе мы придерживаемся теории переживания Ф.Е. Василюка (1984), который считает, что переживание как деятельность реализуется и внешними, и внутренними действиями; при этом специфика этой деятельности в первую очередь определяется особенностями самих жизненных критических ситуаций, актуализирующих переживание. Переживание

не ограничено узким миром индивидуальной субъективности. Реализуясь через внутреннюю работу и внешнюю преобразующую активность, оно позволяет человеку перенести те или иные тяжёлые жизненные события, восстановить утраченное душевное равновесие, наделять их новым смыслом. Таким образом, «план переживания» включает в себя само переживание, его проявление и осмысление, результатом чего являются внутренняя непротиворечивость и целостность, обретение осмысленности [25].

Такое понимание категории переживания позволяет соотнести его с понятием индивидуального, субъективного (жизненного) опыта человека, включающего в себя и опыт произошедшего и происходящего актуально, и опыт прогнозирования будущего, и декларативные знания («что»), и процедурные знания («как»), и когнитивный опыт, позволяющий получать знания и выстраивать адаптивное поведение, и экзистенциальный опыт, осуществляющий ценностно-смысловую регуляцию и направляющий жизнь человека. По сути, субъективный опыт – это переработанные, осмысленные знания и впечатления, имеющие субъективную ценность. В гуманистической психологии опыт – это специфика «проживания», восприятия и интерпретаций человеком определённых событий его жизни, что позволяет нам говорить об опыте переживания любого события, в том числе и ситуации развода. По сути в данном случае мы имеем в виду специфику её аффективного «проживания» (эмоциональный компонент); её восприятие, оценку, интерпретацию, смысловое значение (когнитивный компонент); способы и стратегии совладания со стрессовой нагрузкой данной ситуации (регулятивный компонент) [26].

Сложность понимания опыта переживания, его субъективность (только сам человек знает, какой опыт он получил), динамичность, связь с рефлексией и интерпретацией событий, эмоциональная окрашенность вызывают серьёзные затруднения при его изучении.

Рассмотрение переживания как целостного феномена (внутренняя деятельность субъекта по поиску нового смысла критической ситуации, эмоционально окрашенная форма содержания сознания, внешняя преобразующая активность) приводит к необходимости использования при его изучении не только стандартизированных количественных, но и качественных методов, позволяющих эксплицировать субъективный опыт, контекст жизни, опираясь при этом на объективные научные методы и критерии [27, 28].

Таким образом, теоретический анализ проблемы позволил определить **цель исследования** – выявить специфику опыта переживания ситуации развода современных женщин на разных этапах бракоразводного и постразводного периодов.

Было выдвинуто две *гипотезы*:

1) онлайн-коммуникация женщин (общение в тематических чатах и форумах) в актуальной ситуации развода и в постразводный период аккумулирует опыт переживания субъекта, является интегративной копинг-стратегией, ориентированной на поиск социальной поддержки, регуляцию отрицательных (астенических

и стенических) эмоций, когнитивную переоценку травмирующей ситуации, планирование действий по изменению себя и своей жизни;

2) опыт переживания женщинами ситуации развода специфичен в зависимости от срока давности бракоразводного процесса.

МЕТОДЫ

Для проверки выдвинутой гипотезы и решения поставленных задач был сформирован следующий *методический комплекс*.

1. Интерпретативно-феноменологический анализ содержания чата «Как пережить развод?» (диагностика эмоционального компонента опыта переживания женщин).

2. Когнитивная оценка стрессовой ситуации А.Ю. Маленовой (2015) [28] (диагностика когнитивного компонента опыта переживания женщин).

3. Опросник способов совладания (WCQ, Ways of Coping Questionnaire) R.S. Lazarus, S. Folkman (1988); адаптация Т.Л. Крюковой, Е.В. Куфтык, М.С. Замышляевой (2004) [29] (диагностика регулятивного компонента опыта переживания женщин).

Кроме того, использовался метод анализа индивидуальных случаев, иллюстрирующий специфику опыта переживания женщинами ситуации развода. Компьютерная статистическая обработка результатов производилась при помощи программы SPSS Statistics 22 (IBM Corp., США). Для выявления статистически значимых различий между группами испытуемых был применён непараметрический критерий *U* Манна – Уитни. Исследование лежит преимущественно в плоскости идеографического подхода, предполагающего анализ эмис-данных.

Эмпирическую базу первого этапа исследования составляют сообщения участниц чата «Как пережить развод?» (количество участников – 297; страниц – 436; всего ответов – 6528; просмотров – 191820; чат существует с октября 2013 г. по настоящее время; из них выделено 14 индивидуальных историй, развёрнутых во времени). На втором этапе исследования из первоначальной выборки были отобраны 50 женщин в возрасте от 24 до 65 лет, в разное время своей жизни пережившие развод ($M = 40$; $SD = 8,3$), из них 43 (86 %) женщины имеют детей, 7 (14 %) женщин детей не имеют. Постразводный период у выбранных женщин – от 1 года до 26 лет. В настоящее время в новых отношениях состоят 24 (48 %) женщины, из них 17 (29 %) находятся в официальном браке. Данная выборка ($n = 50$) была разделена на три группы: первая группа – с постразводным стажем до 3 лет ($n = 16$); вторая группа – с постразводным стажем от 3 до 10 лет ($n = 22$); третья группа – с постразводным стажем более 10 лет ($n = 12$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В связи с тем, что феномен переживания требует не столько количественного, но, несомненно, и качественного подхода к его изучению, на первом этапе ис-

следования был проведён интерпретативно-феноменологический анализ [30] содержания чата «Как пережить развод?» на одном из закрытых интернет-форумов. Обращение к материалам чата обусловлено активным уходом современных женщин в интернет-среду, связанным с цифровизацией, заменой реального общения виртуальным, и наконец, пандемией, повлекшей за собой необходимость изменения и расширения привычных способов общения. Следует отметить, что 100 % участников форума – женщины, которые имеют опыт развода. Для них общение с теми, кто оказался в схожей жизненной ситуации, создаёт эффект разделённого переживания, когда они ощущают себя понятыми и принятыми, частью референтной группы. Кроме того, сама по себе дискуссия является уникальной и несёт в себе богатый эмпирический материал, позволяющий изучить реальные переживания, а также их динамику, в связи с тем, что участницами форума женщины становятся, как правило, в предразводный период и делятся своими переживаниями на протяжении длительного времени, охватывающего и период собственно развода, и постразводный, в том числе отсроченный, период.

В ходе анализа чата «Как пережить развод?» были выделены следующие темы обсуждений:

1. Получение информации, эмоциональной поддержки и вариативной помощи (47 % сообщений). Чат в данном случае рассматривается как внешний ресурс, источник информации. Структура вопросов и ответов, содержание которых в большей степени связано с необходимостью получения помощи в преодолении трудностей, сопряжённых с ситуацией развода, представлена в таблице 1.

Анализируя запросы участниц, можно сделать вывод, что женщин в первую очередь беспокоят вопросы, находящиеся в правовом поле, что говорит о низком уровне информированности и правовой культуры у российских женщин. В обсуждении вопросов, связанных с особенностями раздела имущества, определением ме-

ста жительства детей после развода, порядком общения родителей и прародителей с ребёнком, порядком подачи заявления, прослеживается высокий уровень тревожности и наличия страхов, что часто как раз обусловлено дефицитностью знаний, узостью представлений, ограниченностью жизненного опыта. Ответы на данные вопросы, также частотно преобладающие в чате, содержат живой отклик, связанный с их «безболезненностью», низким уровнем психологического риска.

Вопросы более личного характера, касающиеся опыта внутреннего проживания самой ситуации, совладания с её психологическими последствиями и сопутствующими трудностями, также активно дискутируются (28 %). Это вопросы, сопряжённые с принятием решения о разводе. Многие женщины указывают на желание развестись с супругом, но ряд жизненных факторов не позволяет им решиться на данный шаг: страх, что супруг пропадёт без них; финансовые риски; страхи одиночества, родительской некомпетентности и другие. Неуверенность в собственных силах, отсутствие веры в себя, зависимость и созависимость от супруга, отсутствие финансовой поддержки усугубляют психологическое состояние женщины в предразводный период. Доминирующее количество женщин в ситуации развода испытывают растерянность и одиночество, которые их приводят на форум за социальной поддержкой (*«очень здорово, что есть наш сайт. Порой здесь высказаться и получить совет или поддержку просто жизненно необходимо...»*, *«Спасибочки, девочки, всем! И за поддержку, и за слова правильные, и за советы дельные...»*). В коммуникациях женщин, имеющих схожие проблемы, обсуждаются вариативные способы переживания травмирующей ситуации: *«заняться собой, детьми»*; *«посмотреть на проблему с другой стороны, поработать над ней»*; *«начать новые отношения»* и т. д. Стоит отметить, что для женщин, которые делятся своим опытом и оказывают помощь, чат также является ресурсом, позволяющим реконструировать свою жизненную историю, переосмыслить её, пе-

ТАБЛИЦА 1
ЧАСТОТНЫЙ АНАЛИЗ ЗАПРОСОВ УЧАСТНИКОВ
НА ПОЛУЧЕНИЕ ПОМОЩИ В ПРЕОДОЛЕНИИ
ТРУДНОСТЕЙ, СОПРЯЖЁННЫХ С СИТУАЦИЕЙ РАЗВОДА

TABLE 1
FREQUENCY ANALYSIS OF PARTICIPANTS' REQUESTS
FOR ASSISTANCE IN OVERCOMING DIFFICULTIES
ASSOCIATED WITH A DIVORCE SITUATION

Подтемы	Частота встречаемости вопросов (% сообщений)	Индикаторы (примеры)
Вопросы, связанные с нормативно-правовыми трудностями: процедура развода, алименты, юридическая помощь	72 %	«Девочки, как развестись, если ребенок есть?», «Как подать заявление?», «Девочки, кто сталкивался с разделом нажитого имущества при разводе?», «Срочно нужен хороший юрист по семейным вопросам...», «Девочки, лучше расскажите мне про алименты»
Вопросы, связанные с переживанием развода и сопряжённых с ним трудностей: готовность к разводу, коммуникации после развода, страхи	28 %	«Как Вы пережили развод?», «Как найти в себе силы? Как всё это пережить?», «Как сказать детям?», «Кто виноват?», «Как сообщить ему о решении развестись?», «... как общаться с ребенком, с бывшим мужем?», «Как теперь жить без него, с ребенком?», «Подскажите, пожалуйста, хорошего семейного психолога», «Где вы себе вторых/третьих мужей нашли?», «Как решиться на развод?», «Как долго вы принимали решение о разводе»

реключить энергию в конструктивное русло («Я тут поделилась своей ситуацией... и сейчас, пообщавшись, мне стало намного легче, в том числе поняв, что, скорее всего, мой бывший муж и правда не «мой» человек (покажет только время), и думать о нём меньше стала, вообще, тут посидела, будто у психолога побывала»).

При принятии решения о разводе участники чата советуют: «обдумать, подождать, не разводиться» – 13,6 % («...если есть возможность, сохраните свой первый брак»); «разводиться» – 8,1 % («Моё мнение – не нужно сохранять брак для галочки, что есть муж, а на самом деле нет никакой семьи, либо как соседи, либо скандал каждый день. Это не жизнь...»); «прислушаться к себе» – 7,6 % («Делай как тебе лучше, думай о себе»); «обратиться за помощью к психологу» – 7,6 % («Я бы посоветовала пообщаться с психологом, он поможет разобраться во внутренних проблемах, а там и в отношениях яснее будет...»).

2. Истории развода (21,3 % сообщений)

Опыт переживания развода накапливается не только в процессе отражения актуальных чувств, эмоций в чате, но и в процессе оказания поддержки, помощи «равному» в процессе обмена опытом, транслирования ретроспективного самоотчёта. Ретроспективные личные истории позволяют реконструировать пережитые события собственной жизни, наделяя их новым смыслом.

3. Темы, сопряжённые с разводом (37,7 % сообщений): измена (прощать или не прощать, её причины, приемлемость); ревность («Меня ревность в отношениях душист», «Я не соглашусь что ревность – это неуверенность в себе, это нормальное чувство к человеку, которого любишь»); доверие («Конечно, доверие на первом месте», «Женщина боится измены, и страх увеличивает её недоверие к мужчине»); взаимоотношения отцов и детей после развода; ответственность родителей за благополучие детей после развода; общение мужей с бывшими жёнами; отношения со свекровью; причины развода; факторы долголетия отношений; построение отношений после развода; существование любви и вера в неё; ипотека; самореализация; гостевой брак и др.

После первичного содержательного анализа из общего контента были отобраны высказывания-истории участниц форума ($n = 14$), в которых наиболее ярко отражена специфика их переживания ситуации развода. По временным рамкам истории соответствовали трём периодам ситуации развода: предразводный период, собственно развод и постразводный период.

На основе интерпретативного анализа историй выявлены следующие тенденции переживания женщинами развода:

- **Длительность обдумывания и принятия решения о разводе.** Так, 4 (28,5 %) женщины указали на срок 1–2 года, 6 (43 %) женщин написали, что не могли решиться на развод несколько лет («Много лет боялась (лишит дома, посадит и отберёт ребёнка)», «взвешивала не один год»). Такая длительность свидетельствует о тяжести и сложности принятия этого решения, о высокой ответственности женщин за свою дальнейшую жизнь и жизнь детей («Я в тот момент думала не о любви, не о страхе одиночества, а о своём ребёнке, каково ему жить в та-

кой НЕДОСемье»). В некоторых случаях, женщина не может принять решение, пока не случается критическая ситуация («После очередного скандала с мужем и рукоприкладства вызвала полицию, написала заявление»).

- **Негативная эмоциональная окраска актуального состояния, связанного с переживаемым событием.** Рассказы об актуальных событиях несут в себе негативную эмоциональную нагрузку (56 %): ощущение беспомощности, безысходности, пессимистичное видение будущего, страх одиночества, выражение обиды и злости на мужа («И всё чаще посещают мысли в голове, а что если я теперь одна буду, что не встречу «своего» человека, что так и буду тосковать по старым чувствам...»). Нередко в момент принятия решения у женщин возникали амбивалентные чувства: желание спокойно жить и страх перед новой жизнью (31 %).

- **Локус ответственности за случившееся.** В сообщениях, написанных в момент развода, большую часть занимает эмоциональное описание причин развода, среди которых доминирующей является ревность, присутствует гетероагрессия, наблюдается смещение локуса контроля, снятие с себя ответственности за произошедшее и перекладывание её на других, часто в грубой форме, что говорит об актуализации механизмов психологических защит (78,6 % женщин: «и добрые коллеги помогли, накручивают его», «если читаете это сообщение, то займитесь своей личной жизнью!»). В 21,4 % историй прослеживается самообвинение («виню себя в том, что так произошло...»). Данная специфика переживаний ещё раз подчёркивает деструктивный характер ситуации развода. Немаловажным является замечание одной из участниц форума: «Всегда легче разводиться на эмоциях и со скандалом...», иллюстрирующее то, что в стрессовой ситуации чрезвычайно важно выражение негативных эмоций, проявление агрессии, снижающих душевную боль.

- **Осмысление ситуации развода.** Спустя 1–3 года после развода в ретроспективных сообщениях преобладает спокойный эмоциональный фон, наблюдается принятие ответственности за произошедшее, переосмысливаются причины развода, ситуация реконструируется и отпадают второстепенные моменты («Как выяснилось, основная причина была во мне. Много требовала и мало давала сама. Ему нужно было понимание...», «Сейчас, спустя 2 года, стало легче»; «мне казалось земля ушла из-под ног, я почти умерла... а плакала я по нашему разрыву, не соврать бы, недели 3...», «Сначала я думала, что не смогу пережить эту боль... По ночам выла, днём старалась улыбаться, чтобы хоть дети не видели, сейчас, спустя время, стало легче»).

- **Характер постразводных трудностей и совладание с ними.** Большинство женщин (78,6 %) отметили, что за разводом, кроме сильных эмоциональных переживаний, последовали серьёзные материальные трудности, проблемы, связанные с отсутствием жилья, нехваткой общения с близкими людьми, судебными процессами, состоянием здоровья, которые по прошествии времени начинают нивелироваться.

В качестве стратегии преодоления негативных последствий ситуации развода более чем в 50 % сообще-

ний рассматривается работа над собой («Занялась собой», «Стала ухаживать за собой...»), а в качестве главного ресурса – поддержка окружающих («На СП пришла за поддержкой, и девочки мне очень помогли, никаких психотерапевтов не нужно»)), «На работе меня все поддерживали»). Также женщины упоминают переосмысление ситуации («похудела сильно на нервяке, потом посмотрела на себя в зеркало, покрутила у виска с фразой «нашла из-за чего страдать», выдохнула, взяла себя в руки, нашла 2 км плюсов от всей этой ситуации, и всё!»); психологическую помощь («мне советовали отпустить ситуацию психологи»); занятия спортом («Очень помог спорт – первые 3 месяца на тренировках не могла сдержать слезы»); уход в работу («Когда стало совсем плохо от мыслей, поехала в лагерь работать, деток взяла с собой»); отвлечение от своего состояния на судебные процессы («Перечитала все законы, все кодексы»); новые отношения («Жила одна там с ребёнком почти три года, встречалась с нынешним супругом»). Таким образом, регулятивный компонент опыта переживания женщинами ситуации развода весьма индивидуален, однако во всех случаях направлен на снижение психоэмоционального напряжения.

• Ресурсность развода в отдалённой перспективе. В сообщениях присутствует указание на постепенное улучшение качества жизни после 1–3 лет после развода, что отмечено в 71 % историй («поменяла работу, купила машину в кредит, потихоньку стала самодостаточной», «Наладилось абсолютно всё и практически сразу, работа в гору, доход вырос значительно, самая любимая доченька рядом»). Такие изменения свидетельствуют о том, что личные усилия, мобилизация ресурсов в ситуации стресса влекут за собой новые перспективы, открывают для женщины новые возможности: «уверяю вас, жизнь станет лучше!!!!», «Очень хочу, чтоб женщины не боялись раз-

водов и жизни после развода», «...Когда закрывается одна дверь – открывается другая», – отмечают женщины, у которых развод состоялся более двух-трёх лет назад.

• Мотивационная готовность к новым отношениям. Примерно в половине историй женщины отмечают, что после развода хотят построить новые отношения. Многие уже находят в повторном браке. Некоторые женщины признаются в своём желании, чтобы бывший муж вернулся – 14 % («В глубине души все ещё храню надежду, что однажды он вернётся»), либо в неготовности к новым отношениям – 14 % («чтоб я ещё раз замуж вышла – лучше убьюсь»)), «Построила свою жизнь с ребёнком на двоих. Никого третьего пускать не хочу, мне так комфортно»).

• Динамика отношений с бывшим супругом. Отношения с бывшим супругом у большинства женщин (более 70 %) либо полностью прекращены, либо носят негативный характер («Угрожает сейчас», «отстал, понял, что я не сдамся никогда и буду бороться»). Несколько человек отмечают, что сумели сохранить хорошие, дружеские отношения с бывшим мужем («расстались без скандалов, он помог мне переезжать...»), но процесс стабилизации потребовал усилий и времени («могу сказать, что процесс крайне трудоёмкий и сложный со всех сторон, но сейчас мы с бывшим мужем даже больше, чем друзья»).

В качестве иллюстрации приведём несколько высказываний одной из участниц форума (рис. 1). Анализ историй позволяет выявить динамику переживания развода.

Сообщение написано в ноябре 2013 г., в момент развода. Большую его часть занимает эмоциональное описание причин развода, среди которых доминирующей является ревность мужа. Также очень показательными являются эмоциональные фразы в адрес коллег супруга, из-за которых, по мнению женщины, и произошёл развод. Аффективный стиль совладания позволяет отреагировать

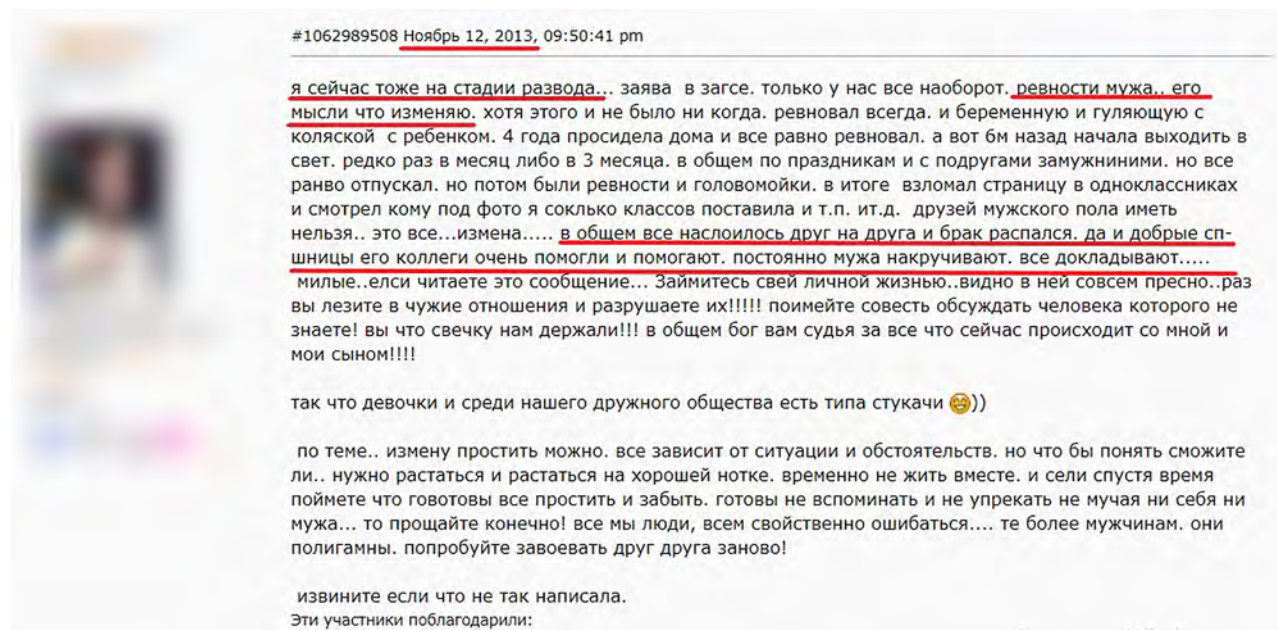


РИС. 1.
Сообщение о разводе в период бракоразводного процесса (ноябрь 2013 г.)

FIG. 1.
The message on the forum during divorce proceedings (November, 2013)

гнев, обиду, боль женщин. Сообщение этой же женщины спустя 3 года после развода носит ретроспективный характер и имеет спокойный эмоциональный фон (рис. 2).

Можно заметить, что произошло переосмысление случившегося, и женщина воспринимает развод более рационально, анализируя причины, последствия, извлекая из него определённый жизненный опыт. Деструктивные эмоции, ощущение беспомощности, безысходности, пессимистичное видение будущего остались в прошлом.

На втором этапе исследования на основе дескриптивной статистики анализировались когнитивный и регулятивный компоненты опыта переживания женщин с разным бракоразводным стажем, для чего выборка ($n = 50$) была разделена на три группы: первая группа – с бракоразводным стажем до 3 лет; вторая группа – с бракоразводным стажем от 3 до 10 лет; третья группа – с бракоразводным стажем более 10 лет.

На основе анализа профилей когнитивной оценки ситуации развода во всех трёх группах можно говорить в целом об их схожести, в частности, оценка контролируемости ситуации развода женщинами (фактор «Контроль») фактически идентична. Однако существует и некоторая специфика (рис. 3).

Среднее значение по фактору «Объективная заданность ситуации» в группе женщин, недавно переживших развод (до 3 лет назад), несколько ниже, чем в других группах. Следовательно, они в большей мере считают ситуацию развода непрогнозируемой, нестандартной, неопределённой, что может быть обусловлено неполным принятием и осмыслением случившегося. Показатели по фактору «Стрессогенность» позволяют определить ситуацию развода как высоко стрессогенную для всех женщин,

при этом даже спустя длительное время негативное представление о ситуации развода не сглаживается, а иногда и заостряется. По фактору «Угроза» средние значения 2-й и 3-й групп отражают среднюю оценку опасности ситуации, в то же время в 1-й группе этот показатель несколько ниже, что может быть обусловлено недостаточностью времени после развода для понимания рисков данной ситуации. Показатели фактора «Субъективная значимость» свидетельствуют о высокой оценке влияния развода на дальнейшую жизнь женщины в 1-й и 2-й группах. Несколько ниже этот показатель у испытуемых 3-й группы, что объясняется давностью развода, снижением его значимости. Фактор «Лидерство», отражающий позицию женщины в разводе как субъекта, входит в диапазон средних значений во всех группах. Однако женщины, пережившие развод недавно, в большей мере, чем остальные, ощущают собственную инициативу и значимую позицию в этой ситуации, что, вероятно, выступает для них ресурсом; в то же время женщины, пережившие развод более 10 лет назад, более склонны признавать лидерство другого.

Таким образом, развод для женщин, несмотря на высокую стрессогенность, является жизненным событием, ведущим к существенным изменениям в жизни, как правило, в лучшую сторону. Расхождения в показателях свидетельствуют о некоторой зависимости оценки ситуации развода от давности произошедшего.

Далее обратимся к результатам методики «Опросник способов совладания» (рис. 4). Исходя из полученных результатов, у женщин, переживших развод менее 3 лет назад (1-я группа), в диапазон высоких значений входят шкалы «Конфронтативный копинг», «Дистанцирование», «Поиск социальной поддержки», «Положитель-

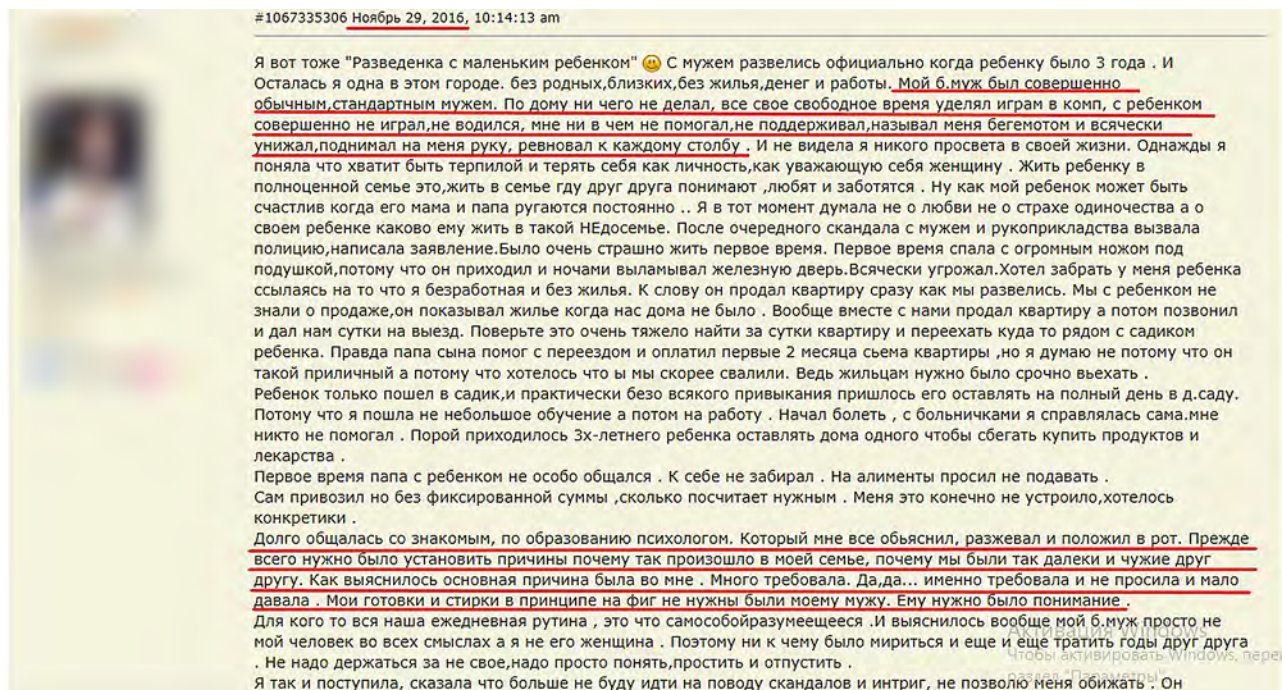


РИС. 2.
Сообщение о разводе через 3 года после него (ноябрь 2016 г.)

FIG. 2.
The message on the forum 3 years after the divorce (November, 2016)

ная переоценка». Респонденты этой группы для совладения со стрессовой ситуацией преимущественно используют агрессивные усилия по изменению происходящего, стараются отделиться от него, ищут поддержку и по-

мощь от окружающих людей, стремятся переосмыслить проблему, извлечь из неё определённый опыт.

У женщин, переживших развод от 3 до 10 лет назад, дополняет репертуар стратегий, входящих в диапазон

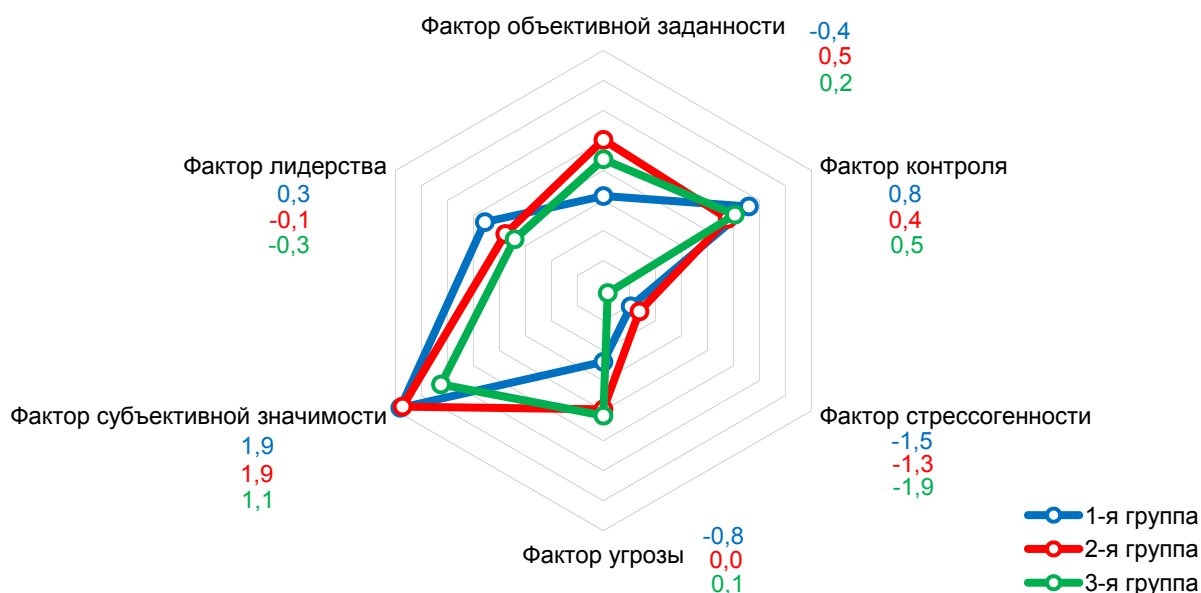


РИС. 3.

Профиль когнитивной оценки ситуации развода женщинами на разных постразводных этапах жизни: 1-я группа – женщины, пережившие развод менее 3 лет назад ($n = 16$); 2-я группа – женщины, пережившие развод от 3 до 10 лет назад ($n = 22$); 3-я группа – женщины, пережившие развод более 10 лет назад ($n = 12$)

FIG. 3.

Profile of the cognitive assessment of the divorce situation by women at different post-divorce stages of life: group 1 – women who went through a divorce less than 3 years ago ($n = 16$); group 2 – women who went through a divorce from 3 to 10 years ago ($n = 22$); group 3 – women who went through a divorce more than 10 years ago ($n = 12$)

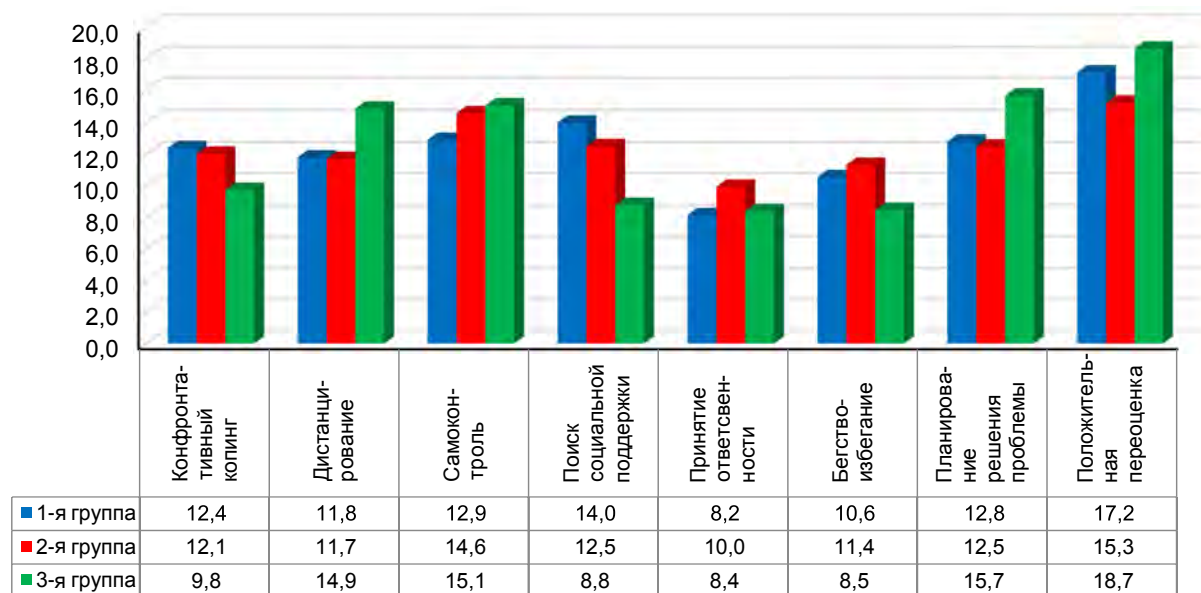


РИС. 4.

Средние значения показателей опросника способов совладения женщин на разных постразводных этапах жизни: 1-я группа – женщины, пережившие развод менее 3 лет назад ($n = 16$); 2-я группа – женщины, пережившие развод от 3 до 10 лет назад ($n = 22$); 3-я группа – женщины, пережившие развод более 10 лет назад ($n = 12$)

FIG. 4.

Average values of the indicators of the questionnaire of coping methods for women at different post-divorce stages of life: group 1 – women who went through a divorce less than 3 years ago ($n = 16$); group 2 – women who went through a divorce from 3 to 10 years ago ($n = 22$); group 3 – women who went through a divorce more than 10 years ago ($n = 12$)

высоких значений, «Принятие ответственности», но отходит на второй план «Поиск социальной поддержки», что свидетельствует о динамике переосмысления ситуации и признании своей ответственности за случившееся. У женщин, переживших развод более 10 лет назад, высокие значения наблюдаются по следующим способам совладания: «Дистанцирование», «Планирование решения проблемы» и «Положительная переоценка», то есть женщины совладают со стрессом путём отстранения от ситуации, поиска самостоятельного решения возникающих проблем, переосмысливают опыт развода в позитивном ключе. Таким образом, стратегии «Дистанцирование» и «Положительная переоценка» характерны для женщин всех трёх групп вне зависимости от бракоразводного стажа. Вероятно, каждая женщина стремится как можно скорее пережить ситуацию развода, отдалиться от супруга и начать новую жизнь, переосмыслив произошедшее и извлекая из него определённый жизненный опыт.

Выявлены статистически значимые различия в выраженности некоторых показателей у респондентов разных групп. Так, женщины, пережившие развод менее 3 лет назад, статистически значимо чаще по сравнению с женщинами, пережившими развод более 10 лет назад, используют стратегию «Поиск социальной поддержки» ($U = 47,53$; $p = 0,019$). Близкие, доверительные отношения в критической жизненной ситуации помогают преодолеть чувства одиночества и брошенности, которые так присущи женщинам, недавно пережившим развод. Стратегия «Бегство-избегание» более характерна для женщин, переживших развод от 3 до 10 лет назад ($U = 76$; $p = 0,043$), в то время как «Положительная переоценка» преобладает у женщин, переживших развод более 10 лет назад ($U = 73$; $p = 0,031$). Такая специфика может быть обусловлена тем, что женщины 3-й группы уже полностью справились с ситуацией развода, переосмыслили случившееся. При этом для женщин 2-й группы ситуация развода всё ещё болезненна, и лучшим способом её преодоления для многих является полное дистанцирование от случившегося, попытки забыть о случившемся и начать новую жизнь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования можно сделать следующие выводы. Одной из тенденций переживания развода женщинами в современном мире является поиск социальной поддержки не только в реальном окружении, но и в интернет-пространстве, что позволяет не только совладать с актуальным состоянием, но и извлечь жизненный опыт в процессе реконструкции этого события. Сам процесс реконструкции события позволяет женщине найти необходимые для его преодоления ресурсы в настоящем времени, осмыслить и оценить развод спустя время. Интернет-коммуникация является, в свою очередь, каналом выражения накопившейся агрессии, негативных эмоций, внутренних переживаний с сохранением чувства психологической безопасности в силу относительной анонимности и чувства сопричастности и общности на фоне схожей жизненной ситуации.

Представления о разводе у женщин, несмотря на индивидуальность ситуации и вне зависимости от того, как давно она произошла, имеют общие тенденции: когнитивная оценка ситуации как стрессогенной и личностно-значимой; полное отстранение от супруга после развода; дистанцирование, мысленное «отдаление» от ситуации и её положительная переоценка в контексте личностного роста и приобретения опыта как преобладающие в ситуации развода стратегии совладания. При этом наблюдаются и некоторые различия, обусловленные сроком давности развода: низкая оценка фактора объективной заданности ситуации женщинами, недавно пережившими развод; а также специфика выбора копинг-стратегий. Так, для женщин, переживших развод менее 3 лет назад, более типичным является поиск эмоциональной и информационной социальной поддержки; для переживших развод от 3 до 10 лет назад – «бегство» от проблемы; для женщин, переживших развод более 10 лет назад, – положительная переоценка ситуации, придание ей позитивного смысла в контексте жизни. На ранних этапах переживания развода на первый план выходит «работа» с эмоциональным состоянием, совладание с негативными эмоциями, а в последующем наступает время осмысления, реинтерпретации прошлого и выстраивание жизни в новых условиях, осознание возможностей, которые приносит развод.

Данное исследование имеет ряд ограничений в генерализации сделанных выводов: относительная негомогенность группы респондентов первой и второй частей исследования; немногочисленность выборки на втором этапе исследования; отсутствие кросс-культурного сравнения. Расширение представлений об объективных и субъективных факторах формирования опыта переживания женщинами ситуации развода за счёт минимизации данных ограничений, понимания роли мужчины (бывшего мужа или актуального партнёра) в поддержании или нарушении психоэмоционального здоровья женщин в бракоразводном и постразводном периоде, изучение ресурсов совладания со стрессом развода являются важными перспективами исследования.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования (FZEW-2020-0005).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sardon JP. Recent demographic trends in the developed countries. *Population Eng Ed.* 2002; 59(2): 263-314. doi: 10.3917/pope.402.0263
2. Arianfar N, Zamanshoar E, Rasuli R, Yusefzade I. Common themes in the divorce transition experience of women based

on their locus of control. *J Divorce Remarriage*. 2004; 61(3): 206-224. doi: 10.1080/10502556.2019.1699369

3. Ипполитова Е.А., Шведенко Ю.В. Особенности кризисного состояния мужчин и женщин в ситуации распада молодой семьи. *Мир науки, культуры, образования*. 2011; 5(30): 169-172.

4. Костарев В.В. Психологические предикторы нарушений психического здоровья у супругов в ситуации развода. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2017; 3(96): 64-70. doi: 10.26617/1810-3111-2017-3(96)-64-70

5. Сидоркина Ю.А., Разуваева Л.Н. Психологические последствия развода. *Актуализация персональных ресурсов личности: Материалы Всероссийской научно-практической конференции*. Пенза: Пензенский государственный университет; 2019: 21-25.

6. Colman EI, Symoens S, Bracke P. Professional health care use and subjective unmet need for social or emotional problems: A cross-sectional survey of the married and divorced population of flanders. *BMC Health Services Research*. 2012; 12(1): 420. doi: 10.1186/1472-6963-12-420

7. Hald GM, Ciprić A, Sander S, Strizzi JM. Anxiety, depression and associated factors among recently divorced individuals. *J Mental Health*. 2020; 1-9. doi: 10.1080/09638237.2020.1755022

8. Cohen O, Finzi-Dottan R. Reasons for divorce and mental health following the break up. *J Divorce Remarriage*. 2012; 53: 581-601. doi: 10.1080/10502556.2012.719413

9. Bronselaer J, Koker B, Christine P. The impact of divorce on the health status of ex-partners. *Arch Public Health*. 2008; 66: 168-186. URL: <https://www.researchgate.net/publication/321860112> [date of access: 25.11.2021].

10. Joung I, Stronks K, Poppel F, Mackenbach JP. Differences in self-reported morbidity by marital status and by living arrangement. *Int J Epidemiol*. 1994; 23(1): 91-97. doi: 10.1093/ije/23.1.91

11. Pienta A, Hayward M, Rahrig K. Health consequences of marriage for the retirement years. *J Fam Issues*. 2000; 21(5): 559-586. doi: 10.1177/019251300021005003

12. Berntsen KN, Kravdal O. The relationship between mortality and time since divorce, widowhood or remarriage in Norway. *Soc Sci Med*. 2012; 75: 2267-2274. doi: 10.1016/j.socscimed.2012.08.028

13. Shor E, Roelfs DJ, Bugyi P, Schwartz JE. Meta-analysis of marital dissolution and mortality: Reevaluating the intersection of gender and age. *Soc Sci Med*. 2012; 75: 46-59. doi: 10.1016/j.socscimed.2012.03.010

14. Крючков К.С. Переживание любовной разлуки – опыт феноменологического анализа. *Психолог*. 2019; 2: 9-27. doi: 10.25136/2409-8701.2019.2.27954

15. Kołodziej-Zaleska A, Przybyła-Basista H. The role of ego-resiliency in maintaining post-divorce well-being in initiators and non-initiators of divorce. *J Divorce Remarriage*. 2020; 61(5): 366-383. doi: 10.1080/10502556.2020.1768487

16. Пономарева И.М. Специфика и этапы психологического консультирования лиц, переживающих кризисную ситуацию развода. *Ученые записки Санкт-Петербургского государственного института психологии и социальной работы*. 2014; 1(21): 45-52.

17. Al Ubaidi BA. The psychological and emotional stages of divorce. *Journal Fam Med Dis Prev*. 2017; 3(3): 1-4. doi: 10.23937/2469-5793/1510060

18. Змиевская А.А. Психологическое благополучие одиноких матерей в постразводный период. *Психология стресса и совладающего поведения: ресурсы, здоровье, развитие: Материалы IV Международной научной конференции*. Кострома: КГУ им. Н.А. Некрасова; 2016; 2: 56-59.

19. Arianfar N, Zamanshoar E, Rasuli R, Yusefzade I. Common themes in the divorce transition experience of women based on their locus of control. *J Divorce Remarriage*. 2020; 61(3): 206-224. doi: 10.1080/10502556.2019.1699369

20. Екимчик О.А., Крюкова Т.Л. Психология совладания с завершением близких отношений. *Вестник Костромского государственного университета. Серия: Педагогика. Психология. СоциокINETика*. 2015; 21(4): 117-124.

21. McAlexander JH, Schouten JW, Roberts SR. Consumer behavior in coping strategies for divorce. *Adv Consum Res*. 1992; 19: 555-556.

22. Чеботарева Е.Ю., Королева Е.В. Психологическое благополучие женщин среднего возраста с разным брачным статусом. Роль сепарации от родительской семьи. *Психология и психотерапия семьи*. 2019; 3: 19-44. doi: 10.24411/2587-6783-2019-10002

23. Власова Е.Ю., Лаптев Л.Г. Психология поведения разведенных женщин и их отношения к семье. *Человеческий капитал*. 2017; 7(103): 69-75.

24. Haikal M, Latipun L. The resilience of women who are divorced and choose to live with their children. *Psychol Behav Sci*. 2020; 9(4): 44-49. doi: 10.11648/j.pbs.20200904.12

25. Васильюк Ф.Е. Психология переживания (анализ преодоления критических ситуаций). М.: Издательство Московского университета; 1984.

26. Знаков В.В. Психология понимания мира человеком. М.: Институт психологии РАН; 2016: 147-148.

27. Андреев В.В., Андреев В.В. Психологическая концепция преодоления: теория, методология, диагностика. *Российский психологический журнал*. 2019; 16(3): 20-32. doi: 10.21702/rpj.2019.3.2

28. Малёнова А.Ю., Потапова Ю.В. К вопросу о способах диагностики когнитивной оценки стрессовых ситуаций. В: Сурнина О.Е., Сергеева Т.Б. (ред.). *Психодиагностика в современном мире*. Екатеринбург; 2015: 126-132.

29. Крюкова Т.Л. Методы изучения совладающего поведения: три копинг-шкалы. Кострома: КГУ им. Н.А. Некрасова-Авантикул; 2010.

30. Pietkiewicz IJ, Smith JA. A practical guide to using Interpretative Phenomenological Analysis in qualitative research psychology. *Czasopismo Psychologiczne – Psychological Journal*. 2014; 20(1): 7-14. doi: 10.14691/CPPJ.20.1.7

REFERENCES

1. Sardon JP. Recent demographic trends in the developed countries. *Population Eng Ed*. 2002; 59(2): 263-314. doi: 10.3917/pope.402.0263

2. Arianfar N, Zamanshoar E, Rasuli R, Yusefzade I. Common themes in the divorce transition experience of women based on their locus of control. *J Divorce Remarriage*. 2004; 61(3): 206-224. doi: 10.1080/10502556.2019.1699369

3. Ippolitova EA, Shvedenko YV. Specifics the crisis of the men and women in situation of collapse of a young family. *The World of Science, Culture and Education*. 2011; 5(30): 169-172. (In Russ.).

4. Kostarev VV. Psychological predictors of mental health problems in spouses in the situation of divorce. *Siberian Herald*

of Psychiatry and Addiction Psychiatry. 2017; 3(96): 64-70. (In Russ.). doi: 10.26617/1810-3111-2017-3(96)-64-70

5. Sidorkina YuA, Razuvaeva LN. Psychological effects of divorce. *Aktualizatsiya personal'nykh resursov lichnosti: Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Penza: Penzenskiy gosudarstvennyy universitet; 2019: 21-25. (In Russ.).

6. Colman EI, Symoens S, Bracke P. Professional health care use and subjective unmet need for social or emotional problems: A cross-sectional survey of the married and divorced population of Flanders. *BMC Health Services Research*. 2012; 12(1): 420. doi: 10.1186/1472-6963-12-420

7. Hald GM, Ciprić A, Sander S, Strizzi JM. Anxiety, depression and associated factors among recently divorced individuals. *J Mental Health*. 2020; 1-9. doi: 10.1080/09638237.2020.1755022

8. Cohen O, Finzi-Dottan R. Reasons for divorce and mental health following the break up. *J Divorce Remarriage*. 2012; 53: 581-601. doi: 10.1080/10502556.2012.719413

9. Bronselaer J, Koker B, Christine P. The impact of divorce on the health status of ex-partners. *Arch Public Health*. 2008; 66: 168-186. URL: <https://www.researchgate.net/publication/321860112> [date of access: 25.11.2021].

10. Joung I, Stronks K, Poppel F, Mackenbach JP. Differences in self-reported morbidity by marital status and by living arrangement. *Int J Epidemiol*. 1994; 23(1): 91-97. doi: 10.1093/ije/23.1.91

11. Pienta A, Hayward M, Rahrig K. Health consequences of marriage for the retirement years. *J Fam Issues*. 2000; 21(5): 559-586. doi: 10.1177/019251300021005003

12. Berntsen KN, Kravdal O. The relationship between mortality and time since divorce, widowhood or remarriage in Norway. *Soc Sci Med*. 2012; 75: 2267-2274. doi: 10.1016/j.socscimed.2012.08.028

13. Shor E, Roelfs DJ, Bugyi P, Schwartz JE. Meta-analysis of marital dissolution and mortality: Reevaluating the intersection of gender and age. *Soc Sci Med*. 2012; 75: 46-59. doi: 10.1016/j.socscimed.2012.03.010

14. Крючков К.С. Переживание любовной разлуки – опыт феноменологического анализа. *Психолог*. 2019; 2: 9-27. doi: 10.25136/2409-8701.2019.2.27954

15. Kołodziej-Zaleska A, Przybyła-Basista H. The role of ego-resiliency in maintaining post-divorce well-being in initiators and non-initiators of divorce. *J Divorce Remarriage*. 2020; 61(5): 366-383. doi: 10.1080/10502556.2020.1768487

16. Ponomareva IM. Specificity and stages of counseling individuals in crisis situation of divorce. *Scientific Notes: Journal of St. Petersburg State Institute of Psychology and Social Work*. 2014; 1(21): 45-52. (In Russ.).

17. Al Ubaidi BA. The psychological and emotional stages of divorce. *Journal Fam Med Dis Prev*. 2017; 3(3): 1-4. doi: 10.23937/2469-5793/1510060

18. Zmievskaya AA. Psychological well-being of single mothers in the post-divorce period. *Psikhologiya stressa i sovladayushchego povedeniya: resursy, zdorov'e, razvitie: Materialy IV Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii*. Kostroma: KGU im. N.A. Nekrasova; 2016; 2: 56-59. (In Russ.).

19. Arianfar N, Zamanshoar E, Rasuli R, Yusefzade I. Common themes in the divorce transition experience of women based on their locus of control. *J Divorce Remarriage*. 2020; 61(3): 206-224. doi: 10.1080/10502556.2019.1699369

20. Yekimchik OA, Kryukova TL. Coping with close relationship dissolution. *Vestnik of Kostroma State University. Series: Pedagogy. Psychology. Sociokinetics*. 2015; 21(4): 117-124. (In Russ.).

21. McAlexander JH, Schouten JW, Roberts SR. Consumer behavior in coping strategies for divorce. *Adv Consum Res*. 1992; 19: 555-556.

22. Chebotareva EYu, Koroleva EV. Psychological well-being of middle-aged women with different marital status. Role of separation from the parental family. *Family Psychology and Psychotherapy*. 2019; 3: 19-44. (In Russ.). doi: 10.24411/2587-6783-2019-10002

23. Vlasova EYu, Laptev LG. Psychology of the behavior of divorced women and their relationship to the family. *Human Capital*. 2017; 7(103): 69-75. (In Russ.).

24. Haikal M, Latipun L. The resilience of women who are divorced and choose to live with their children. *Psychol Behav Sci*. 2020; 9(4): 44-49. doi: 10.11648/j.pbs.20200904.12

25. Vasilyuk FE. *Psychology of experience (analysis of overcoming critical situations)*. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta; 1984. (In Russ.).

26. Znakov VV. *Psychology of human understanding of the world*. Moscow: Institut psikhologii RAN; 2016: 147-148. (In Russ.).

27. Andreev VV, Andreev VV. Psychological concept of overcoming: theory, methodology, diagnostics. *Rossiyskiy psikhologicheskii zhurnal*. 2019; 16(3): 20-32. (In Russ.). doi: 10.21702/rpj.2019.3.2

28. Malenova AYU, Potapova YuV. On the question of methods for diagnosing cognitive assessment of stressful situations. In: Surnina OE, Sergeeva TB (eds). *Psikhodiagnostika v sovremennom mire*. Ekaterinburg; 2015: 126-132. (In Russ.).

29. Kryukova TL. *Methods for studying coping behavior: Three coping scales*. Kostroma: KGU im. N.A. Nekrasova-Avantitil; 2010. (In Russ.).

30. Pietkiewicz IJ, Smith JA. A practical guide to using Interpretative Phenomenological Analysis in qualitative research psychology. *Czasopismo Psychologiczne – Psychological Journal*. 2014; 20(1): 7-14. doi: 10.14691/CPJ.20.1.7

Сведения об авторах

Тихомирова Елена Викторовна – кандидат психологических наук, доцент, доцент кафедры общей и социальной психологии, заместитель директора Института педагогики и психологии по научно-исследовательской деятельности, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: tichomirowa82@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3844-4622>

Самохвалова Анна Геннадьевна – доктор психологических наук, профессор кафедры педагогики и акмеологии личности, директор Института педагогики и психологии, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: a_samohvalova@ksu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4401-053X>

Хазова Светлана Абдурахмановна – доктор психологических наук, профессор специальной педагогики и психологии, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: hazova_svetlana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7777-2135>

Сапоровская Мария Вячеславовна – доктор психологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей и социальной психологии, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: mv_saporovskaya@ksu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0852-1949>

Чичерина Дарья Андреевна – магистрант «Психология в социальной сфере», ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: dchicherina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8360-0583>

Information about the authors

Elena V. Tikhomirova – Cand. Sc. (Psychol.), Docent, Associate Professor at the Department of General and Social Psychology, Deputy Director for Research Activities, Institute of Pedagogy and Psychology, Kostroma State University, e-mail: tichomirowa82@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3844-4622>

Anna G. Samokhvalova – Dr. Sc. (Psychol.), Professor at the Department of Pedagogy and Acmeology of Personality, Director, Institute of Pedagogy and Psychology, Kostroma State University, e-mail: a_samohvalova@ksu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4401-053X>

Svetlana A. Khazova – Dr. Sc. (Psychol.), Professor of Special Pedagogy and Psychology, Kostroma State University, e-mail: hazova_svetlana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7777-2135>

Mariia V. Saporovskaia – Dr. Sc. (Psychol.), Professor, Head of the Department of General and Social Psychology, Kostroma State University, e-mail: mv_saporovskaya@ksu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0852-1949>

Daria A. Chicherina – Master's Degree Student in "Psychology in the social sphere", Kostroma State University, e-mail: dchicherina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8360-0583>

ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ИДЕНТИЧНОСТИ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ И ИХ СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ

Кузьмин М.Ю.,
Марьянян А.Ю.,
Сутурина Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кузьмин Михаил Юрьевич,
e-mail: mirroy@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. При значительной распространённости синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) дискуссионным остаётся вопрос о его влиянии на идентичность женщин, о специфике такой идентичности, а также о её динамике.

Цель исследования. Изучение особенностей динамики идентичности у женщин с синдромом поликистозных яичников и социально-демографических факторов, обуславливающих эти особенности.

Методы исследования. Ретроспективное когортное исследование проводилось при помощи методик «СЭИ-тест» и русскоязычных версий методик «Life Line», «Twenty Statements Test» на выборке в 110 женщин репродуктивного возраста (58 женщин с СПКЯ и 52 женщины без СПКЯ; два среза в течение года).

Результаты. Было показано, что женщины с диагнозом СПКЯ демонстрируют меньше признаков кризиса идентичности, чем женщины без такого диагноза, однако их идентичность более изменчива. Такие женщины реже характеризуют себя при помощи понятий, относящихся к гендерной и семейной сферам, в пользу качеств личности. Анализ влияния социально-демографических факторов показал, что их идентичность определяет большее число внешних факторов, чем у женщин без СПКЯ. Эго-идентичность таких женщин зависит от семейного статуса и места проживания.

Заключение. Идентичность женщин с диагнозом СПКЯ оказывается более изменчивой, однако обнаруживает меньше признаков кризиса. Представляется необходимым учитывать фактор наличия или отсутствия детей при планировании дальнейшего исследования. Полученные результаты могут быть использованы при консультации женщин с СПКЯ.

Ключевые слова: идентичность, СПКЯ, женщины репродуктивного возраста, динамика идентичности, Линия жизни

Статья поступила: 21.02.2022

Статья принята: 26.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Кузьмин М.Ю., Марьянян А.Ю., Сутурина Л.В. Особенности динамики идентичности у женщин с синдромом поликистозных яичников и их социально-демографические детерминанты. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 229-241. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.23

FEATURES OF DYNAMICS OF IDENTITY IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME AND THEIR SOCIO-DEMOGRAPHIC DETERMINANTS

Kuzmin M.Yu.,
Marianian A.Yu.,
Suturina L.V.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Mikhail Yu. Kuzmin,
e-mail: mirroy@mail.ru

ABSTRACT

With a significant prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS), the question of its impact on the identity of women, the specifics of such identity, as well as its dynamics remain debatable.

The aim. *To study the features of identity dynamics in women with PCOS and the socio-demographic factors that determine these features.*

Research methods. *A retrospective cohort study was conducted using the SEI-test methods and the Russian language versions of the Life Line, Twenty Statements Test methods on a sample of 110 women of reproductive age (58 women with PCOS, 52 women without PCOS; two surveys during the year).*

Results. *Had been shown that women diagnosed with PCOS show fewer signs of an identity crisis than women without such diagnosis, but their identity is more variable. Such women are less likely to characterize themselves with the help of concepts related to gender and family spheres in favor of personality traits. An analysis of the influence of socio-demographic factors showed that their identity determines a greater number of external factors than in women without PCOS. The ego-identity of such women depends on marital status and place of residence.*

Conclusion. *The identity of women diagnosed with PCOS is more variable, but shows fewer signs of a crisis. It seems necessary to take into account the presence or absence of children when planning further research. The results obtained can be used in the consultation of women with PCOS.*

Key words: *identity, PCOS, women of reproductive age, identity dynamics, lifeline*

Received: 21.02.2022
Accepted: 26.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Kuzmin M.Yu., Marianian A.Yu., Suturina L.V. Features of dynamics of identity in women with polycystic ovarian syndrome and their socio-demographic determinants. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 229-241. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.23

ВВЕДЕНИЕ

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) как одно из полиэндокринных расстройств изучается с различных точек зрения [1, 2], в том числе и как фактор, влияющий на различные стороны жизни женщины. Наряду с риском развития депрессивных и тревожных расстройств [3, 4], снижения качества жизни [5] женщина с СПКЯ испытывает проблемы с социализацией и зачастую подвергается стигматизации [6], поскольку не каждое общество готово принять её статус. Проблема принятия социальных ролей – как биологических («действительно ли я являюсь женщиной, если у меня гирсутизм?»), так и социальных («если я не могу родить, являюсь ли я настоящей женщиной?») [7] – приводит к нарушениям гендерной идентичности и идентичности в целом.

Современные исследования расходятся в том, насколько, с одной стороны, СПКЯ влияет на идентичность женщин и, с другой стороны, какова специфика идентичности женщин с СПКЯ. В ряде исследований [8–10] отмечается, что женщины с СПКЯ ощущают себя менее привлекательными физически, склонны описывать себя как андрогинов). В других исследованиях (например, E. Morotti et al. [11]) женщины с СПКЯ не испытывают чувства утраты гендерной идентичности и не проявляют специфики самоуважения и удовлетворённости своей сексуальной сферой.

Сравнивая идентичность женщины с СПКЯ с таковой при других расстройствах (при синдроме полной нечувствительности к андрогенам (CAIS, complete androgen insensitivity syndrome) или при синдроме Майера – Рокитанского – Кюстера – Хаузера (MRKHS, Mayer – Rokitsansky – Küster – Hauser syndrome), F. Brunner et al. [12] и K. Krupp et al. [9] отмечали, что такие женщины имеют больше трудностей с типично женскими ролями, считая, например, для себя важной роль матери и страдая от невозможности её реализовать.

В целом H.A. Manlove et al. отмечают противоречивость в трактовке особенностей идентичности у женщин с СПКЯ: преобладает ли у них мужской тип поведения или, наоборот, они переживают утрату своей женственности [13].

В наших исследованиях [14] мы обнаружили, что женщины репродуктивного возраста с СПКЯ обладают более сформированной эго-идентичностью и демонстрируют меньше признаков кризиса идентичности, однако менее склонны использовать при самоописании категории, относящиеся к семейной сфере и больше обращают внимание на сферы, связанные с социальной идентичностью (карьера, саморазвитие и т. п.). Анализ влияния социально-демографических факторов на идентичность женщин с СПКЯ показал, что большее количество внешних факторов определяет их идентичность по сравнению с женщинами без этого диагноза. Эго-идентичность таких женщин зависит от их семейного положения и места проживания [15]. При этом мы ранее не рассматривали идентичность женщин с диагнозом СПКЯ в динамике. Соответственно, нельзя было сделать вывод

о том, насколько устойчивы выявленные особенности и насколько эта устойчивость обусловлена социально-демографическими факторами.

Таким образом, **целью нашего исследования** стало изучение особенностей развития идентичности у женщин с СПКЯ в зависимости от социально-демографических факторов. К последним были отнесены этническая принадлежность, место проживания, уровень образования и семейное положение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в период с сентября 2017 по декабрь 2020 г. Первоначально в нем участвовали 140 женщин репродуктивного возраста, проходивших ежегодный профилактический осмотр на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (Иркутск): 70 из них – с подтверждённым диагнозом СПКЯ на основании Роттердамского консенсуса [16], 70 – без СПКЯ. Спустя год этим женщинам было предложено повторно заполнить бланки психодиагностических методик. В результате были получены повторно полностью заполненные бланки методик 110 женщин (58 из них – с подтверждённым диагнозом СПКЯ, 52 – без СПКЯ).

Всеми женщинами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. При проведении исследования соблюдались принципы, изложенные в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1961); исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Для проведения исследования использовались стандартизированная методика «СЭИ-тест» Е.Л. Солдатовой и соавт. [17] и русскоязычные версии методик «Life Line» [18] и «Twenty Statement Test (TST)» с авторским способом её обработки [19]. При анализе результатов методики «Life Line» учитывалось, какое пространство отводит испытуемая на временной шкале для субъективной репрезентации своего прошлого и будущего (в сантиметрах), а также количество жизненных событий, указываемое в каждом из периодов. При анализе результатов методики «Twenty Statement Test» учитывалась доля самоописаний, относящихся к тому или иному компоненту идентичности.

Статистический анализ

Для статистического анализа использовалось программное обеспечение IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM Corp., США). Для описания количественных данных, имеющих нормальное распределение, использовались показатели среднего арифметического и стандартного отклонения в формате M (SD), для прочих – медиана и квартили Q1 и Q3 в формате Me (Q1; Q3). Результаты методики СЭИ-теста с учётом её стандартизации рассматривались как количественные. D-статистика Колмогорова – Смирнова оказалась статистически незначимой для шкал данной методики. Соответственно, при сравнении полученных при помощи методики «СЭИ-тест» результатов у женщин с СПКЯ и без СПКЯ исполь-

зовался t-критерий Стьюдента для зависимых и независимых групп, а для изучения различий в идентичности женщин с СПКЯ и без него в зависимости от этнической принадлежности, места проживания, уровня образования, семейного статуса – многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с повторными измерениями. При этом из-за неэквивалентного размера подгрупп мы использовали критерий «след Пиллая». Данные, полученные при помощи методики «Твоя линия жизни», рассматривались как условно количественные. Соответственно, при сравнении полученных при помощи неё результатов у женщин с СПКЯ и без СПКЯ использовались U-критерий Манна – Уитни и T-критерий Вилкоксона (указывались нормализованные z-значения, т. к. выборка превосходила 50 испытуемых). Для сравнения доли, занимаемой тем или иным компонентом идентичности у женщин с СПКЯ и без него, использовались критерий χ^2 (с поправкой Йетса) и критерий ф Фишера. Критической величиной уровня статистической значимости считалось $p = 0,01$, статистической значимости на уровне тенденции – $p = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании приняли участие женщины с СПКЯ (основная группа) и без СПКЯ (контрольная группа), практически эквивалентные по полу, семейному статусу, этнической принадлежности, месту проживания и уровню образования (табл. 1).

Сначала мы проанализировали различия в показателях эго-идентичности женщин с СПКЯ (основная группа) и без него (контрольная группа) по методике «СЭИ-тест» (табл. 2).

Согласно полученным данным, на первом году исследования у женщин основной группы более выраженной оказалась Шкала достигнутой идентичности ($t = 2,52$; $p = 0,01$), менее выраженной – Шкала спутанной идентичности ($t = -2,2315$; $p = 0,03$), в сравнении с женщинами из контрольной группы. Это было связано с различиями в следующих субшкалах: Ответственность за выбор ($t = 2,61$, $p = 0,01$ – для Достигнутой идентичности; $t = -2,12$, $p = 0,049$ – для Спутанной идентичности); Сила эго ($t = 2,51$, $p = 0,01$ – для Достигнутой идентичности;

ТАБЛИЦА 1
СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ВЫБОРКИ

TABLE 1
SOCIO-DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF THE SAMPLE

Шкалы	Женщины с СПКЯ (основная группа) (n = 58)	Женщины без СПКЯ (контрольная группа) (n = 52)
Семейный статус, n (%)		
Не замужем	16 (27,5 %)	14 (26,9 %)
Замужем	30 (51,7 %)	29 (55,7 %)
Гражданский брак	9 (15,6 %)	7 (13,5 %)
В разводе	3 (5,2 %)	2 (3,9 %)
Вдовы	0 (0 %)	0 (0 %)
Этническая принадлежность, n (%)		
Русские	38 (65,5 %)	37 (71,2 %)
Бурятки	14 (24,1 %)	12 (23,1 %)
Метисы	6 (10,4 %)	3 (5,7 %)
Место проживания, n (%)		
Город	36 (62 %)	30 (57,6 %)
Село	22 (38 %)	22 (42,4 %)
Уровень образования, n (%)		
Средняя школа	2 (3,5 %)	3 (5,8 %)
Средняя полная школа	8 (13,8 %)	5 (9,6 %)
Среднее специальное образование	4 (6,9 %)	3 (5,8 %)
Высшее образование	39 (67,2 %)	36 (69,2 %)
Послевузовское образование	5 (8,6 %)	5 (9,6 %)

ТАБЛИЦА 2
РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫПОЛНЕНИЯ МЕТОДИКИ «СЭИ-ТЕСТ» –
ПЕРВЫЙ И ВТОРОЙ СРЕЗЫ[#]

TABLE 2
RESULTS OF THE SEI-TEST TECHNIQUE –
FIRST AND SECOND SURVEYS[#]

Шкала	Первый срез					Второй срез				
	Основная группа (n = 58)		Контрольная группа (n = 52)		t	Основная группа (n = 58)		Контрольная группа (n = 52)		t
	M	SD	M	SD		M	SD	M	SD	
Достигнутая идентичность	26,22	7,50	23,68	5,72	2,52**	23,64	5,35	23,39	4,91	-0,12
Спутанная идентичность	12,40	7,02	15,56	6,29	-2,23*	12,45	4,67	16,35	5,54	2,71**
Предрешённая идентичность	11,97	3,47	12,23	3,90	-0,35	13,91	3,75	11,26	4,47	-2,66**

Примечание. [#] – сравнение при помощи t-критерия Стьюдента; * – различия статистически значимы при $p = 0,05$; ** – различия статистически значимы при $p = 0,01$.

ТАБЛИЦА 3
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭГО-ИДЕНТИЧНОСТИ
ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУПП[#]

TABLE 3
DYNAMICS OF INDICATORS OF EGO-IDENTITY
OF THE MAIN AND CONTROL GROUPS[#]

Шкалы	Основная группа					Контрольная группа				
	Первый срез (n = 58)		Второй срез (n = 58)		t	Первый срез (n = 52)		Второй срез (n = 52)		t
	M	SD	M	SD		M	SD	M	SD	
Достигнутая идентичность	26,22	7,50	23,64	5,35	-2,44**	23,68	5,72	23,39	4,91	-0,49
Спутанная идентичность	12,40	7,02	12,45	4,67	0,35	15,56	6,29	16,35	5,54	1,28
Предрешённая идентичность	11,97	3,47	13,91	3,75	2,36**	12,23	3,90	11,26	4,47	-1,76

Примечание. [#] – сравнение при помощи t-критерия Стьюдента; * – различия статистически значимы при $p = 0,05$; ** – различия статистически значимы при $p = 0,01$.

$t = -2,49$, $p = 0,01$ – для Спутанной идентичности); Эмоциональная зрелость ($t = 2,94$, $p = 0,01$ – для Достигнутой идентичности; $t = -3,12$, $p = 0,01$ – для Спутанной идентичности).

На втором году исследования оказалось, что, хотя по уровню выраженности статуса Достигнутой идентичности между женщинами основной и контрольной групп различий при повторном срезе не обнаружено, они сохраняются по уровню выраженности Спутанной идентичности ($t = 2,71$; $p = 0,01$). Более того, они появились в отношении статуса Предрешённой идентичности ($t = -2,66$; $p = 0,01$). Таким образом, спустя год после основного исследования женщины с СПКЯ уже не демонстрируют статистически значимо более выраженный статус Достигнутой эго-идентичности по сравнению с женщинами без СПКЯ, однако по-прежнему демонстрируют меньше проявлений кризиса идентичности, связанного со статусом Спутанной идентичности. Кроме того, различия появились в статусе Предрешённой идентичности: женщины с СПКЯ обнаружили тенденцию принимать статусы идентичности под влиянием внешних обстоятельств, нежели по своей собственной воле. Дополнительный анализ показал, что к основным субшкалам, с которыми связаны отмеченные различия, относятся субшкалы: Сила эго ($t = 2,47$, $p < 0,02$ – для Спутанной идентичности; $t = -2,16$, $p < 0,05$ – для Предрешённой

идентичности), Эмоциональная зрелость ($t = -1,97$, $p < 0,05$ – для Предрешённой идентичности), Соответствие себе ($t = -1,99$, $p < 0,05$ – для Спутанной идентичности).

На втором этапе мы проанализировали динамику эго-идентичности женщин основной и контрольной групп (табл. 3).

Согласно полученным данным, можно говорить о снижении статуса Достигнутой идентичности ($t = -2,44$; $p < 0,01$) и росте уровня Предрешённой идентичности ($t = 2,36$; $p < 0,01$); изменения в уровне Спутанной идентичности оказались статистически не значимыми, хотя сам он повысился.

При этом различия в основном пришлось на такие субшкалы, как Ответственность за выбор ($t = -2,61$, $p < 0,01$ – для Достигнутой идентичности; $t = 2,83$, $p < 0,01$ – для Предрешённой идентичности), Принятие настоящего ($t = -2,55$, $p < 0,01$ – для Достигнутой идентичности; $t = 2,74$, $p < 0,01$ – для Спутанной идентичности; $t = 2,61$, $p < 0,01$ – для Предрешённой идентичности), Осознанность собственных ценностей ($t = -2,38$, $p < 0,01$ – для Достигнутой идентичности; $t = 1,92$, $p < 0,01$ – для Спутанной идентичности; $t = 2,72$, $p < 0,01$ – для Предрешённой идентичности). Таким образом, по сравнению с первоначально полученными результатами женщины с СПКЯ продемонстрировали несколько

более низкий уровень статуса Достигнутой идентичности при одновременном росте уровня Преддрешённой идентичности. Причём основная динамика была связана с принятием ответственности за свои действия, осознанием своих ценностей и принятием настоящего.

При этом показатели эго-идентичности женщин контрольной группы оказались более устойчивыми: анализ их результатов спустя год после первого не обнаружил существенных изменений. Согласно полученным данным, статистически значимые различия зафиксированы только для статуса Преддрешённой идентичности по ряду субшкал, а их динамика является противоречивой ($t = 2,05, p < 0,01$ – для субшкалы «Ответственность за выбор»; $t = -1,99, p < 0,01$ – для субшкалы «Эмоциональная зрелость»).

В целом по результатам анализа изменения параметров эго-идентичности у женщин с СПКЯ и без него можно сделать следующий вывод. Хотя эго-идентичность женщин с диагнозом СПКЯ при повторном исследовании демонстрирует меньше признаков кризиса, однако она оказывается более изменчивой, чем у женщин без СПКЯ. По-видимому, идентичность у женщин с СПКЯ более подвержена внешним обстоятельствам (рост выраженности Преддрешённой идентичности). Возможно, это как раз и является проявлением влияния культуры и социума на идентичность при невозможности воспроизводить некоторые из предписываемых социальных ролей.

Далее мы проанализировали динамику структуры ответов женщин основной и контрольной групп на вопрос методики «TST». Было обнаружено следующее. Женщины с диагнозом СПКЯ продемонстрировали статистически значимый рост такого компонента идентичности, как Личностный (48,45 % и 54,48 %; $\varphi = 2,938; p < 0,01$), и снижение таких компонентов, как Деятельностный (5,26 % и 3,71 %; $\varphi = 1,878; p = 0,05$) и Экзистенциальный (14,83 % и 8,26 %; $\varphi = 4,696; p = 0,01$). Таким образом, можно сделать следующие выводы. По результатам первого среза мы обнаружили, что женщины с диагнозом СПКЯ реже используют при самоописании понятия, относящиеся к гендерной и семейной сфере, и чаще указывают качества своей личности («уверенная», «добрая», «активная») и абстрактные самоописания («человек», «житель планеты Земля»). По результатам второго среза видно, что тенденция женщин с СПКЯ описывать себя в терминах качеств своей личности усилилась, а вот стремление использовать абстрактные самоописания («человек», «житель планеты Земля») снизилось.

Наоборот, по сравнению с первым срезом у женщин без СПКЯ статистически значимая динамика зарегистрирована только по такому компоненту идентичности, как Профессиональный: доля самоописаний, относящихся на него, снизилась с 5,58 % до 3,27 % ($\varphi = 2,577; p < 0,01$) (табл. 4).

При этом, если сравнивать структуру ответов женщин основной и контрольной групп, повторно ответив-

ТАБЛИЦА 4
ПОКАЗАТЕЛИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИСПЫТУЕМЫМИ
ОСНОВНОЙ (ПЕРВЫЙ И ВТОРОЙ СРЕЗЫ, ОБЩЕЕ
ЧИСЛО ОТВЕТОВ ДЛЯ КАЖДОЙ ГРУППЫ – 1160)
И КОНТРОЛЬНОЙ (ПЕРВЫЙ И ВТОРОЙ СРЕЗЫ,
ОБЩЕЕ ЧИСЛО ОТВЕТОВ ДЛЯ КАЖДОЙ ГРУППЫ – 1040)
ГРУПП ПО МЕТОДИКЕ «TST»[#]

TABLE 4
INDICATORS OF PERFORMANCE BY THE SUBJECTS
OF THE MAIN (FIRST AND SECOND SECTIONS,
THE TOTAL NUMBER OF ANSWERS FOR EACH GROUP
IS 1160) AND CONTROL (THE FIRST AND SECOND
SECTIONS, THE TOTAL NUMBER OF ANSWERS
FOR EACH GROUP IS 1040) GROUPS ACCORDING
TO THE TST METHOD[#]

Компонент (% от общего числа ответов)	Основная группа, первый срез (n = 58)		Основная группа, второй срез (n = 58)		φ	Контрольная группа, первый срез (n = 52)		Контрольная группа, второй срез (n = 52)		φ
	n	%	n	%		n	%	n	%	
Поло-ролевой	49	4,22 %	54	4,66 %	0,57	67	6,44 %	56	5,38 %	0,98
Профессиональный	60	5,17 %	70	6,03 %	0,84	58	5,58 %	34	3,27 %	2,57**
Семейный	97	8,36 %	100	8,62 %	0,16	159	15,29 %	180	17,31 %	1,23
Этнический	18	1,55 %	19	1,64 %	0	37	3,56 %	41	3,94 %	0,36
Личностный	565	48,45 %	632	54,48 %	2,93**	445	42,79 %	456	43,85 %	0,45
Коммуникативный	44	3,79 %	58	5,00 %	1,42	37	3,56 %	25	2,40 %	1,61
Деятельностный	61	5,26 %	43	3,71 %	1,87	49	4,71 %	44	4,23 %	0,54
Перспективный	7	0,60 %	4	0,34 %	1,87*	2	0,19 %	1	0,10 %	0,59
Групповой	87	7,50 %	80	6,90 %	0,55	67	6,44 %	76	7,31 %	0,79
Экзистенциальный	172	14,83 %	100	8,62 %	4,69**	119	11,44 %	127	12,21 %	0,57

Примечание. [#] – сравнение при помощи φ -критерия; * – различия статистически значимы при $p = 0,05$; ** – различия статистически значимы при $p = 0,01$.

ших на вопрос методики «TST», можно увидеть следующее. Женщины с диагнозом СПКЯ демонстрируют меньшую выраженность таких компонентов идентичности, как семейный (8,62 % и 17,31 %; $\chi^2 = 37,256$; $p = 0,01$), этнический (1,64 % и 3,94 %; $\chi^2 = 10,976$; $p = 0,01$) и экзистенциальный (8,62 % и 12,21 %; $\chi^2 = 7,641$; $p = 0,01$). При этом у женщин с СПКЯ больше выражены профессиональный (6,03 % и 3,27 %; $\chi^2 = 9,31$; $p = 0,003$), личностный (54,48 % и 43,85 %; $\chi^2 = 24,819$; $p = 0,001$), коммуникативный (5 % и 2,4 %; $\chi^2 = 10,181$; $p = 0,001$) компоненты идентичности (табл. 5).

Таким образом, женщины с диагнозом СПКЯ по сравнению с женщинами без СПКЯ стабильно реже используют при самокатегоризации понятия, относящиеся к семейной сфере, что компенсируется более частным использованием качеств личности («уверенная», «добрая», «активная») при самоописании. Остальные особенности в самоописании оказываются менее устойчивыми (поло-ролевой компонент), а зачастую меняются на прямо противоположные (экзистенциальный, этнический компоненты).

В целом можно заключить следующее. Женщины с диагнозом СПКЯ, имеющие затруднение в принятии роли женщины, как её воспринимает основная часть социума (роль матери, возлюбленной, имеющей внешность, традиционно воспринимаемую как «красивую»), избегают описывать себя в соответствующих категориях, делая при этом акцент на личностных качествах. При этом, как и в случае с показателями эго-идентичности, наблюдается более выраженная динамика структуры идентичности, чем у женщин контрольной группы; женщины с СПКЯ, таким образом, обнаруживают менее устойчивую и более динамичную структуру идентичности.

Наконец, мы проанализировали результаты повторного выполнения методики «Life Line». Учитывались такие параметры методики, как фиксация своего «здесь и сейчас» предложенной линии, количество событий, относимых испытуемым к своему прошлому и будущему. События оценивались при помощи авторского классификатора для изучения идентичности, первоначально разработанного для анализа методики «TST» [19].

При первом срезе оказалось, что репрезентация своего «прошлого» как более насыщенного событиями, а «будущего» как более неопределённого выше у испытуемых с СПКЯ. Показатели выполнения испытуемыми основной и контрольной групп методики «Твоя линия жизни» были следующими. По сравнению с первым срезом статистически значимыми оказались различия по репрезентации прошлых событий: женщины с СПКЯ репрезентируют его как больший отрезок своей жизни ($Me = 5,2$ (3,5; 7,1) см против $Me = 3,2$ (2,5; 6) см; $U = 1011$; $p = 0,03$), а также указывают большее число событий ($Me = 4$ (3; 6) против $Me = 2$ (1; 3); $U = 983$; $p = 0,01$). При этом при репрезентации будущего различия приходятся только на отрезок, отводимый ему ($Me = 5,4$ (2,3; 8,5) см против $Me = 7,1$ (4,5; 10) см; $U = 992$; $p = 0,01$) (табл. 6).

Сравнивая структуру ответов женщин основной и контрольной групп при первом и втором срезах можно отметить следующую тенденцию. Женщины с диагнозом СПКЯ по сравнению с женщинами без СПКЯ стабильно больше внимания отводят реконструированию прошлых событий своей жизни и – отчасти – продолжительности будущего периода своей жизни. Остальные особенности в репрезентации своей жизни оказались менее устойчивыми.

ТАБЛИЦА 5
СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОСНОВНОЙ
И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУПП (ВТОРОЙ СРЕЗ)
ПО МЕТОДИКЕ «TST»[#]

Компоненты (% от общего числа ответов)	Основная группа (n = 58)		Контрольная группа (n = 52)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Поло-ролевой	54	4,66 %	56	5,38 %	0,614	> 0,05
Профессиональный	70	6,03 %	34	3,27 %	9,310	0,003
Семейный	100	8,62 %	180	17,31 %	37,256	< 0,001
Этнический	19	1,64 %	41	3,94 %	10,976	< 0,001
Личностный	632	54,48 %	456	43,85 %	24,819	< 0,001
Коммуникативный	58	5,00 %	25	2,40 %	10,181	0,002
Деятельностный	43	3,71 %	44	4,23 %	0,396	> 0,05
Перспективный	4	0,34 %	1	0,10 %	1,495	> 0,05
Групповой	80	6,90 %	76	7,31 %	0,141	> 0,05
Экзистенциальный	100	8,62 %	127	12,21 %	7,641	0,006

Примечание. [#] – сравнение при помощи критерия χ^2 .

TABLE 5
COMPARISON OF THE RESULTS OF THE MAIN
AND CONTROL GROUPS (SECOND SURVEY)
ACCORDING TO THE TST METHOD[#]

Динамика самих показателей оказалась при этом незначительной (табл. 7). По сравнению с первым срезом статистически значимо изменился только средний возраст, после которого испытуемые перестают планировать свою жизнь – т. н. конец событийного периода: он вырос с 55,1 до 59,1 года ($T = 1,99$; $p = 0,05$). При этом у женщин без диагноза СПКЯ, повторно выполнивших методику «Life Line», статистически значимых изменений в показателях обнаружено не было.

Таким образом, можно сделать следующий вывод. В целом женщины с диагнозом СПКЯ по сравнению с женщинами без СПКЯ стабильно больше внимания отводят реконструированию прошлых событий своей жизни и –

отчасти – продолжительности будущего периода своей жизни. Это согласуется с ростом у них статуса Предре- шённой эго-идентичности, который, по мнению Е.Л. Сол- датовой и соавт., отличается попыткой пересмотра сво- его прошлого и/или идеализацией будущего без внима- ния к настоящему [17].

На заключительном этапе мы проанализировали влияние различных социально-демографических факто- ров на идентичность женщин репродуктивного возрас- та с диагнозом СПКЯ и без него в динамике. Мы исполь- зовали многофакторный дисперсионный анализ с по- вторными измерениями, чтобы установить, влияют ли эт- ническая принадлежность, место проживания, уровень

ТАБЛИЦА 6
СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОСНОВНОЙ
И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУПП (ВТОРОЙ СРЕЗ)
ПО МЕТОДИКЕ «LIFE LINE»[#]

Показатели			Основная группа (n = 58)	Контрольная группа (n = 52)	U	p
Субъективная репрезентация прошлого	Расстояние	Me	5,2	3,2	1011	0,03
		Q1; Q3	3,5; 7,1	2,5; 6		
	Число событий	Me	4	2	984	0,01
		Q1; Q3	3; 6	1; 3		
Субъективная репрезентация будущего	Расстояние	Me	5,4	7,1	992	0,01
		Q1; Q3	2,3; 8,5	4,5; 10		
	Число событий	Me	5,5	6	1688	> 0,05
		Q1; Q3	2,5; 7,5	3; 8		
Конец событийного периода		Md	59,1	66,5	1454	> 0,05

Примечание. [#] – сравнение при помощи U-критерия Манна – Уитни.

TABLE 6
COMPARISON OF THE RESULTS OF THE MAIN
AND CONTROL GROUPS (SECOND SURVEY)
ACCORDING TO THE LIFE LINE METHOD[#]

ТАБЛИЦА 7
ПОКАЗАТЕЛИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИСПЫТУЕМЫМИ
ОСНОВНОЙ ГРУППЫ МЕТОДИКИ «LIFE LINE»
(ПЕРВЫЙ И ВТОРОЙ СРЕЗЫ)[#]

Показатели			Основная группа		W	Контрольная группа		W
			первый срез	второй срез		первый срез	второй срез	
Субъективная репрезентация прошлого	Расстояние	Me	5,5	5,2	1,08	3,2	3,8	1,21
		Q1; Q3	4; 6,7	3,5; 7,1		2,5; 6	3; 7	
	Число событий	Me	4	4	0,34	2	3	0,87
		Q1; Q3	3; 6	4; 6		1; 3	1,5; 4	
Субъективная репрезентация будущего	Расстояние	Me	5,1	5,4	0,67	7,1	7,3	0,69
		Q1; Q3	2,5; 8,5	2,3; 8,5		4,5; 10	4; 9	
	Число событий	Me	5	5,5	0,95	6	6	0,44
		Q1; Q3	2; 7	2,5; 7,5		3; 8	3; 9	
Конец событийного периода		Md	55,1	59,1	1,99*	66,5	67,1	0,94

Примечание: [#] – сравнение при помощи T-критерия Вилкоксона; * – различия статистически значимы при $p = 0,05$; ** – различия статистически значимы при $p = 0,01$.

образования и семейный статус на уровень идентичности женщин. При этом из-за неэквивалентного размера подгрупп мы использовали критерий «след Пиллая».

Согласно полученным данным, не было обнаружено какого-либо влияния этнической принадлежности на уровень выраженности эго-идентичности (след Пиллая = 0,324; $p = 0,1$). Уровень образования также не влияет на выраженность эго-идентичности (след Пиллая = 0,10; $p = 0,1$).

Вместе с тем оказалось, что, как и при первом срезе, статус идентичности зависит от семейного положения женщин (след Пиллая = 2,11; $p = 0,01$). Апостериорный анализ с поправкой Бонферрони также показал, что основные различия связаны с женщинами, находящимися в браке: у незамужних женщин с диагнозом СПКЯ сохраняются большая выраженность Спутанной идентичности ($(I-J) = -2,44$; $p = 0,015$) и меньшая выраженность Достигнутой идентичности ($(I-J) = -2,08$; $p = 0,03$), чем у замужних женщин. При этом, хотя на всей выборке испытуемых женщин с СПКЯ произошло изменение выраженности Предреши́нной идентичности, мы не обнаружили влияния семейного положения на данный статус идентичности.

Устойчивым оказалось и различие в выраженности статуса Достигнутой идентичности у городских женщин с диагнозом СПКЯ по сравнению с женщинами из сельской местности ($t = 2,8$; $p = 0,01$). При этом выраженность у последних Спутанной идентичности при повторном срезе оказалась статистически не значимой.

Мы не обнаружили влияния фактора повторных измерений на показатели эго-идентичности женщин ни самого по себе (след Пиллая = 0,38; $p = 0,08$), ни в связи с факторами этнической принадлежности, уровня образования и семейного статуса.

Анализ влияния социально-демографических факторов на особенности эго-идентичности у женщин репродуктивного возраста без СПКЯ, относящихся к контрольной группе, при повторном срезе показал, что различие между женщинами в зависимости от их этнической принадлежности сохраняется и приходится на шкалы Достигнутой и Спутанной идентичности ($t = 2,6$ и $t = 2,4$ соответственно; $p = 0,01$) для представительниц русской и бурятской национальностей: у последних уровень Спутанной идентичности оказался выше, а уровень Достигнутой – ниже. При этом, как и в случае с женщинами с подтверждённым диагнозом СПКЯ мы не обнаружили влияния фактора повторных измерений на показатели эго-идентичности женщин как самого по себе (след Пиллая = 0,39; $p = 0,08$), так и в связи с другими факторами.

Таким образом, подтвердилась тенденция, согласно которой у женщин репродуктивного возраста с диагнозом СПКЯ на уровень эго-идентичности влияют место проживания и семейный статус, а у женщин без соответствующего диагноза – этнический статус.

Далее мы проанализировали то, каким образом влияют социально-демографические факторы на результаты женщин репродуктивного возраста с диагнозом СПКЯ, по методике «Двадцать утверждений». По резуль-

татам первого среза оказалось, что на структуру самоописаний женщин с СПКЯ и без него влияют как этническая принадлежность и место проживания, так и уровень образования и семейное положение, однако различным образом. При анализе результатов повторного среза у женщин репродуктивного возраста с диагнозом СПКЯ, полученных по методике «Двадцать утверждений», подтвердились не все ранее выявленные тенденции. Так, женщины-бурятки сравнительно чаще указывают на свою этническую принадлежность (4 % и 0,6 %; $\chi^2 = 16,6$; $p = 0,01$) и подчёркивают свой семейный статус (10,8 % и 5,2 %; $\chi^2 = 9,68$; $p = 0,02$). Однако при этом мы не зафиксировали статистически значимой динамики данного компонента идентичности: доля ответов, приходящихся на статус семейной идентичности, несколько снизилась у женщин русской национальности и осталась неизменной у женщин-буряток.

Как и в первом срезе, женщины с высшим образованием чаще отмечают свою профессиональную принадлежность (7,1 % и 3,7 %; $\chi^2 = 4,88$; $p = 0,02$), чем испытуемые с более низким его уровнем, и указывают сравнительно больше личностных характеристик (61,2 % и 45,1 %; $\chi^2 = 26,8$; $p = 0,01$). При этом в последнем случае у женщин с СПКЯ с высшим образованием статистически значимо повысилась доля ответов, приходящихся на личностные характеристики (с 55,1 % до 61,2 %; $\chi^2 = 30,2$; $p = 0,01$). Получается, что уровень образования влияет на динамику структуры идентичности в этом аспекте.

Сохраняются и различия в выраженности семейной идентичности у женщин в браке и вне его (12,2 % против 5,6 % для холостых женщин; $\chi^2 = 12,8$; $p = 0,01$), однако динамики показателей мы не зафиксировали; при этом особенности, присущие женщинам в гражданском браке, оказываются статистически не значимы. Наконец, при повторном срезе не обнаружили различия в самоописании женщин, проживающих в городской и сельской местности.

Анализ результатов повторного среза подтвердил, что женщины, входящие в контрольную группу, в зависимости от принадлежности к русскому или бурятскому этносу отличаются по выраженности этнического (1,8 % против 4,9 % у представительниц бурятского этноса; $\chi^2 = 7,15$; $p = 0,01$) и личностного (46,8 % против 41,7 % у представительниц бурятского этноса; $\chi^2 = 5,04$; $p = 0,03$) компонентов. При этом, как и в случае с женщинами, относящимися к основной группе, мы не обнаружили различий в самоописании, связанных с местом проживания – в городе или в сельской местности. Статистически значимой динамики в показателях структуры идентичности мы также не обнаружили.

Таким образом, у женщин репродуктивного возраста с диагнозом СПКЯ особенность самоописания определяет большее число внешних факторов, чем у женщин без соответствующего диагноза. В первую очередь, они затрагивают семейный и личностный компоненты, характеризуя, на наш взгляд, сферы, наиболее важные для женщин. У женщин репродуктивного возраста без диагноза СПКЯ самокатегоризации в терминах семейной принадлежности также оказывается детерми-

нированной социально-демографическими факторами, однако в меньшей степени.

Выявленные особенности присутствуют в обоих проведенных срезах, что позволяет сделать вывод об их устойчивости. Однако при этом нельзя сделать однозначного вывода, что социально-демографические факторы существенно определяют динамику идентичности.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании изучались особенности динамики идентичности у женщин с СПКЯ и их социально-психологические детерминанты. При этом изучалась идентичность как система, а не какой-либо один из её компонентов. Во всех известных нам работах обычно исследуется гендерный компонент либо семейные роли женщин и не обсуждается, чем они заменяются в случае невозможности их исполнения.

Нами были установлены особенности динамики идентичности женщин с диагнозом СПКЯ по сравнению с их сверстницами без соответствующего диагноза. Эго-идентичность таких женщин оказывается более подвижной и, предположительно, менее устойчивой за счёт того, что они меньше, чем обычные женщины, склонны описывать себя в традиционных ролях – гендерных и семейных. Однако при этом выраженность кризисных проявлений в идентичности у них меньше. При этом нельзя однозначно заключить, какие социально-демографические факторы влияют на динамику идентичности женщин с СПКЯ: мы зафиксировали различия, связанные с уровнем образования и затрагивающие существенный, но не единственный компонент в структуре идентичности – личностный.

Наши результаты расходятся с другими работами (например, [20]): так, мы не обнаружили обеднения, временной перспективы таких женщин, снижение восприятия их будущего. Хотя при репрезентации последнего женщины репродуктивного возраста с диагнозом СПКЯ отводят будущему сравнительно меньше места, однако при этом различий в насыщенности его событиями не наблюдается. Данная особенность сохраняется и при повторном изучении особенностей идентичности, проведённом спустя год. Возможно, такое несоответствие связано с тем, что мы не рассматривали только бесплодных женщин с СПКЯ, хотя именно женское бесплодие являлось ключевым в исследовании Х.В. Бежиной.

Мы, вслед за F. Nasiri Amiri et al. [8], обнаружили, что у женщин с СПКЯ происходит снижение гендерной роли. Однако это не означает каких-либо переживаний женщин с СПКЯ по данному вопросу – во всяком случае, на уровне выраженности проявления кризиса идентичности.

Вслед за F. Brunner et al. [12], K. Krupp et al. [9] мы также можем сделать вывод, что женщины с СПКЯ имеют трудности с ролью матери: это выражается в снижении выраженности семейного компонента

в структуре идентичности. Однако мы не можем сделать вывод, насколько сильно данный опыт переживается женщинами.

Безусловно, женщины с СПКЯ переживают дополнительную психологическую нагрузку на свою идентичность, поскольку, очевидно, не могут реализовывать весь спектр социальных ролей, предписываемых женщинам. Однако «тяжесть» этой нагрузки будет зависеть от ряда социально-демографических факторов. Если в традиционной культуре, согласно S. Buddhavarapu [6], такая женщина будет стигматизирована, то в культурах более светских, согласно E. Morotti et al. [11], она, наоборот, может и не почувствовать каких-либо нарушений своей самооценки. Значение имеют, очевидно, доступный репертуар ролей: чем он шире, тем больше возможностей для формирования позитивной идентичности есть у женщин.

Современное российское общество при всей его неоднородности и сложности, очевидно, обеспечивает женщинам широкий набор возможностей для реализации. Это объясняет выявленные нами особенности идентичности женщин-россиянок с СПКЯ, где, с одной стороны, кризисные проявления выражены даже меньше, чем у женщин без СПКЯ, и нет обеднения временной перспективы. Однако мы исследовали преимущественно женщин с высшим и послевузовским образованием; такой уровень образования позволяет претендовать на различные общественные статусы, а не только на традиционные для женщин роли жены и матери. Можно предположить, что женщины с более низким образованием и меньшими возможностями реализации (например, проживающие в сельской местности), демонстрировали бы другую динамику идентичности, хотя этого и не было обнаружено в нашем исследовании.

Также сохраняется вопрос о большей изменчивости идентичности женщин с СПКЯ. Это может быть связано с особенностями переживания такими женщинами своей идентичности, что, безусловно, сложно зафиксировать простыми замерами кризисных явлений в идентичности. Можно предположить, что женщины с СПКЯ, по сравнению с обычными женщинами, используют определённые защитные механизмы и стратегии совладания. В таком случае представляется целесообразным изучить связь стратегий совладающего поведения и идентичности женщин с СПКЯ.

Полученные в данном исследовании результаты могут быть использованы при консультации женщин с СПКЯ со стороны как клинических психологов, так и других медицинских специалистов. Как показывают результаты исследований, в ряде случаев женщины испытывают психологический дискомфорт при невозможности реализации определённых социальных ролей («действительно ли я являюсь женщиной, если у меня гирсутизм?», «если я не могу родить, являюсь ли я настоящей женщиной?») [7]. Разъяснение женщинам с СПКЯ возможностей использования других ролей для самореализации, а также факторов, способствующих или препятствующих реализации таких ролей, может быть сделано по результатам данного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ограничения

Следует отметить ряд особенностей данного исследования, которые не позволяют считать его окончательным. Прежде всего, на момент начала исследования у нас не было данных о том, является ли постановка диагноза СПКЯ для женщин первичной либо они уже были знакомы с данным диагнозом. Такая информация, безусловно, может повлиять на самооценку и привести к пересмотру идентичности. Не вычленив на первом этапе группу женщин, которым диагноз СПКЯ был поставлен впервые, мы не могли таким образом проследить динамику идентичности именно таких испытуемых – предположительно, она отличалась бы большей изменчивостью.

Кроме того, проводя исследование, на данном этапе мы ограничились только двумя срезами, проведёнными с интервалом в 1–1,5 года. Такой промежуток времени, с одной стороны, может позволить сделать вывод об устойчивости тех или иных особенностей идентичности, однако не вполне позволяет проследить именно динамику идентичности и, возможно, её зависимость от социально-демографических факторов. Мы планируем провести ещё один срез в рамках данного исследования, чтобы точнее установить, как развивается идентичность у женщин с СПКЯ в зависимости от социodemографических факторов. Мы также планируем добавить ещё один фактор – наличие либо отсутствие детей у женщин с СПКЯ, что, по нашему мнению, позволит точнее понять особенности и динамику семейного компонента идентичности женщин. Наконец, представляется целесообразным изучить связь стратегий совладающего поведения и идентичности женщин с СПКЯ.

По результатам исследования можно сделать следующие выводы.

1. Женщины с диагнозом СПКЯ устойчиво демонстрируют меньше признаков кризиса идентичности, чем женщины без СПКЯ. Это достигается за счёт принятия большей ответственности за свой выбор, а также за счёт лучшего понимания своих эмоций и контроля над ними.
2. Устойчивой особенностью идентичности женщин с диагнозом СПКЯ является использование при самокатегоризации понятий, относящихся к качествам личности, а не к гендерной и семейной сферам.
3. У женщин с СПКЯ особенность самоописания определяет в целом большее число внешних факторов, чем у женщин без соответствующего диагноза. В первую очередь, различия затрагивают семейный и личностный компоненты, характеризуя, на наш взгляд, сферы, наиболее важные для женщин. У женщин репродуктивного возраста без диагноза СПКЯ самокатегоризация в терминах семейной принадлежности также оказывается детерминированной социально-демографическими факторами, однако в меньшей мере.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Chernukha G, Diamond MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: Systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril*. 2016; 106(06): 1510-1520. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1121
2. Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2016; 106(01): 6-15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.05.003
3. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased risk for abnormal depression scores in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and metaanalysis. *Obstet Gynecol*. 2011; 117: 145-152. doi: 10.1097/AOG.0b013e318202b0a4
4. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased prevalence of anxiety symptoms in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012; 97: 225-230. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.02
5. Chaudhari A, Mazumdar K, Mehta P. Anxiety, depression, and quality of life in women with polycystic ovarian syndrome. *Indian J Psychol Med*. 2018; 40(3): 239-246. doi: 10.4103/ijpsym.ijpsym_561_17
6. Buddhavarapu S. Bearding, balding and infertile: Polycystic ovary syndrome (PCOS) and nationalist discourse in India. *J Med Humanit*. 2020; 41: 411-427. doi: 10.1007/s10912-019-09567-9
7. Kowalczyk R, Skrzypulec V, Lew-Starowicz Z, Nowosielski K, Grabski B, Merk W. Psychological gender of patients with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2012; 91(6): 710-714. doi: 10.1111/j.1600-0412.2012.01408.x
8. Nasiri Amiri F, Ramezani Tehrani F, Simbar M, Mohammadpour Thamtan RA, Shiva N. Female gender scheme is disturbed by polycystic ovary syndrome: A qualitative study from Iran. *J Iran Red Crescent Med*. 2014; 16(2): e12423. doi: 10.5812/ircmj.12423
9. Krupp K, Brunner F, Fliegner M, Rall K, Brucker S, Briken P, et al. Fragebogen zum Erleben der eigenen Weiblichkeit (FB-W): Ergebnisse von Frauen mit Mayer – Rokitsky – Küster – Hauser Syndrom und Frauen mit polyzystischem Ovarsyndrom. *Psychotherapie Psychosomatik Medizinische Psychologie*. 2013; 63(08): 334-340. doi: 10.1055/s-0032-133328
10. Williams S, Sheffield D, Knibb RC. "Everything's from the inside out with PCOS": Exploring women's experiences of living with polycystic ovary syndrome and co-morbidities through Skype™ interviews. *Health Psychol Open*. 2015; 2(2): 205510291560305. doi: 10.1177/2055102915603051
11. Morotti E, Persico N, Battaglia B, Fabbri R, Meriggiola MC, Venturoli S, et al. Body imaging and sexual behavior in lean women with polycystic ovary syndrome. *J Sex Med*. 2013; 10(11): 2752-2760. doi: 10.1111/jsm.12284
12. Brunner F, Fliegner M, Krupp K, Rall K, Brucker S, Richter-Appelt H. Gender role, gender identity and sexual orientation in CAIS ("XY-Women") compared with subfertile and infertile 46, XX Women. *J Sex Res*. 2015; 53(1): 109-124. doi: 10.1080/00224499.2014.1002124
13. Manlove HA, Guillermo C, Gray PB. Do women with polycystic ovary syndrome (PCOS) report differences

in sex-typed behavior as children and adolescents: Results of a pilot study. *Ann Hum Biol.* 2008; 35(6): 584-595. doi: 10.1080/03014460802337067

14. Кузьмин М.Ю., Сутурина Л.В. Особенности идентичности у женщин с синдромом поликистозных яичников. *Acta biomedica scientifica.* 2018; 3(3): 155-159. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.24

15. Marianian AY, Kuzmin MY, Markova DP. Ego-identity of women in the reproductive age with PCOS and their socio-demographic determinants. *J Pharm Res Int.* 2020; 32(23): 93-101. doi: 10.9734/jpri/2020/v32i2330794

16. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Lergo R. Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2011; 27(1): 14-24.

17. Солдатова Е.Л., Шевченко А.А. Динамика профессиональных деструкций в соотношении с динамикой идентичности у представителей социальной и производственной сфер деятельности. *Вестник ЮЖГУ. Серия «Психология».* 2012; 45: 32-37.

18. Лидерс А.Г. *Психологическое обследование семьи.* М.: Академия; 2008.

19. Кузьмин М.Ю., Гусев А.Н., Конопаков И.А. Связь гендерной идентичности и жизнестойкости у студентов, обучающихся в ВУЗе. *Вестник Забайкальского государственного университета.* 2011; 1: 58-62.

20. Бежина Х.В. Социальная идентичность женщин в ситуации бесплодия. *Известия Уральского государственного университета. Серия 1: Проблемы образования, науки и культуры.* 2010; 6(85, Ч 2): 117-121.

REFERENCES

1. Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Chernukha G, Diamond MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: Systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril.* 2016; 106(06): 1510-1520. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1121

2. Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavriloja-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2016; 106(01): 6-15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.05.003

3. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased risk for abnormal depression scores in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and metaanalysis. *Obstet Gynecol.* 2011; 117: 145-152. doi: 10.1097/AOG.0b013e318202b0a4

4. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased prevalence of anxiety symptoms in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012; 97: 225-230. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.02

5. Chaudhari A, Mazumdar K, Mehta P. Anxiety, depression, and quality of life in women with polycystic ovarian syndrome. *Indian J Psychol Med.* 2018; 40(3): 239-246. doi: 10.4103/ijpsym.ijpsym_561_17

6. Buddhavarapu S. Bearding, balding and infertile: Polycystic ovary syndrome (PCOS) and nationalist discourse in India. *J Med Humanit.* 2020; 41: 411-427. doi: 10.1007/s10912-019-09567-9

7. Kowalczyk R, Skrzypulec V, Lew-Starowicz Z, Nowosielski K, Grabski B, Merk W. Psychological gender of patients with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012; 91(6): 710-714. doi: 10.1111/j.1600-0412.2012.01408.x

8. Nasiri Amiri F, Ramezani Tehrani F, Simbar M, Mohamadpour Thamtan RA, Shiva N. Female gender scheme is disturbed by polycystic ovary syndrome: A qualitative study from Iran. *J Iran Red Crescent Med.* 2014; 16(2): e12423. doi: 10.5812/ircmj.12423

9. Krupp K, Brunner F, Fliegner M, Rall K, Brucker S, Briken P, et al. Fragebogen zum Erleben der eigenen Weiblichkeit (FB-W): Ergebnisse von Frauen mit Mayer – Rokitansky – Küster – Hauser Syndrom und Frauen mit polyzystischem Ovarsyndrom. *Psychotherapie Psychosomatik Medizinische Psychologie.* 2013; 63(08): 334-340. doi: 10.1055/s-0032-133328

10. Williams S, Sheffield D, Knibb RC. "Everything's from the inside out with PCOS": Exploring women's experiences of living with polycystic ovary syndrome and co-morbidities through Skype™ interviews. *Health Psychol Open.* 2015; 2(2): 205510291560305. doi: 10.1177/2055102915603051

11. Morotti E, Persico N, Battaglia B, Fabbri R, Meriggiola MC, Venturoli S, et al. Body imaging and sexual behavior in lean women with polycystic ovary syndrome. *J Sex Med.* 2013; 10(11): 2752-2760. doi: 10.1111/jsm.12284

12. Brunner F, Fliegner M, Krupp K, Rall K, Brucker S, Richter-Appelt H. Gender role, gender identity and sexual orientation in CAIS ("XY-Women") compared with subfertile and infertile 46, XX Women. *J Sex Res.* 2015; 53(1): 109-124. doi: 10.1080/00224499.2014.1002124

13. Manlove HA, Guillermo C, Gray PB. Do women with polycystic ovary syndrome (PCOS) report differences in sex-typed behavior as children and adolescents: Results of a pilot study. *Ann Hum Biol.* 2008; 35(6): 584-595. doi: 10.1080/03014460802337067

14. Kuzmin MY, Suturina LV. Investigation of identity's peculiarities of the women with PCOS. *Acta biomedica scientifica.* 2018; 3(3): 155-159. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.24

15. Marianian AY, Kuzmin MY, Markova DP. Ego-identity of women in the reproductive age with PCOS and their socio-demographic determinants. *J Pharm Res Int.* 2020; 32(23): 93-101. doi: 10.9734/jpri/2020/v32i2330794

16. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Lergo R. Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2011; 27(1): 14-24.

17. Soldatova EL, Shevchenko AA. The dynamics of professional destruction in relation to the dynamics of identity among representatives of the social and industrial spheres. *Bulletin of the South Ural State University. Series "Psychology".* 2012; 45: 32-37. (In Russ.).

18. Liders AG. *Psychological examination of the family.* Moscow: Akademiya; 2008. (In Russ.).

19. Kuzmin MYu, Gusev AN, Konopak IA. The relation of gender identity and hardness of the girls-students at a higher school. *Transbaikalian State University Journal.* 2011; 1: 58-62. (In Russ.).

20. Bezgina CV. Social identity of women in the infertility situation. *Izvestia of Ural Federal University journal. series 1. issues in education, science and culture.* 2010; 6(85, Ч 2): 117-121. (In Russ.).

Сведения об авторах

Кузьмин Михаил Юрьевич – кандидат психологических наук, доцент, и. о. научного сотрудника лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mirroy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7538-8375>

Марьян Анаит Юрьевна – доктор медицинских наук, доцент, руководитель лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: anait_24@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9544-2172>

Сутурина Лариса Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Information about the authors

Mikhail Yu. Kuzmin – Cand. Sc. (Psychol.), Docent, Acting Research Officer at the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproductive Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mirroy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7538-8375>

Anait Yu. Marianian – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproductive Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: anait_24@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9544-2172>

Larisa V. Suturina – Dr. Sc. (Med.) Professor, Head of the Department of Reproductive Health Protection, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ПОДОШВЕННОГО АПОНЕВРОЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ФАСЦИОПАТИИ СИНТЕТИЧЕСКИМ АНАЛОГОМ ПРОСТОГЛАНДИНА E1

Силантьев В.Н.¹,
Дзюба Г.Г.¹,
Маркелова М.В.¹,
Ерофеев С.А.¹,
Турушев М.А.¹,
Чернигова С.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (644099, г. Омск, ул. Ленина, 12, Россия)

² ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина» (644008, г. Омск, Институтская пл. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дзюба Герман Григорьевич,
e-mail: germanort@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Хронический подошвенный фасциопатический болевой синдром является патологией, существенно влияющей на качество жизни пациентов всех возрастных категорий. Недостаточная изученность этиологических и патогенетических факторов развития фасциопатий объясняет множественность, а порой и противоречивость схем консервативного и оперативного лечения. Выбор оптимального варианта терапевтического или хирургического воздействия может быть связан с экспериментальным моделированием фасциопатий и изучением особенностей динамики патологического процесса.

Цель исследования. Изучить морфологические изменения структур, тождественных подошвенному апоневрозу человека, при экспериментальном моделировании фасциопатии у животных.

Методы исследования. Материалом для исследования служили фрагменты сухожильно-апоневротического комплекса стопы лабораторных животных (контрольная группа: животные с введением физиологического раствора хлорида натрия ($n = 12$); основная группа: животные с введением алпростадилла ($n = 12$)). Использованы методы световой микроскопии (окраска альциановым и толуидиновым синим, по Ван-Гизону, Вейгерту – Ван-Гизону и Пикро-Маллори) и морфометрии.

Результаты и обсуждение. В результате исследования установлено, что четырёхкратное введение алпростадилла оказывало существенное влияние на структуру плотной волокнистой соединительной ткани подошвенного отдела стопы лабораторных животных. Активизировались механизмы повреждения (отёк, микрокровоизлияния, инфильтрация лимфоцитами, плазмócитами и лейкоцитами, дистрофия по типу мукоидного и фибриноидного набухания, разволокнение и разрывы коллагеновых волокон), адаптации и регенерации (появление большого количества активированных фиброцитов, фибробластов, микрососудов, новообразование коллагеновых волокон). Всё это в совокупности приводило к пространственным очаговым гистотопографическим изменениям, заключающимся в увеличении клеточного состава соединительнотканых структур на фоне заметного нарушения их пространственной ориентации.

Заключение. Моделирование фасциопатии с помощью алпростадилла сопровождалось появлением мозаичных обратимых и необратимых гетероморфных и гетерохронных изменений всех соединительнотканых апоневротических структур. Подобные гистотопографические изменения необходимо рассматривать как одну из причин клинических проявлений подошвенных фасциопатий, вызывающих функциональную недостаточность и объясняющую клинический рецидивирующий характер патологического процесса.

Ключевые слова: гистология, подошвенный апоневроз, фасциопатия, алпростадилл, лабораторные животные, моделирование

Для цитирования: Силантьев В.Н., Дзюба Г.Г., Маркелова М.В., Ерофеев С.А., Турушев М.А., Чернигова С.В. Морфофункциональная реорганизация подошвенного апоневроза при экспериментальном моделировании фасциопатии синтетическим аналогом простагландина E1. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 242-252. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.24

Статья получена: 10.12.2021

Статья принята: 25.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

MORPHOFUNCTIONAL REORGANIZATION OF PLANTAR APONEUROSIS IN EXPERIMENTAL MODELING OF FASCIOPATHY BY SYNTHETIC ANALOGUE OF PROSTAGLANDIN E1

Silantyev V.N.¹,
Dzyuba G.G.¹,
Markelova M.V.¹,
Erofeev S.A.¹,
Turushev M.A.¹,
Chernigova S.V.²

¹ Omsk State Medical University
(Lenina str. 12, Omsk 644099,
Russian Federation)

² Omsk State Agrarian University
(Institutskaya square 1, Omsk 644008,
Russian Federation)

Corresponding author:
German G. Dzyuba,
e-mail: germanort@mail.ru

ABSTRACT

Foundation. Chronic plantar fasciopathic pain syndrome is a pathology that significantly affects the quality of life of patients of all age categories. Insufficient knowledge of the etiological and pathogenetic factors in the development of fasciopathies explains the multiplicity, and sometimes inconsistency, of conservative and surgical treatment regimens. The choice of the optimal variant of therapeutic or surgical intervention may be associated with experimental modeling of fasciopathies and the study of the dynamics of the pathological process.

The aim. To study the morphological changes in structures identical to the human plantar aponeurosis in experimental modeling of fasciopathy in animals.

Research methods. The material for the study was fragments of the tendon-aponeurotic complex of the foot of laboratory animals (control group: animals with the introduction of physiological sodium chloride solution ($n = 12$); main group: animals with the introduction of alprostadil ($n = 12$)). The methods of light microscopy (staining with alcian and toluidine blue, according to Van Gieson, Weigert – Van Gieson and Picro-Mallory) and morphometry were used.

Results and discussion. As a result of the study, it was found that the four-fold administration of alprostadil had a significant effect on the structure of the dense fibrous connective tissue of the plantar foot of laboratory animals. The mechanisms of damage (edema, microhemorrhages, infiltration by lymphocytes, plasmocytes and leukocytes, dystrophy by the type of mucoid and fibrinoid swelling, delamination and rupture of collagen fibers), adaptation and regeneration (the appearance of a large number of activated fibrocytes, fibroblasts, microvessels, neoplasm of collagen fibers) were activated. All this together led to spatial focal histotopographic changes, consisting in an increase in the cellular composition of connective tissue structures against the background of a noticeable violation of their spatial orientation.

Conclusion. Modeling of fasciopathy using alprostadil was accompanied by the appearance of mosaic reversible and irreversible heteromorphic and heterochronous changes in all connective tissue aponeurotic structures. Such histotopographic changes should be considered as one of the reasons for the clinical manifestations of plantar fasciopathies, causing functional insufficiency and explaining the clinical recurrent nature of the pathological process.

Key words: histology, plantar fasciitis, fasciopathy, alprostadil, laboratory animals, simulation

For citation: Silantyev V.N., Dzyuba G.G., Markelova M.V., Erofeev S.A., Turushev M.A., Chernigova S.V. Morphofunctional reorganization of plantar aponeurosis in experimental modeling of fasciopathy by synthetic analogue of prostaglandin E1. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 242-252. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.24

Received: 10.12.2021
Accepted: 25.04.2022
Published: 05.07.2022

ВВЕДЕНИЕ

Подошвенная фасциопатия относится к большой группе тендинопатий и фасциопатий различных локализаций, клинически проявляющихся хроническим упорным болевым синдромом [1–4]. Несмотря на длительную историю изучения этой патологии, причины и морфогенез клинических проявлений до сих пор остаются не вполне понятными [3, 5–7]. К изученным морфологическим признакам развития фасциопатии относят дегенерацию коллагена, заключающуюся в дезорганизации волокон, неравномерном очаговом гофрировании и повышенной извитости коллагеновых пучков при увеличении количества гликозаминогликанов между волокнами, сопряжённом с уменьшением количества теноцитов и беспорядочным микрососудистым ростом [6, 8, 9]. Этот процесс сопровождается появлением метаболически активных фибробластов, определяющих повышенную продукцию гликозаминогликанов и белков внеклеточного матрикса. Коллагеновые волокна в этом случае не только гофрируются, но и теряют параллельную ориентацию, в результате чего происходит снижение силы их сцепления в пучках второго и последующих порядков [6]. Изменения обычно носят очаговый характер: регенераторные зоны, характеризующиеся активным тканевым метаболизмом, перемежаются с зонами дистрофии и атрофии (дегенеративных изменений) и теноцитов и коллагеновых волокон [9]. В ряде работ отмечена пусковая роль воспаления и цитокиновой реакции в развитии фасциопатий, что косвенно подтверждается выявлением лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации с увеличением «клеточности» плотной волокнистой соединительной ткани [6, 7, 10, 11].

Недостаточная изученность этиологических и патогенетических факторов развития фасциопатий объясняет множественность, а порой и противоречивость схем консервативного и оперативного лечения. Выбор оптимального варианта терапевтического или хирургического воздействия может быть связан с экспериментальным моделированием фасциопатий, изучением особенностей патологического процесса и влияния на него различных лечебных схем [1, 6]. В настоящее время существуют различные способы получения тендинопатий: от механических и электрических до медикаментозных, например, с использованием цитокинов. Согласно имеющимся литературным данным, экспериментальную модель тендинопатии с использованием лекарственного препарата алпростадил (синтетического простагландина E1) можно считать репрезентативной, она является недорогой, воспроизводимой, технически несложной и не требует длительной анестезии животных [12]. Опираясь на близость морфологического строения сухожильных и апоневротических структур, использование подобной алпростадилевой технологии при разработке модели фасциопатии подошвенного апоневроза для проведения морфологических и клинических исследований выглядит многообещающим.

Целью настоящего исследования было изучение морфологических изменений структур, тождественных

подошвенному апоневрозу человека, при экспериментальном моделировании фасциопатии у животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрено этическим комитетом университета (протокол № 107 от 02.10.2018).

В качестве экспериментальных животных использовались беспородные собаки ($n = 24$) массой $7,7 \pm 2,1$ кг в возрасте от 10 до 16 месяцев, являющимся оптимальным для верификации закрытия зоны роста бугра пяточной кости тазовой конечности. Исследования проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией об этических принципах медицинских исследований, утверждённой Всемирной медицинской ассоциацией (ВМА) в 1964 г. и пересмотренной на 64-м съезде Генеральной ассамблеи ВМА в 2013 г.; с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS № 123), Страсбург, 18 марта 1986 г. (European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS N 123)) и принятых на основе этого документа нормативных актах ЕАЭС и России.

Наиболее близким по функции и строению к человеческому подошвенному апоневрозу является поверхностный сгибатель пальцев стопы у собак (*m. flexor digitalis pedis superficialis*), сухожилие которого, переплетаясь с сухожилием икроножной мышцы, проходит по вершине пяточного бугра короткими крепкими пучками и, прикрепляясь к нему, следует дистально по подошвенной поверхности стопы, аналогично подошвенному апоневрозу человека. Для удобства восприятия в тексте статьи указанные структуры будут условно названы «подошвенным апоневрозом».

При моделировании фасциопатии использовался препарат «Алпростан» (алпростадил – синтетический аналог естественного PGE1, производитель: «ЗЕНТИВА» а.с. 10237, Чешская Республика), разведённый до необходимой концентрации 5000 нг в 1 мл физиологическим раствором хлорида натрия [12]. Для обезболивания использовали внутривенное введение пропофола через катетер, установленный в грудной конечности животного. Раствор алпростадил вводится в интра- и периапоневротические ткани с кратностью 1 раз в неделю на протяжении четырёх недель. Одновременно с введением алпростадил в апоневроз контрлатеральной лапы животного, использовавшейся в качестве контроля, вводилось аналогичное количество (1,0 мл) изотонического раствора хлорида натрия. Морфологический раздел исследования заключался в заборе части (размер $0,5 \times 2$ см) подошвенного апоневроза из зон инъекций опытной и контрлатеральной тазовых конечностей на 35-е сутки от момента начала эксперимента. Для обезболивания при заборе материала использовалась следующая схема: премедикация осуществлялась введением атропина 0,001 % – 1 мл и димедрола 1 % – 0,5 мл

на 10 кг массы тела животного; вводный наркоз – медленной внутривенной инфузией пропофола до расслабления скелетных мышц животного (2–3 мл); основной наркоз – золитилом дробно 10 мг/кг в 1 час. Все животные после забора материала оставались живыми. Биоптаты апоневроза фиксировали в 10%-м нейтральном формалине. Гистологическую проводку и заливку в парафин проводили общепринятыми методами. Из полученных парафиновых блоков изготавляли продольные (вдоль волокон апоневроза) серийные срезы толщиной 5 мкм. Для дальнейшего гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилином-эозином, альциановым и толуидиновым синим, по Ван-Гизону, Вейгерт – Ван-Гизону и Пикро-Маллори [13]. При окраске гематоксилином-эозином оценку полученным изменениям давали в сравнении с контрольной группой в соответствии с полуколичественной шкалой Т. Movin и S. Bonar [12, 14]. Морфометрическую оценку относительной доли изучаемых структур в поле зрения проводили с помощью программы ImageJ 1.46 и общедоступных плагинов (<https://imagej.nih.gov/ij/>) на цветных изображениях. Измерения проводили в соответствии с рекомендациями по стереометрическим исследованиям [15–17].

В зависимости от характера распределения переменных (критерий Колмогорова – Смирнова) проверку статистических гипотез осуществляли с помощью параметрического (t-критерий Стьюдента) и непараметрического (Манна – Уитни) критериев в программе Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Результаты представлены как среднее \pm стандартное отклонение и медиана (нижний и верхний квартили). По общепринятым рекомендациям для проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0,05$ [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При исследовании интактного подошвенного апоневроза тазовой конечности собаки определялись пучки первого, второго и третьего порядка, сформированные из коллагеновых волокон плотной волокнистой соединительной ткани. Волокна в пучках первого порядка включали клеточные элементы фиброцитарного ряда, имеющие тонкую пластинчатую структуру, длинные отростки и плоские или веретенообразные ядра. Между пучками всех порядков определялась неоформленная рыхлая волокнистая соединительная ткань (соответствующая сухожильным эндотению и перитению), в которой находились единичные сосуды. В периваскулярном пространстве выявлялись отдельные лимфоциты. Клеточность изученных полей зрения оценивалась нами как слабая и умеренная, без деструктивных изменений всех дифферонов соединительной ткани и крови (рис. 1).

Через 7 суток после четвёртой инъекции алпростадилла была отмечена трансформация структурно-функционального состояния всех компонентов подошвенного апоневроза. При окраске гематоксилином-эозином выявляли протяжённые зоны апоневроза с изменёнными тинкториальными свойствами белка (с) и низ-

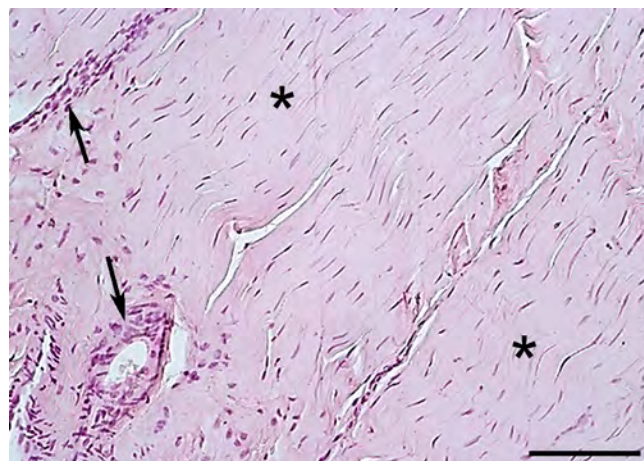


РИС. 1.

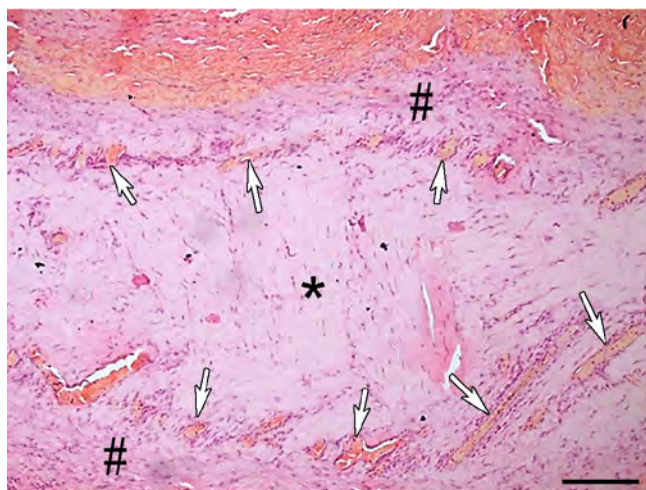
Подошвенный апоневроз собаки контрольной группы: пучки первого и второго порядка (*), элементы рыхлой неоформленной волокнистой соединительной ткани (стрелки) между пучками второго порядка. Окраска альциановым синим, шкала – 100 мкм

FIG. 1.

Plantar aponeurosis of a control group dog: bundles of the first and second order (*), elements of loose unformed fibrous connective tissue (arrows) between bundles of the second order. Alcian blue, scale 100 microns

кими показателями клеточности (рис. 2а). Как правило, вокруг таких участков отмечали скопления полнокровных кровеносных сосудов, очаги кровоизлияний, окружённых множественными инфильтратами, что трактовалось как зоны высокой клеточности (рис. 2б). Оказалось существенным, что полнокровные сосуды, кровоизлияния и инфильтраты выявлялись не только в структурах эндотения и перитения, но и между пучками апоневроза первого порядка (рис. 3а). Граница очагов кровоизлияний и сохранившихся пучков коллагеновых волокон имела очень сложные очертания в результате формирования взаимных инвагинаций в плотной волокнистой неоформленной и оформленной соединительной ткани. По этой границе были отмечены инфильтраты, состоящие преимущественно из лимфоцитов и нейтрофильных лейкоцитов (рис. 3б). Особое значение имели кровеносные микрососуды, пересекающие под углом пучки коллагеновых волокон на границе с кровоизлияниями и инфильтратами. Мы полагаем, что возникновение подобных сосудов было связано с развитием процесса регенерации и обеспечивало восстановление приграничных повреждённых коллагеновых волокон.

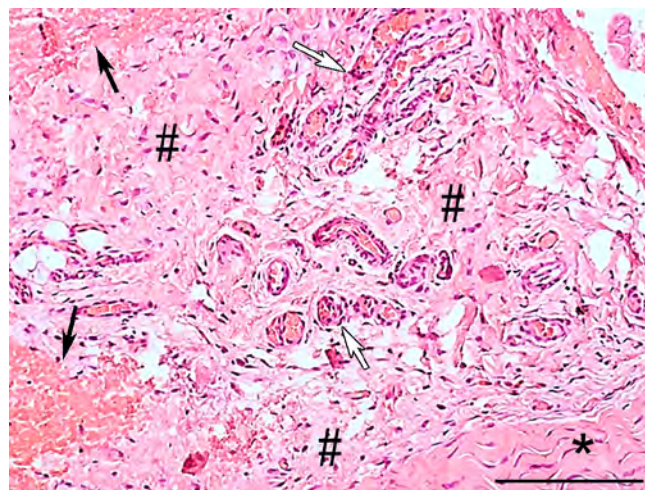
Частичное и полное нарушение дифференцировки коллагеновых пучков первого и второго порядка подтверждалось окрасками серийных срезов по Ван-Гизону и Пикро-Маллори. Выявлялось разволокнение пучков апоневроза, увеличение их извитости и площади межклеточного вещества. В среднем доля окрашенных по Ван-Гизону волокон (рис. 4а) снижалась до 57,4 % в поле зрения ($p < 0,001$, критерий Манна – Уитни) при норме 82,5 %, остальную площадь занимали клетки инфильтрата, ме-



a

РИС. 2.

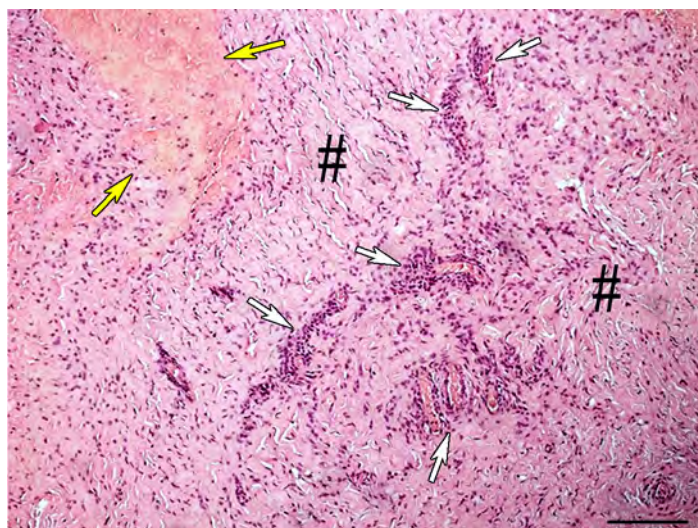
Подошвенный апоневроз собаки при моделировании тендинопатии: **a** – зона апоневроза с изменёнными тинкториальными свойствами коллагеновых волокон (*), скопление сосудов (стрелки) и инфильтраты (#); **б** – большое количество кровеносных микрососудов в рыхлой неоформленной волокнистой соединительной ткани (#); стрелки – кровоизлияния; * – коллагеновые волокна плотной волокнистой оформленной соединительной ткани. Окраска гематоксилином-эозином, шкалы: 200 мкм (**a**), 100 мкм (**б**)



б

FIG. 2.

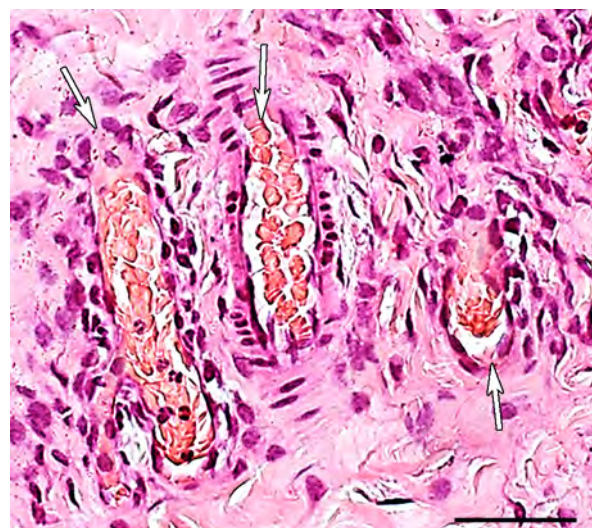
Plantar aponeurosis of a dog when modeling tendinopathy: **a** – aponeurosis zone with altered tinctorial properties of collagen fibers (*), a cluster of vessels (arrows) and infiltrates (#); **б** – a large number of blood microvessels in loose unformed fibrous connective tissue (#); arrows – hemorrhages; * – collagen fibers of dense fibrous connective tissue. Hematoxylin-eosin, scales: 200 microns (**a**), 100 microns (**б**)



a

РИС. 3.

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: **a** – видны скопления микрососудов, очаги повышенной клеточности (белые стрелки), расширение пространства между пучками волокон первого порядка (#), очаговые кровоизлияния (жёлтые стрелки); **б** – фрагмент (**a**), значительное повышение «клеточности» периваскулярных зон, большое содержание фибробластов и инфильтрировавших клеток крови (в виде частоккола). Окраска гематоксилином-эозином, шкалы: 200 мкм (**a**), 50 мкм (**б**)



б

FIG. 3.

Plantar aponeurosis of a dog in the simulation of fasciopathy: **a** – visible clusters of microvessels, foci of increased cellular activity (white arrows), expansion of the space between bundles of fibers of the first order (#), focal hemorrhages (yellow arrows); **б** – fragment of (**a**), a significant increase in the «cellular» perivascular zones, a large content of fibroblasts and infiltrated blood cells (in the form of a palisade). Hematoxylin-eosin, scales: 200 microns (**a**), 50 microns (**б**)

жучочного вещества и сосуда. Аналогичная картина наблюдалась и при окраске по Пикро-Маллори (рис. 4б).

При окраске по Ван-Гизону на коллаген появлялись «пустые» (неокрашенные) участки апоневроза (рис. 5а), которые при использовании альцианового синего приобретали бирюзово-голубое окрашивание, свойственное для кислых мукополисахаридов (рис. 5б). При окраске альциановым синим было установлено, что введение алпростадила приводило к морфологически различ-

ным очаговым изменениям апоневроза: отмечали зоны интактного апоневроза с небольшим количеством теночитов, зоны с дистрофическими изменениями (рис. 5б) и смешанные зоны со значительным количеством клеток.

По данным морфометрического анализа, в контроле и в неповреждённых участках апоневроза животных с экспериментальной фасциопатией превалировали неизменённые коллагеновые волокна, их доля в поле зрения составляла 87,3 %. В зонах мукоидного набухания

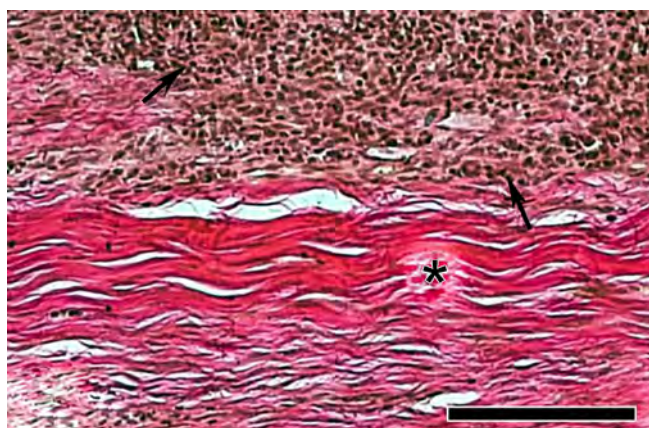


РИС. 4.

Зона инфильтрации апоневроза при фасциопатии: фрагменты повреждённых коллагеновых волокон без чётких границ с полной потерей архитектоники (стрелки); нарушение дифференцировки и разволокнение коллагеновых волокон, увеличение площади межучасточного вещества (*). Окраска по Ван-Гизону (а) и Пикро-Маллори (б); шкала 150 мкм

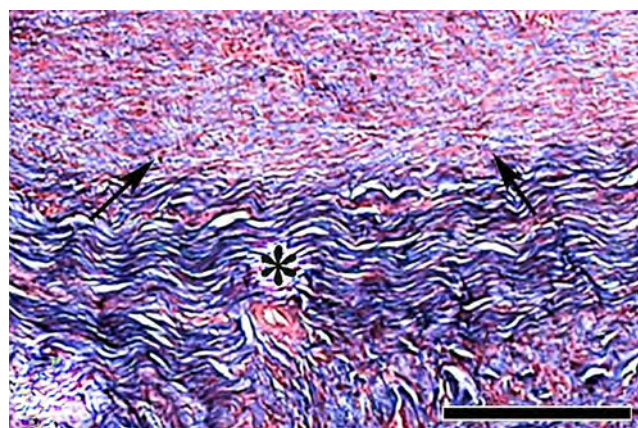


FIG. 4.

Zone of infiltration of aponeurosis in fasciopathy: fragments of damaged collagen fibers without clear borders with complete loss of architectonics (arrows); violation of differentiation and disfoliation of collagen fibers, an increase in the area of the interstitial substance (*). Staining: Van Gieson (a) and Picro-Mallory (b); scale 150 microns

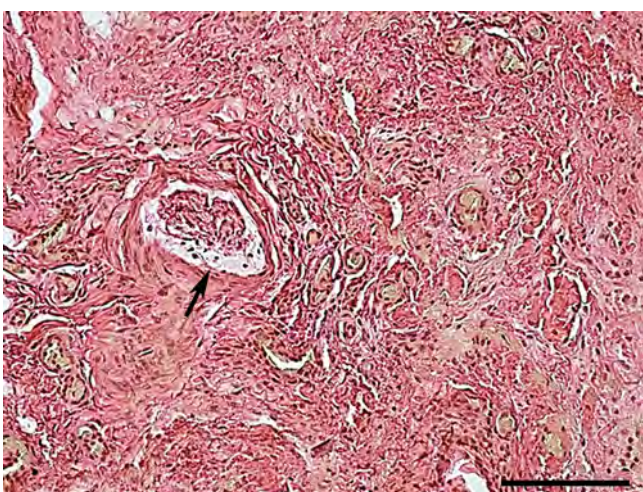


РИС. 5.

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: а – нарушение дифференцировки и полный локальный распад коллагеновых волокон (отсутствие окраски коллагена, чёрная стрелка); б – бирюзово-голубое окрашивание кислых мукополисахаридов в участках разрушения коллагеновых волокон (признаки дистрофии) (чёрные стрелки). Окраска по Ван-Гизону (а) и альциановым синим (б), шкала 200 мкм

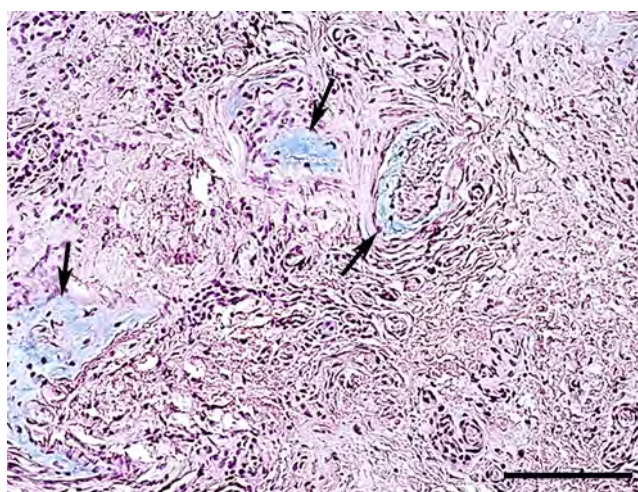


FIG. 5.

Plantar aponeurosis of the dog in the simulation of fasciopathy: а – violation of differentiation and complete local decay of collagen fibers (lack of color of collagen, black arrow); б – turquoise-blue staining of acidic mucopolysaccharides in areas of destruction of collagen fibers (signs of dystrophy) (black arrows). Staining: Van Gieson (a), alcian blue (b), scale 200 microns

ТАБЛИЦА 1

ПЛОЩАДЬ (В 1 ММ² ПОЛЯ ЗРЕНИЯ) ОСНОВНЫХ СТРУКТУР АПОНЕВРОЗА В КОНТРОЛЬНЫХ ЗОНАХ И ЗОНАХ МУКОИДНОГО НАБУХАНИЯ, МЕ (Q1–Q3)

Структуры	Группы		Сравнение
	Контроль (n = 12)	Модель (n = 12)	
Коллагеновые волокна	0,873 (0,675–0,897)	0,147 (0,126–0,168)	$p < 0,01^*$
Ядра теноцитов	0,088 (0,069–0,096)	0,264 (0,228–0,285)	$p < 0,01^*$
Зоны мукоидного изменения	0,021 (0,018–0,047)	0,561 (0,498–0,687)	$p < 0,01^*$
Всё остальное (межклеточные пространства, сосуды и пр.)	0,018 (0,015–0,036)	0,038 (0,033–0,059)	$p < 0,05^*$

Примечание. * – различия статистически значимы в сравнении с контролем при $p < 0,05$ (критерий Манна – Уитни).

TABLE 1

THE AREA (IN 1 MM² OF THE FIELD OF VIEW) OF THE MAIN STRUCTURES OF APONEUROSIS IN THE CONTROL ZONES AND AREAS OF MUCOID SWELLING, ME (Q1–Q3)

доля неповреждённого коллагена снижалась до 14,7 %, а площадь патологических очагов, окрашенных альциановым, увеличивалась до 56,1 % (табл. 1).

Таким образом, на препаратах, окрашенных альциановым синим, удалось показать изменение соотношений объёма повреждённых (дистрофия: мукоидное набухание) и неповреждённых структур апоневроза.

В зонах инфильтратов и пропитывания эритроцитами плотной волокнистой оформленной и неоформленной соединительной ткани выявляли также признаки фибриноидного набухания с появлением очагов полного разрушения коллагеновых волокон и межклеточного вещества. Особенно наглядно это видно на препаратах, окрашенных по Пикро-Маллори, где эритроциты – жёлтые, коллагеновые волокна – синие, фибрин – красный (рис. 6).

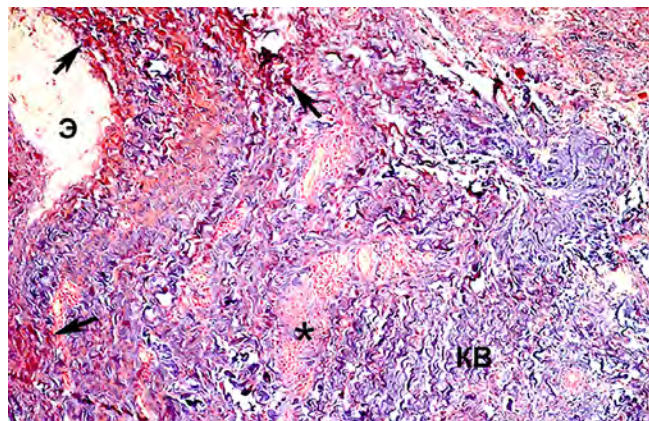


РИС. 6.

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: кровоизлияния (Э, жёлтые), нарушение дифференцировки, изменение формы, увеличение степени волнистости, продольное разделение коллагеновых волокон (KB, синие), очаги выпадения теноцитов (*), скопление фибрина (стрелки, красные). Окраска Пикро-Маллори; шкала 200 мкм

FIG. 6. Plantar aponeurosis of a dog in the simulation of fasciopathy: hemorrhages (Э, yellow), violation of differentiation, shape change, increase in the degree of undulation, longitudinal division of collagen fibers (KB, blue), foci of tenocyte loss (*), fibrin accumulation (arrows, red). Picro-Mallory staining; scale 200 microns

В итоге, в ходе морфофункциональной реорганизации соединительной ткани подошвенного апоневроза собаки, при медикаментозной аллпростадиловой фасциопатии, как результате сочетания процессов повреждения, резорбции и новообразования коллагеновых волокон, происходило усложнение его пространственного внутреннего строения. Выявлялись участки апоневроза

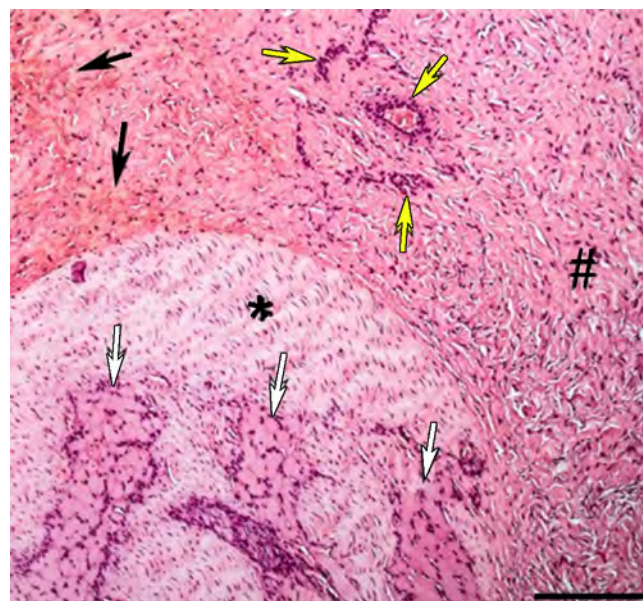


РИС. 7.

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: диффузное кровоизлияние (чёрные стрелки), очаги повышенной клеточности (инфильтрации, жёлтые стрелки), расширение пространства между пучками волокон (#); белые стрелки и * – пересекающиеся пучки коллагеновых волокон в зоне с высоким показателем клеточности. Окраска гематоксилином-эозином, шкала 200 мкм

FIG. 7.

Plantar aponeurosis of a dog in the simulation of fasciopathy: diffuse hemorrhage (black arrows), foci of increased cellular activity (infiltration, yellow arrows), expansion of the space between fiber bundles (#); white arrows and * – intersecting bundles of collagen fibers in the zone with a high cellular index. Hematoxylin-eosin staining, scale 200 microns

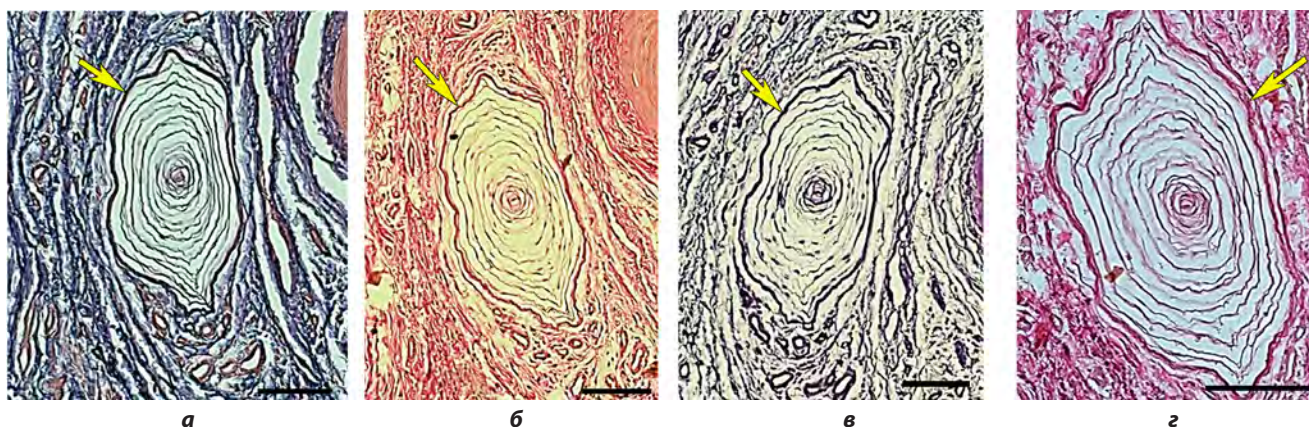


РИС. 8.

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании тендинопатии: тельца Фатера – Пачини (стрелки) при различных окрасках: целостность всех структурных компонентов. Окраски: **а** – Пикро-Маллори; **б** – Ван-Гизон; **в** – толуидиновый синий; **г** – Вейгерт – Ван-Гизон; шкала 100 мкм

FIG. 8.

Plantar aponeurosis of a dog when modeling tendinopathy: Vater – Pacini corpuscles (arrows) with different colors: integrity of all structural components. Staining: **a** – Picro-Mallory; **b** – Van Gieson; **v** – toluidine blue; **z** – Weigert – Van Gieson; scale 100 microns

с патологической перестройкой в виде поперечно расположенных пучков первого и второго порядка с взаимно переплетёнными коллагеновыми волокнами, а также резко возросшим показателем клеточности. В структуре клеточных элементов регистрировалось значительное увеличение числа активно метаболизирующих теноцитов, о чём свидетельствовало округление их ядер и наличие видимой цитоплазмы (рис. 7).

В совокупности, перечисленные выше структурные изменения соответствовали в некоторых участках 8–11 баллам (Min-Max) при гистологической оценке по шкале Bonar и заключались в изменении формы, извитости, нарушении и даже исчезновении дифференцировки фибриллярных волокон, их продольном разъединении и разрыве, округлении ядер теноцитов, наличии видимой цитоплазмы и кровеносных сосудов между изменёнными волокнами. Полуколичественная оценка патогистологических изменений подошвенного апоневроза животных основной группы показала, что среднее значение степени дегенерации по шкале Bonar в конце эксперимента составляло $7,1 \pm 1,97$ балла. То есть в рамках одной сигмы (95 % всех измерений, основная масса), этот показатель варьировался в большинстве полей зрения в пределах 5–9 баллов. В контрольной группе суммарный показатель составил $0,3 \pm 0,1$ балла, что было статистически значимо ниже ($p < 0,0001$, t-критерий Стьюдента), чем при моделировании фасциопатии.

Пространственная реорганизация коллагеновых волокон подошвенного апоневроза наблюдалась и вокруг элементов периферической нервной системы, где сочетались процессы дистрофии, разрушения и восстановления волокон. При этом структура самих нервных окончаний (на примере телец Фатера – Пачини) не нарушалась (рис. 8).

Подобные очаговые (гетероморфные и гетерохронные) гистотопографические изменения апоневроза, вероятно, приводили и к изменениям условий функционирования локальных элементов его соматосенсорной системы. Гетероморфность и гетерохронность выявлен-

ных изменений соединительной ткани можно рассматривать как морфологический субстрат клинических проявлений фасциопатий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, четырёхкратное введение алпростадила по использованному нами методу оказывало существенное влияние на структуру плотной волокнистой неоформленной и оформленной соединительной ткани подошвенного апоневроза собак. Активизировались механизмы повреждения, адаптации и регенерации, в совокупности приводящие к пространственным гистотопографическим изменениям апоневроза, лежащим в основе формирования картины медикаментозной фасциопатии. Найденные изменения при моделировании фасциопатии имели очаговый характер, то есть имели выраженные признаки гетероморфности.

В местах инъекций препарата появлялись морфологические признаки отёка, набухания интерстициального пространства, полнокровия сосудов, кровоизлияния, инфильтрации ядерных клеток крови – дистрофии апоневроза. Кроме того, в оформленной и неоформленной соединительной ткани появлялись зоны с большим количеством капилляров. Воспалительные изменения, вероятно, инициировались в покровных структурах, соответствующих паратенону и эндотенону, а затем распространялись на пучки коллагеновых волокон и межучастное вещество апоневроза, где отмечалось увеличение количества плазматических и лимфоцитов. Параллельно изменялась структура пучков коллагена: коллагеновые волокна теряли типичную упорядоченную ориентацию, отмечались неравномерное гофрирование и увеличение их извитости. Некоторые волокна подвергались диффузному лизису, дистрофии и разрывались. Вокруг таких пучков выявлялись свободные эритроциты, лимфоцитарные клеточные инфильтраты и очаги скопления

кислых мукополисахаридов. По литературным данным, именно разрушение коллагеновых волокон и их последующая пространственная реорганизация имеет ключевое значение в патогенезе фасциопатий [6].

Значительным разнонаправленным изменениям подвергались специализированные клеточные элементы апоневроза – теноциты. Одних процесс приводил к дегенерации и атрофии, других – к трансформации в фибробласты, отличающиеся округлыми ядрами и большим объёмом цитоплазмы. С большой долей вероятности можно предположить, что именно за счёт этих клеток, имеющих все признаки высокой функциональной активности, происходила репаративная регенерация и последующая пространственная реорганизация апоневроза. Его структура нарушалась, становилась менее организованной, но более клеточной, с преобладанием метаболически активных теноцитов, способных и в дальнейшем изменять объёмные соотношения всех компонентов апоневроза, косвенно влияя и на чувствительные нервные окончания. При этом, по нашим данным, такие крупные специализированные окончания, как тельца Фатера – Пачини не имели признаков патологических изменений. Для изучения более мелких болевых нервных окончаний, как и для выяснения их связей с коллагеновым скелетом, требуются либо специальные методы окраски, либо электронная микроскопия [19].

Было установлено, что при медикаментозном моделировании фасциопатии в матриксе соединительной ткани апоневроза происходили химические реакции, результатом которых явилось накопление кислых мукополисахаридов. Кроме того, разрушались и молекулы коллагеновых волокон, с распадом мукопротеидов и высвобождением веществ типа гиалуроновой и хондроитинсерной кислот [6], что подтверждалось окрашиванием продуктов этих реакций альциановым синим. Перечисленные патологические процессы вели к формированию очагов мукоидного набухания. По нашим данным, в этих очагах при окраске по Ван-Гизону и Пикро-Маллори доля неповреждённых коллагеновых волокон значительно снижалась, вплоть до полного их исчезновения. Показательно, что с помощью окраски Пикро-Маллори в зонах инфильтрации и кровоизлияний нами были выявлены и признаки фибриноидного набухания: фибрин окрашивался в красный цвет вокруг кровоизлияний, сосудов, нервных элементов и между пучками повреждённых коллагеновых волокон. По литературным данным, при экспериментальных фасциопатиях превалируют мукоидные изменения, а фибриноидное набухание практически не описано [20]. Появление таких очагов деструкции свидетельствует о более тяжёлых, возможно необратимых изменениях подошвенного апоневроза, вызывающих функциональную недостаточность и объясняющую клинический рецидивирующий характер патологического процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование продемонстрировало, что заметные патологические трансформации подошвен-

ного апоневроза могут быть вызваны локальным введением провоспалительных препаратов (типа алпростадилла). Выявленные нами очаговые пространственные гистотопографические воспалительные, дегенеративные и репаративные изменения подошвенного апоневроза во многом объясняют нарушения функционирования элементов его соматосенсорной системы (например, упорного хронического болевого синдрома, дискоординации нагрузочного режима стопы и выработки патологического статико-локомоторного стереотипа) при фасциопатиях. Полученные и имеющиеся научные данные не позволяют точно идентифицировать морфологические признаки подобных клинических проявлений и требуют дальнейшего изучения с использованием комплексного клинко-морфологического подхода [6, 12, 20, 21].

В ходе исследования была получена доказательная экспериментальная медикаментозная (алпростадилловая) модель фасциопатии, воспроизводящая основные патогномоничные морфологические признаки дегенеративного процесса, аналогичные известным и описанным при экспериментальных и клинических тендинопатиях. Эта модель и выявленные гетероморфные и гетерохронные изменения всех структур подошвенного апоневроза являются основой для дальнейшего изучения влияния на патологический процесс разнородных лечебных мероприятий, включающих медикаментозные и физические факторы воздействия.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Riley G. Tendinopathy – from basic science to treatment. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008; 4(2): 82-89. doi: 10.1038/ncprheum0700
2. Aicale R, Tarantino D, Maffulli N. Overuse injuries in sport: A comprehensive overview. *J Orthop Surg Res*. 2018; 13(1): 309. doi: 10.1186/s13018-018-1017-5
3. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review, part 2 – classification, prognosis, and treatment. *Ann Transl Med*. 2019; 7(4): 72. doi: 10.21037/atm.2019.01.63
4. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review – part 1: epidemiology and diagnosis. *Ann Transl Med*. 2019; 7(4): 71. doi: 10.21037/atm.2019.01.58
5. Longo UG, Fazio V, Poeta ML, Rabitti C, Franceschi F, Maffulli N, et al. Bilateral consecutive rupture of the quadriceps tendon in a man with BstUI polymorphism of the COL5A1 gene. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010; 18(4): 514-518. doi: 10.1007/s00167-009-1002-y
6. Thankam FG, Dilisio MF, Gross RM, Agrawal DK. Collagen I: A kingpin for rotator cuff tendon pathology. *Am J Transl Res*. 2018; 10(11): 3291-3309.
7. Thankam FG, Roesch ZK, Dilisio MF, Radwan MM, et al. Association of inflammatory responses and ECM disorganization with HMGB1 upregulation and NLRP3 inflammasome activa-

tion in the injured rotator cuff tendon. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 8918. doi: 10.1038/s41598-018-27250-2

8. Longo UG, Franceschi F, Ruzzini L, Rabitti C, Morini S, Maffulli N, et al. Characteristics at haematoxylin and eosin staining of ruptures of the long head of the biceps tendon. *Br J Sports Med*. 2009; 43(8): 603-607. doi: 10.1136/bjsm.2007.039016

9. DE Giorgi S, Saracino M, Castagna A. Degenerative disease in rotator cuff tears: What are the biochemical and histological changes? *Joints*. 2014; 2(1): 26-28.

10. Millar NL, Akbar M, Campbell AL, Reilly JH, Kerr SC, McLean M, et al. IL-17A mediates inflammatory and tissue remodeling events in early human tendinopathy. *Sci Rep*. 2016; 6: 27149. doi: 10.1038/srep27149

11. Tang C, Chen Y, Huang J, Zhao K, Zhao K, Chen X, Yin Z, et al. The roles of inflammatory mediators and immunocytes in tendinopathy. *J Orthop Translat*. 2018; 14: 23-33. doi: 10.1016/j.jot.2018.03.003

12. Sullo A, Maffulli N, Capasso G, Testa V. The effects of prolonged peritendinous administration of PGE1 the rat Achilles tendon: A possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J Orthop Sci*. 2001; 6(4): 349-357. doi: 10.1007/s007760100031

13. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники*. СПб.: СпецЛит; 2010.

14. Movin T. *Aspects of aetiology, pathoanatomy and diagnostic methods in chronic mid-portion achillodynia*. PhD Thesis, Karolinska Institute; 1998.

15. Автандилов Г.Г. *Основы количественной патологической анатомии: учебное пособие*. М.: Медицина, 2002.

16. Конюхов А.Л. *Руководство к использованию программного комплекса ImageJ для обработки изображений: Учебное методическое пособие*. Томск; 2012.

17. Худоевков Р.М. *Методы компьютерной морфометрии в нейроморфологии: учебное пособие (базовый курс)*. М.: ФГБУ «НЦН» РАМН; 2014.

18. Боровиков В. *Statistica. Искусство анализа данных на компьютере*. СПб.: Питер; 2003.

19. Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J Cell Sci*. 2005; 118(Pt7): 1341-1353. doi: 10.1242/jcs.01731

20. Юрковский А.М., Анисеев О.И., Ачинович С.Л. Сопоставление сонографических и гистологических данных при дистрофических изменениях подвздошно-поясничной связки. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2011; 4: 74-77.

21. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. *Clin Orthop Relat Res*. 2008; 466(7): 1605-1611. doi: 10.1007/s11999-008-0261-0

sification, prognosis, and treatment. *Ann Transl Med*. 2019; 7(4): 72. doi: 10.21037/atm.2019.01.63

4. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review – part 1: epidemiology and diagnosis. *Ann Transl Med*. 2019; 7(4): 71. doi: 10.21037/atm.2019.01.58

5. Longo UG, Fazio V, Poeta ML, Rabitti C, Franceschi F, Maffulli N, et al. Bilateral consecutive rupture of the quadriceps tendon in a man with BstUI polymorphism of the COL5A1 gene. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010; 18(4): 514-518. doi: 10.1007/s00167-009-1002-y

6. Thankam FG, Dilisio MF, Gross RM, Agrawal DK. Collagen I: A kingpin for rotator cuff tendon pathology. *Am J Transl Res*. 2018; 10(11): 3291-3309.

7. Thankam FG, Roesch ZK, Dilisio MF, Radwan MM, et al. Association of inflammatory responses and ECM disorganization with HMGB1 upregulation and NLRP3 inflammasome activation in the injured rotator cuff tendon. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 8918. doi: 10.1038/s41598-018-27250-2

8. Longo UG, Franceschi F, Ruzzini L, Rabitti C, Morini S, Maffulli N, et al. Characteristics at haematoxylin and eosin staining of ruptures of the long head of the biceps tendon. *Br J Sports Med*. 2009; 43(8): 603-607. doi: 10.1136/bjsm.2007.039016

9. DE Giorgi S, Saracino M, Castagna A. Degenerative disease in rotator cuff tears: What are the biochemical and histological changes? *Joints*. 2014; 2(1): 26-28.

10. Millar NL, Akbar M, Campbell AL, Reilly JH, Kerr SC, McLean M, et al. IL-17A mediates inflammatory and tissue remodeling events in early human tendinopathy. *Sci Rep*. 2016; 6: 27149. doi: 10.1038/srep27149

11. Tang C, Chen Y, Huang J, Zhao K, Zhao K, Chen X, Yin Z, et al. The roles of inflammatory mediators and immunocytes in tendinopathy. *J Orthop Translat*. 2018; 14: 23-33. doi: 10.1016/j.jot.2018.03.003

12. Sullo A, Maffulli N, Capasso G, Testa V. The effects of prolonged peritendinous administration of PGE1 the rat Achilles tendon: A possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J Orthop Sci*. 2001; 6(4): 349-357. doi: 10.1007/s007760100031

13. Korzhevskij DE, Gilyarov AV. *Fundamentals of histological technique*. Saint Petersburg: Spetslit; 2010. (In Russ.).

14. Movin T. *Aspects of aetiology, pathoanatomy and diagnostic methods in chronic mid-portion achillodynia*. PhD Thesis, Karolinska Institute; 1998.

15. Avtandilov GG. *Fundamentals of quantitative pathological anatomy*. Moscow: Medicina; 2002. (In Russ.).

16. Konyuhov AL. *Guide to the use of the ImageJ software complex for image processing*. Tomsk; 2012. (In Russ.).

17. Hudoev RM. *Methods of computer morphometry in neuromorphology*. Moscow; 2014. (In Russ.).

18. Borovikov V. *Statistica. The art of analyzing data on a computer*. Saint Petersburg: Piter Publishing House; 2003. (In Russ.).

19. Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J Cell Sci*. 2005; 118(Pt7): 1341-1353. doi: 10.1242/jcs.01731

20. Yurkovskij AM, Aniseev OI, Achinovich SL. Comparison of sonographic and histological data in dystrophic changes of the ilio-lumbar ligament. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2011; 4: 74-77. (In Russ.).

REFERENCES

1. Riley G. Tendinopathy – from basic science to treatment. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008; 4(2): 82-89. doi: 10.1038/ncprheum0700

2. Aicale R, Tarantino D, Maffulli N. Overuse injuries in sport: A comprehensive overview. *J Orthop Surg Res*. 2018; 13(1): 309. doi: 10.1186/s13018-018-1017-5

3. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review, part 2 – clas-

21. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitt C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. *Clin Orthop Relat Res*. 2008; 466(7): 1605-1611. doi: 10.1007/s11999-008-0261-0

Сведения об авторах

Силантьев Вадим Николаевич – ассистент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «ОмГМУ» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-2407-8545>

Дзюба Герман Григорьевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: germanort@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4292-213X>

Ерофеев Сергей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0003-4499-0598>

Маркелова Марина Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-5356-9669>

Турушев Михаил Анатольевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-4507-7496>

Чернигова Светлана Владимировна – доктор ветеринарных наук, доцент, директор института ветеринарной медицины и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»

Information about the authors

Vadim N. Silantyev – Teaching Assistant at the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-2407-8545>

German G. Dzyuba – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, e-mail: germanort@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4292-213X>

Sergey A. Erofeev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0003-4499-0598>

Marina V. Markelova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pathological Anatomy, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-5356-9669>

Mikhail A. Turushev – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-4507-7496>

Svetlana V. Chernigova – Dr. Sc. (Vet.), Docent, Director of the Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology, Omsk State Agrarian University

ХИРУРГИЯ SURGERY

ДООПЕРАЦИОННЫЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ ПОРАЖЕНИЯ ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ ПРИ ОСТРОМ ХОЛЕЦИСТИТЕ

Яшнов А.А.,
Лобанов С.Л.,
Коновалова О.Г.,
Бурцева М.А.,
Ханина Ю.С.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная
медицинская академия» Минздрава
России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Алексей Александрович Яшнов,
e-mail: alexyashnov@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. До настоящего времени острый холецистит остаётся одним из распространённых urgentных заболеваний живота, при котором возможны послеоперационные осложнения и летальность.

Цель исследования: оценить сопряжённость концентрации гамма-глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы в плазме крови с формой острого холецистита.

Методы. Выполнено обследование 105 пациентов с острым калькулёзным холециститом, 35 – с хроническим калькулёзным холециститом (группа сравнения), которым выполнена лапароскопическая холецистэктомия. Исследуемым при поступлении в стационар проводилось определение активности гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в плазме крови кинетическим колориметрическим методом.

Результаты. Выявлена прямая корреляционная связь между уровнем концентрации ГГТП и выраженностью деструкции в стенке желчного пузыря. При катаральном холецистите она составила $340 \pm 116,9$ Ед./л ($p < 0,05$), при флегмонозном – $108,1 \pm 29,5$ Ед./л ($p < 0,05$), при гангренозном – $32,9 \pm 7,5$ Ед./л ($p < 0,05$). Наряду с этим выявлена прямая корреляционная связь между концентрацией ЩФ и выраженностью деструкции в стенке желчного пузыря. При катаральном холецистите активность фермента составила $160,3 \pm 34,2$ Ед./л ($p < 0,05$), при флегмонозном – $129,9 \pm 14,6$ Ед./л ($p < 0,05$), при гангренозном – $57 \pm 18,5$ Ед./л ($p < 0,05$).

Заключение. Определение концентрации ГГТП и ЩФ в сочетании с другими диагностическими критериями позволяет с высокой специфичностью и чувствительностью до операции установить наличие деструктивных форм острого холецистита.

Ключевые слова: прогнозирование, острый холецистит, желчнокаменная болезнь, гамма-глутамилтранспептидаза, щелочная фосфатаза

Статья получена: 15.11.2021

Статья принята: 19.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Яшнов А.А., Лобанов С.Л., Коновалова О.Г., Бурцева М.А., Ханина Ю.С. Дооперационный способ оценки поражения желчного пузыря при остром холецистите. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 253-259. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.25

PREOPERATIVE METHOD OF ASSESSMENT OF GALLBLADDER LESION IN ACUTE CHOLECYSTITIS

Yashnov A.A.,
Lobanov S.L.,
Konovalova O.G.,
Burtseva M.A.,
Hanina Yu.S.

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39A, Chita 672000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Aleksey A. Yashnov,
e-mail: alexyashnov@mail.ru

ABSTRACT

Background. To date acute cholecystitis remains one of the most common urgent abdominal diseases in which postoperative complications and mortality are possible.

The aim. To assess the correlation of gamma-glutamyltranspeptidase and alkaline phosphatase concentrations in blood plasma with the form of acute cholecystitis.

Methods. A study of 105 patients with acute calculous cholecystitis, 35 – with chronic calculous cholecystitis (comparison group), who underwent laparoscopic cholecystectomy, was performed. At admission to the hospital, the activity of gamma-glutamyltranspeptidase (GGTP) and alkaline phosphatase in blood plasma was determined by kinetic colorimetric method.

Results. A direct correlation was revealed between the level of GGTP concentration and the severity of destruction in the gallbladder wall. With catarrhal cholecystitis, it was 340 ± 116.9 U/l ($p < 0.05$), with phlegmonous – 108.1 ± 29.5 U/l ($p < 0.05$), with gangrenous – 32.9 ± 7.5 U/l ($p < 0.05$). Along with this, a direct correlation was revealed between the concentration of alkaline phosphatase and the severity of destruction in the gallbladder wall. In catarrhal cholecystitis, the enzyme activity was 160.3 ± 34.2 U/l ($p < 0.05$), in phlegmonous – 129.9 ± 14.6 U/l ($p < 0.05$), in gangrenous – 57 ± 18.5 U/l ($p < 0.05$).

Conclusion. Determination of the concentration of GGTP and alkaline phosphatase in combination with other diagnostic criteria makes it possible to determine the presence of destructive forms of acute cholecystitis with high specificity and sensitivity before surgery.

Key words: prognosis, acute cholecystitis, destructive cholecystitis, cholelithiasis, gamma-glutamyltranspeptidase, alkaline phosphatase

Received: 15.11.2021
Accepted: 19.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Yashnov A.A., Lobanov S.L., Konovalova O.G., Burtseva M.A., Hanina Yu.S. Preoperative method of assessment of gallbladder lesion in acute cholecystitis. *Acta bio-medica scientifica*. 2022; 7(3): 253-259. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.25

В настоящее время при изучении патологических процессов активно стали использоваться методы математического моделирования. Благодаря применению данных методов в прогнозировании появилась возможность своевременно оценить течение заболевания и подобрать те методы лечения, которые со значительной достоверностью окажут положительный эффект [1].

Острый холецистит считается одним из самых важных и до конца не изученных заболеваний ургентной абдоминальной хирургии [2–4]. По литературным данным, летальность от острого холецистита варьирует от 0,6–6,1 % [4–6]. При этом необходимо отметить, что показатель послеоперационной летальности при остром деструктивном холецистите, по данным разных авторов, составляет 2–7 % в молодом возрасте и 12–26 % – в старшей возрастной группе [4, 7, 8]. Несмотря на высокую экономическую эффективность и простоту выполнения известных инструментальных и лабораторных методов диагностики, установлено, что диагностическая точность их остаётся низкой [4, 9–13]. Данный факт, высокая частота послеоперационных осложнений и летальность создают актуальность в разработке новых прогностических критериев оценки деструктивных процессов в стенке желчного пузыря. Своевременная диагностика деструктивного холецистита в группах пациентов пожилого возраста и больных с тяжёлой сопутствующей патологией позволит избежать тяжёлых осложнений и тем самым снизить послеоперационную летальность.

В настоящее время для диагностики острого холецистита используются как лабораторные (общеклинический и биохимический анализы крови), так и инструментальные методы исследования (УЗИ, КТ, МРТ) [4, 13, 14]. Вместе с тем, чувствительность и специфичность указанных методов варьируется в широких пределах. По данным исследований разных авторов отмечено, что лейкоцитоз свыше $11,0 \times 10^9$ наблюдается лишь у половины обследуемых [4, 14]. В своей работе S.H. Strong (2014) показал, что повышение активности ферментов печени наблюдается у 15–50 % пациентов с острым калькулёзным холециститом [13]. Среди инструментальных методов диагностики острого холецистита предпочтение в настоящее время отдаётся УЗИ. Вместе с тем чувствительность данного метода в диагностике острого холецистита варьирует от 50 до 96 %, а специфичность – от 33 до 95 % [4, 13, 14]. При этом следует сказать о том, что по данным УЗИ специфичные критерии острого холецистита (утолщение и слоистость стенки, увеличение размеров желчного пузыря) наблюдаются не всегда. Существует группа пациентов с атрофическими изменениями в стенке желчного пузыря, у которых утолщение стенки будет отсутствовать [13]. Наряду с этим нет критериев УЗИ, которые позволяют диагностировать деструктивный холецистит на дооперационном этапе. Метод КТ обладает чувствительностью 90–95 % и специфичностью 67–96 %. Однако следует отметить, что нет патогномоничного признака деструкции желчного пузыря при выполнении КТ исследования [4, 13]. Другим затратным и трудновыполнимым методом в ряде стационаров является метод МРТ. Чувствительность данного метода составляет 85 %, а специ-

фичность – 81 % [4, 13]. У пациентов с деструктивным холециститом с высокими значениями креатинина и мочевины не представляется возможным выполнить болюсное контрастирование, что снижает чувствительность и специфичность КТ и МРТ на десятки процентов. Исходя из вышесказанного, можно сделать заключение, что в настоящее время отсутствуют лабораторные и инструментальные методы, которые позволили бы оценить выраженность деструкции желчного пузыря в дооперационном периоде.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить сопряжённость концентрации гамма-глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы в плазме крови с формой острого холецистита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено одномоментное исследование 105 пациентов, сопоставимых по возрасту, полу и сопутствующей патологии ($\chi^2 = 0,9$) (табл. 1). Пациенты разделены по трём клинико-морфологическим вариантам острого калькулёзного холецистита: острый катаральный холецистит (ОКХ; $n = 35$), острый флегмонозный холецистит (ОФХ; $n = 35$) и острый гангренозный холецистит (ОГХ; $n = 35$). Критериями включения послужили: наличие в анамнезе операции по поводу острого калькулёзного холецистита в возрасте пациента 30–70 лет. Критерии исключения из группы исследования: наличие холелитиаза, осложнённого механической желтухой; возраст младше 30 лет и старше 70 лет. Группу клинического сравнения составили 35 пациентов, страдающих хроническим калькулёзным холециститом (ХКХ). В группу клинического сравнения были включены пациенты, страдающие хроническим калькулёзным холециститом в возрасте 30–70 лет, при обследовании которых не выявлено патологии желудка, двенадцатиперстной кишки, оперированные стандартной методикой лапароскопической холецистэктомии. В группу клинического сравнения не включались пациенты, страдающие хроническим калькулёзным холециститом, острым калькулёзным холециститом, в возрасте младше 30 и старше 70 лет, при обследовании которых выявлена патология желудка, двенадцатиперстной кишки.

В момент обращения больного в стационар с подозрением на острый холецистит определялась активность энзимов в сыворотке (плазме) крови: гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) и щелочной фосфатазы стандартным кинетическим колориметрическим методом с помощью наборов реактивов «Гамма-глутамилтранспептидаза» («Витал») и «Щелочная фосфатаза» («Витал») [14].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы SPSS Statistics 7.0 (IBM Corp., США) с соблюдением принципов статистического анализа, принятых для исследований в биологии и медицине. Результаты приведены в среднем значении

ТАБЛИЦА 1
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ВОЗРАСТА И ПОЛА

Подгруппы пациентов	Численность, абс. (%)					
	до 30 лет		от 30 до 50 лет		старше 50 лет	
	М	Ж	М	Ж	М	Ж
ОКХ	3 (8,6 %)	5 (14,3 %)	4 (11,4 %)	16 (45,7 %)	1 (2,9 %)	6 (17,1 %)
ОФХ	2 (5,7 %)	7 (20 %)	5 (14,3 %)	14 (40 %)	3 (8,6 %)	4 (11,4 %)
ОГХ	4 (11,4 %)	3 (8,6 %)	7 (20 %)	13 (37,1 %)	1 (2,9 %)	7 (20 %)
ХКХ	2 (5,7 %)	4 (11,4 %)	4 (11,4 %)	17 (48,6 %)	3 (8,6 %)	5 (14,3 %)
Всего ($n = 140$)	11 (7,9 %)	19 (13,5 %)	20 (14,3 %)	60 (42,9 %)	8 (5,7 %)	23 (15,7 %)

TABLE 1
DISTRIBUTION OF PATIENTS DEPENDING ON AGE
AND GENDER

со средней квадратичной ошибкой ($M \pm m$). Для исследования взаимосвязей между изучаемыми параметрами проводили парный корреляционный анализ по Пирсону. Распределение степеней свободы оценивалось критерием хи-квадрат для оценки качественных данных в трёх и более независимых группах. При сравнении средних значений количественного признака в трёх и более независимых группах при нормальном распределении данных во всех группах проводился однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Критерий Фридмана использовался для сравнения трёх и более связанных выборок, данные в которых не подчиняются закону нормального распределения. Для парного сравнения независимых выборок использовался критерий Манна – Уитни [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При обследовании больных холециститом до операции нами получены весьма интересные результаты. Так, в группе клинического сравнения средний показатель активности ГГТП составил $57 \pm 27,5$ Ед./л, что не превышает среднее значение нормы. Вместе с тем у пациентов с острым калькулёзным холециститом средние значения концентрации ГГТП составили $160,3 \pm 68,8$ Ед./л, что выше значений нормы (64 Ед./л) в 2,5 раза ($p < 0,05$), а значений группы сравнения – в 2,8 раза ($p < 0,05$). Установлено, что в группе клинического сравнения средний показатель концентрации

ЩФ составил $65,3 \pm 15,2$ Ед./л, что находится в пределах значений нормы. При этом у пациентов с острым калькулёзным холециститом средняя концентрация ЩФ составила $115,7 \pm 25,6$ Ед./л, что в 1,8 раза выше ($p < 0,05$) относительно группы клинического сравнения (табл. 2).

При этом средняя концентрация ГГТП у больных с ОКХ составила $340 \pm 116,9$ Ед./л, что превосходит значения, полученные в группе хронического калькулёзного холецистита (группа клинического сравнения) в 6 раз ($p < 0,05$). Наряду с этим установлено, что у пациентов с ОФХ средний показатель концентрации ГГТП – $108,1 \pm 29,5$ Ед./л, что в 3,1 раза ниже ($p < 0,05$), чем при остром катаральном холецистите. При этом у больных с ОГХ средние значения ГГТП составили $32,9 \pm 7,5$, что ниже показателей во всех группах: группы больных с острым флегмонозным холециститом – в 3,3 раза ($p < 0,05$), с катаральным холециститом – в 10,6 раза, группы сравнения – в 1,7 раза ($p < 0,05$) (рис. 1).

Установлено, что средний показатель концентрации ЩФ у пациентов с ОКХ – $160,3 \pm 28,9$ Ед./л, что превышает среднюю концентрацию в группе больных с хроническим калькулёзным холециститом в 2,5 раза. Вместе с тем выявлено, что у пациентов с ОФХ средние значения концентрации ЩФ составили $129,9 \pm 14,6$ Ед./л, что в 1,2 раза ниже, чем при катаральном холецистите. При этом у больных с ОГХ средняя концентрация ЩФ оказалась $57 \pm 18,5$ Ед./л ($p < 0,05$), что ниже показателей во всех группах: группы больных с острым флегмонозным холециститом – в 2,3 раза, с катаральным холециститом – в 2,8 раза, группы сравнения – в 1,1 раза (рис. 2).

ТАБЛИЦА 2
КОНЦЕНТРАЦИЯ ГГТП В ГРУППЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ГРУППЕ КЛИНИЧЕСКОГО СРАВНЕНИЯ

Изменения концентрации ГГТП/ЩФ, Ед./л	Острый калькулёзный холецистит ($n = 105$)	Группа клинического сравнения ($n = 35$)
Средний показатель концентрации энзима	160,3*/115,7*	57/65,3
Среднеквадратичное отклонение	68,8/25,6	27,5/15,2

Примечание. * – $p \leq 0,05$ критерий хи-квадрат в группе ОКХ и группе клинического сравнения.

TABLE 2
GGTP CONCENTRATION IN THE STUDY GROUP
AND THE CLINICAL COMPARISON GROUP

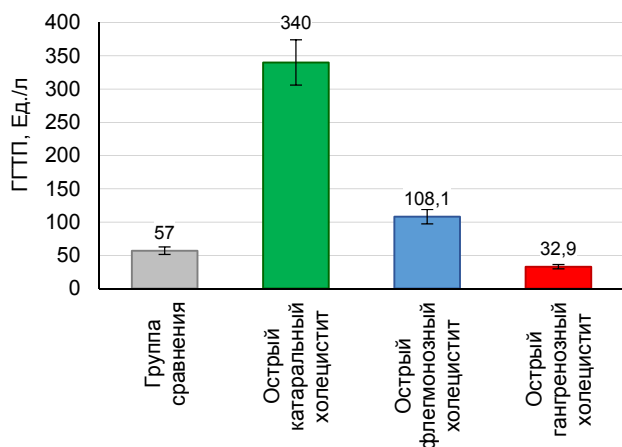


РИС. 1.

Распределение значений ГГТП у пациентов с различными вариантами клинического течения острого калькулёзного холецистита

FIG. 1.

Distribution of the GGTP value in patients with different variants of the clinical course of acute calculous cholecystitis

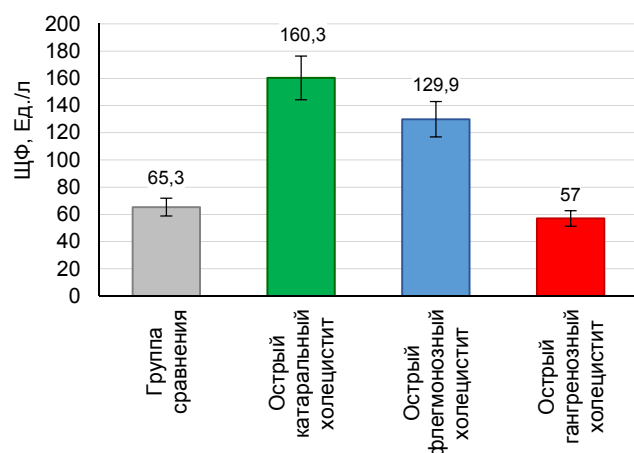


РИС. 2.

Распределение значений ЩФ у пациентов с различными вариантами клинического течения острого калькулёзного холецистита

FIG. 2.

Distribution of the values of the alkaline phosphatase in patients with different variants of the clinical course of acute calculous cholecystitis

Учитывая, что УЗИ желчного пузыря не даёт достаточного количества информации о степени выраженности деструктивного процесса в стенке желчного пузыря, в отличие от разработанного способа, определение концентрации ГГТП и ЩФ в периферической крови больных острым холециститом может служить дополнением к УЗИ, что позволит улучшить качество своевременной диагностики острого деструктивного холецистита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Базируясь на полученных данных выявлено, что у пациентов с деструктивным холециститом (флегмонозный, гангренозный) концентрация ГГТП составила $70,5 \pm 18,5$ Ед./л ($p < 0,05$), а при недеструктивном (катаральном) холецистите – $340 \pm 116,9$ Ед./л. Вместе с тем у пациентов с деструктивным холециститом показатель концентрации ЩФ составил $93,5 \pm 16,5$ Ед./л, а при недеструктивном – $160,3 \pm 34,2$ Ед./л.

Анализируя полученные данные, представляется возможным сделать следующее заключение: гамма-глутамилтранспептидаза – это фермент, который сконцентрирован в слизистой оболочке и, вероятнее всего, его повышение связано с воспалением в слизистом слое желчного пузыря, а резкое снижение происходит вследствие разрушения данной структуры. Щелочная фосфатаза – фермент, который катализирует гидролиз ряда фосфомоноэфиров и активируется при значениях pH 8,4–9,4. Вместе с тем, при деструкции стенки органа pH в желчном пузыре меняется в кислую сторону, что и способствует снижению активности щелочной фосфатазы. В результате исследования установлена закономерность сопряжённости модуляции гамма-глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы при деструктивном процессе в органе.

Определение концентрации ГГТП и ЩФ в сочетании с другими основными ферментами позволяет с высокой чувствительностью (77,2 %; 95% ДИ: 71,5–82,9; отношение правдоподобных – 2,5; 95% ДИ: 1,06–6,05) и специфичностью (57,2 %; 95% ДИ: 43,8–70,6) прогнозировать наличие острого деструктивного процесса в стенке желчного пузыря уже до хирургического вмешательства. Указанное имеет не только академическое, но и прикладное значение, внося достоверную информацию по установлению адекватного лечебного алгоритма.

ВЫВОДЫ

Определение концентрации ГГТП и ЩФ в периферической крови больных острым холециститом позволяет до операции установить характер и выраженность поражения слизистой оболочки желчного пузыря, что может иметь и прикладное значение для своевременного установления алгоритма лечения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агапчев А.В. Методы прогнозирования процессов в медицине. *Интеллектуальные технологии и средства реабилитации и абилитации людей с ограниченными возможностями (ИТСР-2017): Материалы II Всероссийской конференции*. 2018: 105-106.

2. Уханов А.П., Чарчян Г.Л., Новожилов Е.В., Большаков С.В., Захаров Д.В. Сравнительный анализ результатов использования эндовидеохирургической и традиционной холецистэктомии у больных острым деструктивным холециститом в различных возрастных группах. *Эндовидеохирургия в условиях многопрофильного стационара: Материалы международной научно-практической конференции*. 2014: 142-144.

3. Норов А.Х., Рахматуллаев Р.Р., Курбонов Д.М., Рахматуллаев А.Р., Хасанов С.В. Особенности лапароскопической холецистэктомии у больных пожилого и старческого возраста, страдающих острым холециститом. *Эндовидеохирургия в условиях многопрофильного стационара: Материалы международной научно-практической конференции*. 2014: 80-84.

4. Ревишвили А.Ш., Оловянный В.Е., Сажин В.П., Захарова М.А., Кузнецов А.В., Миронова Н.Л. и др. *Хирургическая помощь в Российской Федерации*. М.; 2020.

5. Yokoe M, Hata J, Takada T, Strasberg S, Asbun H, Wakabayashi G, et al. Tokyo guidelines 2018 diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2018; 25(1): 41-54. doi: 10.1002/jhbp.515

6. Буриев И.М., Мелконян Г.Г., Малуя Н.С., Пчелин В.В., Шомахов М.Г. Ультразвуковая и клинико-лабораторная диагностика истинных морфологических форм острого холецистита: необходимость смены классификации. *Анналы хирургической гепатологии*. 2020; 25(3): 55-62. doi: 10.16931/1995-5464.2020355-62

7. Зикриярова Н.Т., Мулат С.Т., Закиров З.К., Юсупов Д.У., Кумарбеков Т.М., Ли Г.В. Искусственный интеллект – перспективное направление медицины: математические методы распознавания образов применительно к задачам диагностики, прогнозирования и классификации в области хирургии. *Global Science and Innovations: General Asia*. 2021; 2(12): 42-47.

8. Луцевич О.Э. Острый холецистит: возможности лапароскопической хирургии. *Анналы хирургической гепатологии*. 2020; 25(3): 63-70. doi: 10.16931/1995-5464.2020363-70

9. Давлатов С.С., Жураева Ф.Ф., Юсупалиева К.Б. Эффективность миниинвазивных методов хирургического лечения больных с острым деструктивным холециститом. *Academy*. 2017; 7(22): 92-94.

10. Давлатов С.С., Аскарлов П.А. Результаты лечения больных с желчеистечением после холецистэктомии. *Молодой организатор здравоохранения: Сборник научных статей студентов*. 2013: 68.

11. Rakhmanov KE, Kurbaniyazov ZB, Akbarov MM, Davlatov SS. The treatment of patients with major bile duct injuries. *Академический журнал Западной Сибири*. 2013; 9(1): 33-34.

12. Davlatov SS, Kasymov ShZ, Kurbaniyazov ZB, Rakhmanov KE, Ismailov AO. Plasmapheresis in the treatment of cholemic endotoxemia. *Академический журнал Западной Сибири*. 2013; 9(1): 30-31.

13. Ярославцев М.И., Пахомов М.А., Морозов А.М. Особенности диагностики острого холецистита у различных пациентов. *Forcipe*. 2020; 3(51): 87-95.

14. Долгов В.В., Меньшиков В.В. *Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство*. В 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.

15. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа качественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 151-163. doi: 10.52485/19986173_2020_1_151

REFERENCES

1. Agapchev AV. Methods for predicting processes in medicine. *Intellectual'nye tekhnologii i sredstva reabilitatsii i abilitatsii lyudey s ograniченными возможностями (ITSR-2017): Materialy II Vserossiyskoy konferentsii*. 2018: 105-106. (In Russ.).

2. Ukhonov AP, Charchyan GL, Novozhilov EV, Bolshakov SV, Zakharov DV. Comparative analysis of the results of using endovideosurgical and traditional cholecystectomy in patients with acute destructive cholecystitis in different age groups. *Endovideokhirurgiya v usloviyakh mnogoprofil'nogo stacionara: Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. 2014: 142-144. (In Russ.).

3. Norov AKh, Rakhmatullaev RR, Kurbonov DM, Rakhmatullaev AR, Khasanov SV. Features of laparoscopic cholecystectomy in elderly and senile patients suffering from acute cholecystitis. *Endovideokhirurgiya v usloviyakh mnogoprofil'nogo stacionara: Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. 2014: 80-84. (In Russ.).

4. Revishvili ASH, Olovyannyi VE, Sazhin VP, Zakharova MA, Kuznetsov AV, Mironova NL, et al. *Surgical Care in the Russian Federation*. Moscow; 2020. (In Russ.).

5. Yokoe M, Hata J, Takada T, Strasberg S, Asbun H, Wakabayashi G, et al. Tokyo guidelines 2018 diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2018; 25(1): 41-54. doi: 10.1002/jhbp.515

6. Buriev IM, Melkonyan GG, Malyuga NS, Pchelin VV, Shomakhov MG. Ultrasound and clinical and laboratory diagnostics of true morphological forms of acute cholecystitis: the need to change the classification. *Annals of HPB Surgery*. 2020; 25(3): 55-62. (In Russ.). doi: 10.16931/1995-5464.2020355-62

7. Zikriyaroova NT, Mulat ST, Zakirov ZK, Yusupov DU, Kumbekov TM, Li GV. Artificial intelligence is a promising area of medicine: mathematical methods of pattern recognition in relation to the problems of diagnostics, prediction and classification in the field of surgery. *Global Science and Innovations: General Asia*. 2021; 2(12): 42-47. (In Russ.).

8. Lutsevich OE. Acute cholecystitis: possibilities of laparoscopic surgery. *Annals of HPB Surgery*. 2020; 25(3): 63-70. (In Russ.). doi: 10.16931/1995-5464.2020363-70

9. Davlatov SS, Zhuraeva FF, Yusupaliyeva KB. The effectiveness of minimally invasive methods of surgical treatment of patients with acute destructive cholecystitis. *Academy*. 2017; 7(22): 92-94. (In Russ.).

10. Davlatov SS, Askarov PA. Results of treatment of patients with bile leakage after cholecystectomy. *Molodoy organizator zdorovookhraneniya: Sbornik nauchnykh statey studentov*. 2013: 68. (In Russ.).

11. Rakhmanov KE, Kurbaniyazov ZB, Akbarov MM, Davlatov SS. The treatment of patients with major bile duct injuries. *Akademicheskij zhurnal Zapadnoy Sibiri*. 2013; 9(1): 33-34. (In Russ.).

12. Davlatov SS, Kasymov ShZ, Kurbaniyazov ZB, Rakhmanov KE, Ismailov AO. Plasmapheresis in the treatment of cholemic endotoxemia. *Akademicheskij zhurnal Zapadnoy Sibiri*. 2013; 9(1): 30-31. (In Russ.).

13. Yaroslavtsev MI, Pakhomov MA, Morozov AM. Features of the diagnosis of acute cholecystitis in various patients. *Forcipe*. 2020; 3(51): 87-95. (In Russ.).

14. Dolgov VV, Menshikov VV. *Clinical laboratory diagnostics: National guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (In Russ.).

15. Mudrov VA. Algorithms for statistical analysis of qualitative features in biomedical research using the SPSS software package. *The Transbaikal Medical Bulletin*. 2020; 1: 151-163. (In Russ.). doi: 10.52485/19986173_2020_1_151

Сведения об авторах

Яшнов Алексей Александрович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: alexyashnov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6881-4455>

Лобанов Сергей Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: slobanov15@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1665-3754>

Коновалова Ольга Геннадьевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: konovalovaolgagen@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5601-9558>

Бурцева Мария Александровна – аспирант кафедры факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: burseva94@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0497-5086>

Ханина Юлия Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры, факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: assistenty@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0392-288X>

Information about the authors

Aleksey A. Yashnov – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Intermediate Level Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: alexyashnov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6881-4455>

Sergey L. Lobanov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Intermediate Level Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: slobanov15@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1665-3754>

Olga G. Konovalova – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Intermediate Level Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: konovalovaolgagen@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5601-9558>

Maria A. Burtseva – Postgraduate at the Department of Intermediate Level Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: burseva94@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0497-5086>

Yuliya S. Hanina – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Intermediate Level Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: assistenty@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0392-288X>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ДЕЙСТВИЕ «РАННИХ» БЕЛКОВ E2, E6 И E7 ПАПИЛЛОМАВИРУСА ВЫСОКОКАНЦЕРОГЕННОГО ТИПА ВПЧ16 НА РАКОВЫЕ КЛЕТКИ HeLa, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ РАЗРАСТАНИЯ В ЛЁГКИХ У МЫШЕЙ

Салаяев Р.К.,
Рекославская Н.И.

ФГБУН Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
(664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Рекославская Наталья Игоревна,
e-mail: rekoslavskaya@sifibr.irk.ru

РЕЗЮМЕ

Целью работы было изучение возможности создания растительной пероральной терапевтической вакцины против рака при использовании антигенного белка ВПЧ16 E2, кодируемого «ранним» геном *hvp16 E2*. Для этого исследовали опухоли в лёгких у мышей после инокуляции с раковыми клетками HeLa, а также лёгкие после вакцинации белком ВПЧ16 E2. При этом анализировали индукцию иммуногенеза Т-лимфоцитов у мышей при действии вакцины на основе антигенного белка ВПЧ16 E2.

Материалы и методы. В работе использовали раковые клетки HeLa, периферические мононуклеарные клетки крови, спленоциты и изолированные лёгкие у мышей. Индукцию иммунного клеточного ответа оценивали методом Элиспот.

Результаты. «Ранние» онкогенные белки ВПЧ16 E6 и E7 не влияли на рост раковых клеток HeLa *in vitro*. При внесении «раннего» ВПЧ16 E2 в суспензию клеток HeLa происходило их моментальное разрушение, фиксируемое трипановым синим. В тканях изолированных лёгких у мышей после инокуляции с HeLa были обнаружены 4 типа опухолей: 1 – округлые периферические опухоли, 2 – центральные опухоли в области трахеальной карины, 3 – пневмониеподобные опухоли с гиперхромными ядрами на долях лёгких, сходные с круглоклеточной саркомой мягких тканей дыхательных путей, и 4 – опухоли, подобные раку Пенкаста в верхних долях лёгких. При вакцинации белком ВПЧ16 E2 в присутствии клеток HeLa были выявлены паттерны нормальных тканей лёгких. В крови и спленоцитах вакцинированных мышей выявлено высокое содержание Т-клеточного рецептора (TCR), γ-интерферона, CD4/CD8-Т-лимфоцитов, а также ферментов апоптоза: гранзима В, перфорины и гранулизина.

Заключение. Исследование перспективно для разработки пероральной терапевтической вакцины на основе растительной экспрессионной системы (томаты) с антигенным белком ВПЧ16 E2 против рака лёгких, рака шейки матки и других типов рака.

Ключевые слова: клетки HeLa, ВПЧ16 E2, индукция опухолей лёгких у мышей, γ-интерферон, Т-клеточный рецептор, CD4/CD8-Т-лимфоциты, гранзим В, гранулизин, перфорин, регрессия опухолей

Статья получена: 17.03.2022
Статья принята: 01.06.2022
Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Салаяев Р.К., Рекославская Н.И. Действие «ранних» белков E2, E6 и E7 папилломавируса высококанцерогенного типа ВПЧ16 на раковые клетки HeLa, вызывающие опухолевые разрастания в лёгких у мышей. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 260-276. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.26

THE EFFECT OF “EARLY” PROTEINS E2, E6 AND E7 OF PAPILLOMAVIRUS OF HIGH-RISK CANCEROGENOUS TYPE HPV16 ON CANCER HeLa CELLS, INDUCING TUMOUR GROWTHS IN MICE LUNGS

Salyaev R.K.,
Rekoslavskaya N.I.

Siberian Institute of Plant
Physiology and Biochemistry SB RAS
(Lermontova str. 132, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalya I. Rekoslavskaya,
e-mail: rekoslavskaya@sifibr.irk.ru

ABSTRACT

The goal of investigation was the development of oral therapeutic vaccine against cancer on basis of antigenic regulatory protein HPV16 E2 encoded by the “early” hpv16 E2 gene.

The aim. *To study tumour growths in mice lungs inoculated with cancer HeLa cells and then vaccinated with vaccine material of transgenic tomato with the gene/protein HPV16 E2, and to study the activation of the immunogenesis of T-lymphocytes in mice after oral vaccination with HPV16 E2.*

Materials and methods. *Proliferating cancer HeLa cells, mice peripheral blood mononuclear cells, splenocytes, intact and isolated lungs of mice were used in the study. Elispot was used for the evaluation of increasing of immunogenicity.*

Results. *“Early” proteins HPV16 E6 or HPV16 E7 did not reveal any effect on HeLa cells. The regulatory antigenic “early” protein HPV16 E2 drastically degraded HeLa cells recorded by trypane blue. Four types of tumours were found in mice lung lobes placed in the suspension of cancer HeLa cells for 2–5 days: 1 – peripheral round tumours on epithelium, 2 – central tumours in the area of tracheal carina, 3 – pneumonia-like peripheral cancer on lung lobes which was very similar to small-round-cell lung sarcoma with hyperchromic nuclei and 4 – Pancoast-like cancer in apical parts of lung lobe. Patterns of normal developed lung tissues were viewed on slices of lungs infected with HeLa in the presence of E2 simultaneously. The very high contents of γ -interferon, CD4/CD8 T lymphocytes, T cell receptor and apoptotic enzymes: granzyme B, perforin and granulysin – were detected in blood and splenocytes of mice vaccinated with HPV16 E2.*

Conclusion. *The study is promising for the development of an oral therapeutic vaccine based on a plant expression system (tomatoes) with the HPV16 E2 antigenic protein against lung cancer, cervical cancer and other types of cancer.*

Key words: *cancer HeLa cells, HPV16 E2, the induction of tumour lungs in mice, γ -interferon, T cell receptor, CD4/CD8 T lymphocytes, granzyme B, perforin, granulysin*

Received: 17.03.2022
Accepted: 01.06.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I. The effect of “early” proteins E2, E6 and E7 of papillomavirus of high-risk cancerogenous type HPV16 on cancer HeLa cells, inducing tumour growths in mice lungs. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 260-276. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.26

ОБОСНОВАНИЕ

По данным Международного агентства по исследованию рака (International Agency for Research on Cancer, GLOBOCAN 2020 при ВОЗ), в 2020 г. ежегодный прирост заболеваемости раком составил 19,3 млн человек, из которых 10,0 млн умерло [1]. На долю рака шейки матки приходится 0,7 млн смертей, а от рака лёгких скончалось около 2,2 млн человек. Рак лёгких является трудноизлечимым заболеванием: только 15 % больных удаётся выздороветь. Предполагается, по прогнозам ВОЗ, что прирост заболеваний рака в ближайшее десятилетие увеличится, по меньшей мере на 50 % [1]. Создаются различные вакцины против рака, но ни одна из них не получила официального признания.

Раковые клетки HeLa являются причинным агентом рака шейки матки и ряда других типов рака. Но в отношении развития опухолей лёгких таких сведений в литературе нет. В составе генома клеток HeLa содержится до 6 геномов папилломавируса высококанцерогенного типа ВПЧ18. Канцерогенез, вызываемый папилломавирусами, обусловлен экспрессией двух «ранних» онкогенов ВПЧ E6 и ВПЧ E7 (от англ. early – ранний), которые кодируют «ранние» онкобелки E6 и E7, обеспечивающие разнообразные нарушения в геноме хозяйских клеток, приводящие к раку, после интеграции папилломавируса в клетки человека [2]. В то же время в геноме папилломавирусов присутствует «ранний» ген ВПЧ E2, кодирующий «ранний» белок E2, являющийся блокатором экспрессии онкогенов E6 и E7 и суперсупрессором опухолевого роста [3]. Но при интеграции белок E2 разрушается и не встраивается в геном клеток хозяина.

Представлялось интересным изучить действие «ранних» белков высококанцерогенного типа папилломавируса ВПЧ16 на раковые клетки HeLa.

В своей работе по созданию терапевтической вакцины против рака шейки матки нами была создана модельная система на мышах для изучения действия раковых клеток HeLa. Впервые было получено опухолеобразование семенников у самцов мышей и опухолеобразование в лёгких, как у самцов, так и у самок мышей, после инъекции раковых клеток HeLa в бедренную мышцу [4]. В связи с полученными данными, задачами работы было изучение и сравнение действия «ранних» белков на клетки HeLa *in vitro* при их внесении в клеточные культуры, а также анализ суперсупрессорного антиканцерогенного действия «раннего» белка E2 на опухоли интактных и изолированных лёгких, возникших в присутствии раковых клеток HeLa, которое, по-видимому, могло быть опосредовано индукцией иммунного клеточного ответа.

МЕТОДЫ

Белые конвенциональные (беспородные) лабораторные мыши для экспериментов были получены из вивария Восточно-Сибирского института медико-экологических исследований (г. Ангарск). Работа с мышами была одобрена на заседании биоэтического совета ФБГНУ СИ-

ФИБР СО РАН (протокол заседания № 9 от 30.10.2019). При содержании мышей соблюдали стандартные условия, прописанные в ГОСТ 33215-2014, 33216-2014.

Раковые клетки HeLa получали из фирмы «Биолот» (г. Санкт-Петербург). Содержание, выращивание и криосохранение производили в соответствии с рекомендациями фирмы. Для экспериментов использовали питательную среду DMEM с добавлением 10%-й сыворотки плодов коровы («Биолот») и антибиотиков: 500 ед./мл пенициллина G и 50 мг/л стрептомицина. Для изучения индукции опухолеобразования инъектировали 100 мкл свежеевыращенной суспензии клеток HeLa в бедренную мышцу мышей. После этого мышей оставляли жить, так как они были вполне жизнеспособными в течение 2–3 месяцев, в течение которых производили вакцинирование и последующее их выращивание. Для экспериментов лёгкие выделяли из мышей, сразу помещали в суспензию клеток HeLa и проводили мониторинг опухолеобразования. Появляющиеся опухоли в лёгких окрашивали либо азур-эозином по Романовскому, либо анализировали на микротомных срезах после процедур стандартного обезживания, парафинирования и окраски гематоксилином по Carazzi согласно методикам, опубликованным в [5]. Срезы получали с помощью санного микротомы (Союзмедпром, СССР).

Синтез «ранних» белков ВПЧ16 E2, E6 и E7 осуществляли в растительной экспрессионной системе по ранее опубликованному методу [6], при этом выход антигенных белков ВПЧ16 составлял 25–30 мкг/мг общего растворимого белка. Количественное определение антигенных «ранних» белков E2, E6 и E7 проводили с помощью иммуноферментного анализа [6, 7] при использовании следующих первичных антител как стандартов: HPV16 E2 Antibody (TVG 261, sc-53336) (Santa Cruz Biotechnology Inc., США), HPV16 E6/18 E6 Antibody (C1P5, sc-460) (Santa Cruz Biotechnology Inc., США), Papillomavirus 16 E7 Antibody [SPM405] (GenWay Biotech Inc., США).

Анализ индукции синтеза антител после вакцинации мышей вакцинным материалом плодов с генами ВПЧ16 E2, E6 и E7 проводили иммуноферментным методом (ИФА) [7]. Для этого ИФА анализа было взято следующее количество мышей: $n = 50$ – для ВПЧ16 E2, $n = 20$ – для ВПЧ16 E6 и $n = 25$ – для ВПЧ16 E7. Перекрытие последовательностей генов E6 и E7 в геноме папилломавируса позволило использовать антитела к ВПЧ16 E7 (Papillomavirus 16 E7 [SPM405] Antibody, GenWay Biotech Inc., США) также и для иммуноферментного анализа содержания ВПЧ16 E6. Стандартный раствор HPV16 E7 (Human Papillomavirus, Type 16, Oncoprotein E7, GWP-1F6914, GenWay Biotech Inc., США) был использован в работе для определения количества E7 и E6 в иммуноферментном анализе.

Выделение лимфоцитов из периферической крови мышей, из селезёнки и процедуру Элспот проводили согласно ранее опубликованным методам [8]. При изготовлении фотографий клеток и органов использовали цифровую фотокамеру, световой микроскоп и видеокамеру Levenhuk C310 NG (Levenhuk Ltd, США) с разрешением 2048-1536 пс с приложенным к ней программным обеспечением. Для подсчёта «пятен» на нитроцеллюлозной мембране, окрашенных после взаимодействия

генераций Т-лимфоцитов с соответствующими первичными/вторичными антителами и их субстратами, использовали компьютерную программу ACDSee (версия 16).

При анализе Элиспот использовали первичные антитела фирмы Abscam (Великобритания) к соответствующим антигенам: на γ -интерферон – rabbit monoclonal [EPR1108] to interferon gamma (AB133566), моноклональные кроличьи антитела к CD4 Anti-CD4 antibody [EPR19514] (AB183685) recombinant rabbit monoclonal, к CD8 – Anti-CD8 alpha antibody [EPR21769] (AB217344) recombinant rabbit monoclonal [EPR19514], антитела на ферменты апоптоза: на гранзим В – rabbit polyclonal Anti-Granzyme B (AB53097), на перфорин – rat monoclonal Anti-Perforin antibody [CB5.4] (AB16074), Anti-T-Cell Receptor antibody (JOVI.1) (AB5465) mouse monoclonal, на гранулизин – Anti-Human Granulysin (AB213787) monoclonal. В качестве вторичных использовали козьи антитела с привитой щелочной фосфатазой и субстрат/окислитель BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат/нитротетразолий синий) (Sigma, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Анализ индукции антительного ответа на «ранние» белки ВПЧ16 E2, E6 и E7, развитые в сыворотке крови мышей, перорально вакцинированных материалом плодов томата с этими вирусными антигенами белками

Небольшой геном папилломавируса, около 8 тпн, кодирует ограниченное количество белков. Из экспресси-

руемых с «раннего» промотора p97 «ранних» белков наибольший интерес представляют E2, E6 и E7. С «позднего» промотора p670 экспрессируются «поздние» белки оболочки L1 и L2. После установления критической роли онкобелка ВПЧ16 E6 как блокатора антиканцерогенного белка p53 (а для онкобелка ВПЧ16 E7 показано связывание с белком pRb, приводящее к активации пролиферации клеток) основные усилия исследователей были направлены на разработку терапевтической противораковой вакцины на основе антител на онкобелок ВПЧ16 E7 или в сочетании ВПЧ16 E6/E7. Но до настоящего времени не были зарегистрированы терапевтические вакцины на основе антител к E6/E7.

Работу по изучению возможности создания пероральной терапевтической вакцины мы также начали с получения антител к «ранним» белкам ВПЧ16 E2, E6 и E7 в сыворотке крови мышей.

Все три антигенных «ранних» белка ВПЧ16 E2, E6 и E7 выявили высокую активность в индукции синтеза антител, развивая экстинкции при ИФА свыше 3 ед. коэффициента экстинкции. Особенно эффективной была индукция антител антигенным белком ВПЧ16 E7, так как окраска в лунках планшеты ИФА после инкубации с первичными и вторичными антителами начинала развиваться сразу в течение первой минуты после добавления красящего субстрата ортофенилендиамина и давала плотное тёмно-коричневое окрашивание уже через 5 минут инкубации.

На рисунке 1 представлен характерный ИФА активности синтеза антител в сыворотках крови 25 мышей, перорально вакцинированных вакцинным мате-

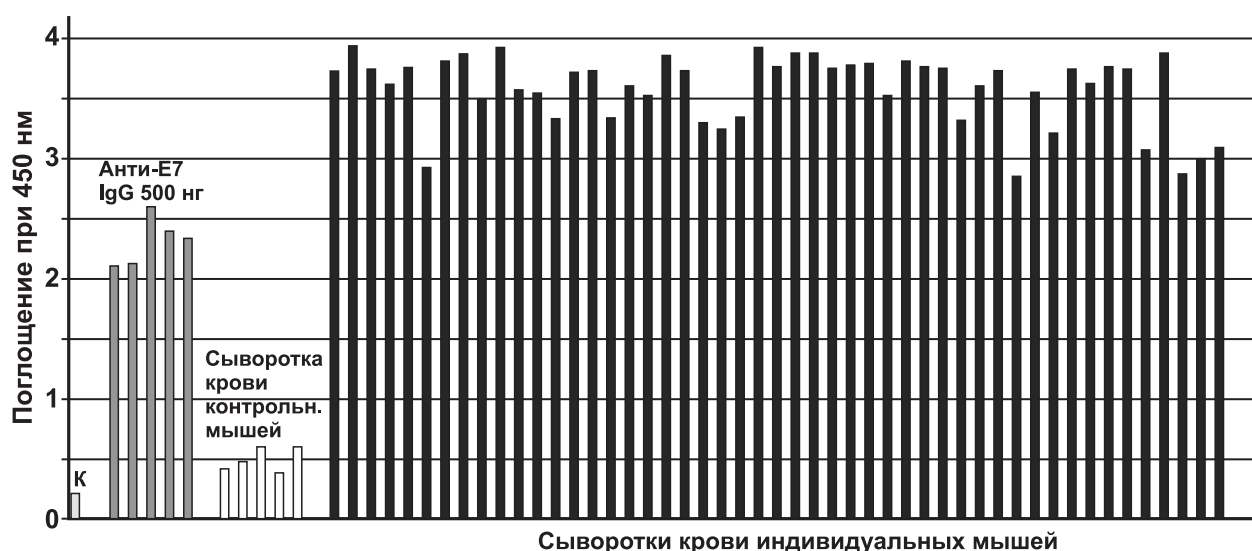


РИС. 1.

ИФА содержания антител к ВПЧ16 E7 в сыворотке крови мышей ($n = 25$), перорально вакцинированных 500 мкг ВПЧ16 E7 в составе вакцинного материала плодов томата, трансгенного по гену *hvp16 E7*: К – контроль фона; Анти-E7 IgG 500 нг – пример взаимодействия стандартных антител 500 нг с 5 мкг стандартного белка HPV16 E7 ($n = 5$); сыворотка крови контрольных мышей ($n = 5$); сыворотки крови индивидуальных вакцинированных мышей ($n = 25$) даны в двух аналитических повторностях

FIG. 1.

ELISA of the content of antibodies to HPV16 E7 in the blood serum of mice ($n = 25$) orally vaccinated with 500 μ g of HPV16 E7 as part of the vaccine material of tomato fruits transgenic for the *hvp16 E7* gene: K – background control; Anti-E7 IgG 500 ng – the result of the reaction of standard antibody 500 ng with 5 mkg of standard protein HPV16 E7 ($n = 5$); control serum blood mice ($n = 5$); serum of vaccinated individual mice ($n = 25$) were analyzed in 2 replicates

риалом плодов томата с белком ВПЧ16 Е7. Можно видеть, что синтез антител после вакцинирования мышей с 500 мкг ВПЧ16 Е7 был практически равномерным, и экстинкция была выше, чем при взаимодействии 500 нг стандартных антител к ВПЧ16 Е7 (Papillomavirus 16 Е7 [SPM405] Antibody, GenWay Biotech Inc., США) и 5 мкг стандартного раствора HPV16 Е7 (Human Papillomavirus, Type 16, Oncoprotein Е7, GWPB-1F6914, GenWay Biotech Inc., США). В крови контрольных мышей антител к ВПЧ16 Е7 обнаружено не было, по данным ИФА.

Принимая во внимание высокий синтез антител в сыворотке крови мышей перорально вакцинированных вакцинным материалом плодов томата с ВПЧ16 Е7, было решено испытать действие вакцины с Е7 на аногенитальную опухоль самки мышей размером в диаметре 12 мм. В первые 3–5 суток после перорального вакцинирования с ВПЧ16 Е7 действительно произошло уменьшение размеров опухоли на 40 %. Но после десятого дня вакцинирования в основании опухоли стали разрастаться дочерние опухоли. Поэтому испытания прекратили.

По-видимому, высокий синтез антител не был критичным для опухоли, а вакцина на основании антителного ответа представилась малоперспективной. С другой стороны, если в суспензию раковых клеток HeLa вводили сыворотку мышей, вакцинированных ВПЧ16 Е2, то происходило довольно быстрое (в течение первой ми-

нуты) разрушение этих клеток, регистрируемое по окрашиванию трипановым синим (ТС).

2. Анализ действия «ранних» белков ВПЧ16 Е2, Е6 и Е7 на клетки HeLa

Как можно видеть на рисунке 2, клетки HeLa, хранящиеся в низкотемпературном морозильнике при -61°C , росли и делились (рис. 2а) при их культивировании в питательной среде DMEM с 10 % сыворотки плодов коровы. Об их высокой функциональной активности свидетельствует интенсивная окраска нитротетразолием синим (NBT, nitroblue tetrazolium), прижизненным митохондриальным красителем (рис. 2б). Трипановый синий (ТС), окрашивающий мёртвые клетки вследствие нарушения мембран, не взаимодействовал с живыми клетками HeLa (рис. 2в). Если в питательную среду вносили «ранний» белок ВПЧ16 Е2, клетки HeLa практически моментально разрушались, и под микроскопом на таких препаратах были видны обломки клеток, которые хорошо прокрашивались ТС (рис. 2г). В присутствии ВПЧ16 Е6 клетки HeLa не прокрашивались ни NBT (рис. 2д), ни ТС (рис. 2е). При добавлении ВПЧ16 Е7 клетки HeLa теряли адгезивность, то есть плавали в суспензии во флаконе, не оседая на дно, но также не прокрашивались ни NBT (рис. 2ж), ни ТС (рис. 2з). Поскольку только «ранний» белок ВПЧ16 Е2 оказал существенное влияние на клетки HeLa, дальнейшая экспериментальная работа проводилась с этим «ранним» белком.

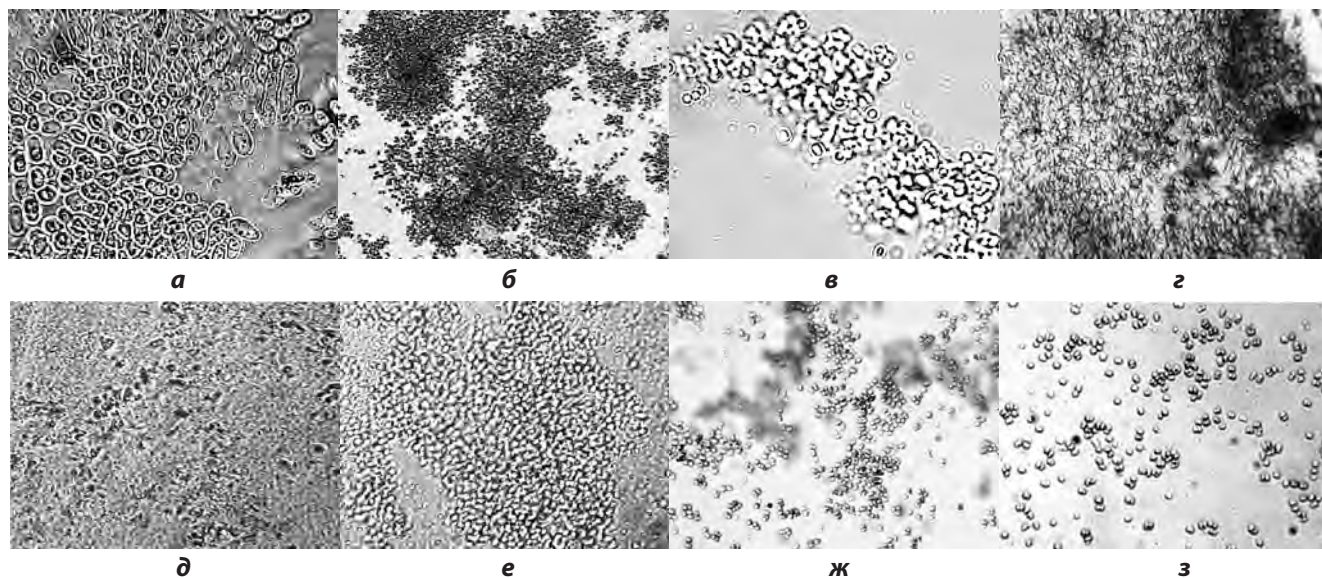


РИС. 2.

Действие «ранних» белков ВПЧ16 Е2, Е6 и Е7 на раковые клетки HeLa: **а** – клетки свежесозданной суспензии HeLa; **б** – окрашивание клеток HeLa с NBT; **в** – отсутствие окраски с ТС; **г** – полное разрушение клеток HeLa и прокрашивание с ТС после добавления ВПЧ16 Е2; **д** – отсутствие окрашивания клеток HeLa с NBT в присутствии ВПЧ16 Е6; **е** – отсутствие окрашивания клеток HeLa в присутствии «раннего» белка ВПЧ16 Е6 и ТС; **ж** – отсутствие окрашивания клеток HeLa с NBT при добавлении ВПЧ16 Е7; **з** – отсутствие окрашивания клеток HeLa с ТС при добавлении ВПЧ16 Е7. Световой микроскоп, увеличение $\times 360$. Разрешение видеокамеры с программным обеспечением Levenhuk (США) 2048–1536 пс

FIG. 2.

The effect of the “early” proteins HPV16 E2, E6 and E7 on cancer HeLa cells: **a** – cells of fresh grown suspension of HeLa cells; **b** – HeLa cells stained with NBT; **c** – the absence of staining of HeLa cells with TB (trypan blue); **d** – the full destruction of HeLa cells and staining with TB after the addition of the HPV16 E2; **e** – the absence of staining of HeLa cells with NBT in the presence of the “early” protein HPV16 E6; **f** – the absence of staining of HeLa cells in the presence of the “early” protein HPV16 E6 and TB; **g** – the absence of staining of HeLa cells with NBT in the presence of HPV16 E7; **h** – the absence of staining of HeLa cells with TB in the presence of HPV16 E7. Light microscope, magnification $\times 360$. The resolution of video camera with program Levenhuk (USA) 2048–1536 pc

3. Индукция образования опухолей в лёгких при действии раковых клеток HeLa

Инъекцию клеток HeLa делали самцам и самкам мышей обоего пола в возрасте 6–7 месяцев с нормальным развитием и средней массой около 40 г в трёх независимых и отдельных для каждого пола экспериментах, в которых было задействовано по 25 особей. Мыши переносили введение 100 мкл суспензии клеток HeLa без заметных напряжений, естественный отсев не превышал 5–6 %. После инъекции мыши продолжали обычную жизненную активность, хорошо питались и вели нормальный образ жизни.

Примерно через месяц у самцов происходило разрастание семенников почти в 2 раза, у самок не были видны какие-либо внешние изменения. Разрастание семенников, по-видимому, не являлось болезненным или критичным, так как самцы продолжали обычную жизнь. Через месяц после инъекции клеток HeLa половине мышей давали вакцину в виде гомогената – пасты, нанесённой на ломти белого свежего хлеба, которую мыши довольно быстро поедали. Ещё через месяц

у мышей забирали кровь, изучали строение и изменения во внутренних органах.

При вскрытии оказалось, что внутренние органы инъецированных мышей претерпели изменения: были обнаружены увеличения яичек в семенниках, сферические образования в зонах лимфоузлов, опухоли на поверхности желудка и печени. Но самым стабильным показателем было изменение морфологии лёгких – разрастание лопастей долей лёгких наблюдали практически у всех мышей, как у самок, так и у самцов. Поэтому дальнейшее изучение действия клеток HeLa проводили на тканях лёгких у мышей.

На рисунке 3 представлены изменения в лёгких у мышей, подвергнутых инъекции клеток HeLa, при этом половина мышей была затем провакцинирована вакцинным материалом плодов томата с «ранним» белком онкосупрессором ВПЧ16 E2.

Как видно из рисунка 3, в контроле (вариант «Контроль») лёгкие у мышей имели почти одинаковое строение с двумя левыми долями с выемкой для помещения сердца и одной правой доли. У мышей, инъецированных

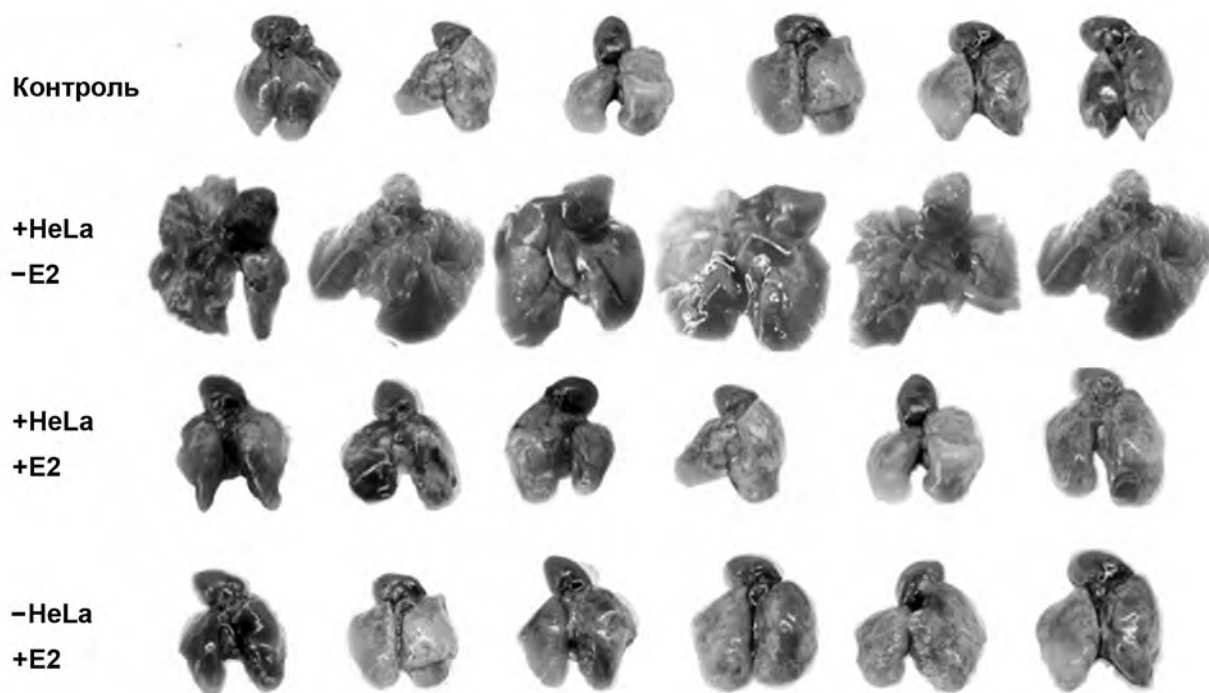


РИС. 3.

Влияние инъекции клеток HeLa на морфологию лёгких у мышей самцов и обращение изменений морфологии после перорального вакцинирования вакцинным материалом плодов томата с «ранним» белком ВПЧ16 E2: **Контроль** – лёгкие у мышей без обработок; вариант «**+HeLa –E2**» – лёгкие мышей через 2 месяца после инъекции клеток HeLa, но без вакцинирования с ВПЧ16 E2; вариант «**+HeLa + E2**» – лёгкие у мышей через 2 месяца после инъекции клеток HeLa и ещё через 2 месяца после двух вакцинирований с ВПЧ16 E2 с интервалом в 1 месяц; вариант «**–HeLa +E2**» – лёгкие у мышей, вакцинированных только ВПЧ16 E2. На рисунке лёгкие представлены вместе с сердцем, так как можно было манипулировать с лёгкими, только держа пинцетом за сердце

FIG. 3.

The effect of the injection of HeLa cells on the morphology of lungs of male mice and the regression of the changing of morphology after oral vaccination with vaccine material of tomato with "early" protein HPV16 E2; **Контроль** – mice lungs without treatment; variant "**+HeLa –E2**" – mice lungs after 2 months after the injection with HeLa cells and without vaccination with HPV16 E2; variant "**+HeLa +E2**" – mice lungs after 2 months after the injection with HeLa cells and then after 2 months of double vaccination with HPV16 E2 with the interval of 1 month; variant "**–HeLa +E2**" – lungs of mice only vaccinated with HPV16 E2. Lungs are presented together with hearts because it was easier to manipulate them by holding hearts with tweezers

клетками HeLa (вариант «+HeLa –E2»), наблюдали весьма существенное разрастание лёгких (в 1,8–2,3 раза; табл. 1, 2) и значительное изменение морфологии долей. После вакцинирования вакцинным материалом плодов трансгенного по ВПЧ16 E2 томата (вариант «+HeLa +E2») наблюдали регрессию опухолей, а также эффект возвращения размеров и нормальной морфологии долей лёгких. Одно вакцинирование вакцинным материалом плодов томата с ВПЧ16 E2 (вариант «–HeLa +E2») не оказывало заметного внешнего действия без инъекции клеток HeLa.

Изъятие лёгких и любое манипулирование с ними было достаточно затруднено, так как лёгкие повреждались при малейшем прикосновении и, более того, они приклеивались к любой поверхности, от которой их уже затем не было возможности отсоединить. Быстро высыхая, лёгкие становились плотными и твёрдыми с искажением нормальной морфологии. Поэтому после изолирования лёгкие сразу помещали в небольшое количество (1–2 мл) стерильного физраствора, осторожно расправляли лопасти в жидкости и фотографировали цифровым фотоаппаратом. Изображения переносили на бумагу

и по бумажным проекциям производили расчёт площади фронтальной поверхности, используя эти относительные величины для отражения размера (массы) лёгких.

Размер лёгких в контроле был одинаков у самцов и самок с небольшими отклонениями, так как мышей для работы отбирали ещё в период беременности самок, а после отобранные мышата дорастивались в одинаковых условиях содержания и кормления с целью устранения фоновых различий. Поэтому, очевидно, более значительное разрастание лёгких у самцов (табл. 1, 2) отражает их более высокую восприимчивость к раковым клеткам HeLa или наличием большего количества специфических рецепторов для этих клеток.

Согласно современным представлениям, в лёгких могут развиваться несколько типов рака: периферические эпителиальные округлые опухоли, пневмониеподобные обширные опухоли по лопастям долей, периферический рак Пенкаста по краю долей, различные центральные трахеально-бронхиальные опухоли. В экспериментальной работе по изучению действия раковых клеток HeLa на изолированные лёгкие были также об-

ТАБЛИЦА 1

ОТНОСИТЕЛЬНЫЕ МАССОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОТОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ЛЁГКИХ У САМОК МЫШЕЙ В КОНТРОЛЕ, ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ КЛЕТОК HeLa (+HeLa –E2), И У МЫШЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ E2 ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ HeLa (+HeLa + E2) (ЦИФРАМИ ПРЕДСТАВЛЕНА МАССА ПРОЕКЦИЙ НА БУМАГЕ, В МГ)

Вариант	Мыши (самки), взятые в анализ											Среднее
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Контроль	25	21	20	21	22	23	0*	0*	0*	0*	0*	22 ± 2
+HeLa –E2	39	37	45	34	37	39	0*	0*	0*	0*	0*	39 ± 3
+HeLa +E2	23	21	22	26	27	26	24	23	21	23	27	24 ± 2

Примечание. * – лёгкие мышей сразу после выделения помещали в среду DMEM без взвешивания.

TABLE 1

RELATIVE MASS CHARACTERISTICS OF PHOTOGRAPHIC IMAGES OF LUNGS OF FEMALE MICE IN CONTROL, AFTER THE INJECTION OF CANCER HeLa CELLS (+HeLa –E2) AND IN MICE VACCINATED WITH E2 AFTER INJECTION OF HeLa CELLS (+HeLa +E2) (NUMBERS SHOW THE MASS OF PAPER PROJECTIONS IN MG)

ТАБЛИЦА 2

ОТНОСИТЕЛЬНЫЕ ВЕСОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОТОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ЛЁГКИХ У САМЦОВ МЫШЕЙ В КОНТРОЛЕ, У МЫШЕЙ ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ КЛЕТОК HeLa (+HeLa –E2), У МЫШЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ E2 ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ HeLa (+HeLa +E2) И У МЫШЕЙ, ТОЛЬКО ВАКЦИНИРОВАННЫХ E2 (–HeLa +E2) (ЦИФРАМИ ПРЕДСТАВЛЕНА МАССА ПРОЕКЦИЙ НА БУМАГЕ, В МГ)

Вариант	Мыши (самцы), взятые в анализ						Среднее
	1	2	3	4	5	6	
Контроль	22	23	26	17	19	24	22 ± 3
+HeLa –E2	46	48	47	60	52	49	50 ± 5
+HeLa +E2	26	25	23	21	26	33	26 ± 4
–HeLa +E2*	24	26	28	33	28	35	29 ± 4

Примечание. * – всего было проведено экспериментов с 26 самцами (вариант «–HeLa +E2»), в таблице приведены лишь частичные характерные результаты.

TABLE 2

RELATIVE WEIGHT CHARACTERISTICS OF PHOTOGRAPHIC IMAGES OF THE LUNGS IN MALE MICE IN CONTROL, IN MICE AFTER INJECTION OF HeLa CELLS (+HeLa –E2), IN MICE VACCINATED WITH E2 AFTER INJECTION OF HeLa (+HeLa +E2) AND IN MICE ONLY VACCINATED WITH E2 (–HeLa +E2) (NUMBERS SHOW THE MASS OF PAPER PROJECTIONS IN MG)

наружены внешне различные формы опухолевого роста в лёгких у мышей.

Для изучения индукции опухолеобразования, у нормальных мышей пинцетом изымали лёгкие, помещали в выросшую суспензию клеток HeLa и уже через 2 суток наблюдали развитие опухолей. На рисунке 4 можно видеть периферические округлые опухоли, возникшие через 2 суток после инокуляции изолированных лёгких в суспензии клеток HeLa (рис. 4а). Эти же лёгкие представлены в нижней части рисунка после окрашивания красителем азур-эозином по Романовскому [9, 10], который обычно используется для выявления раковых опухолей (рис. 4б). Помимо округлых опухолей на лопастях долей лёгких различимы обширные пневмониеподобные опухоли, интенсивно окрашиваемые азур-эозином по Романовскому (рис. 4б).

На рисунке 5 представлены различные типы опухолевого роста: пневмониеподобные опухоли (рис. 5а, б; увеличенный масштаб 1 : 10), опухоль по типу рака Пенкаста по верхнему краю доли лёгкого (рис. 5в), централизованные опухоли в зоне карины, то есть в основании трахеи при входе в бронхи (рис. 5г, д; окрашено азур-эозином по Романовскому), округлые и лопастные опухоли по тканям долей лёгких, окрашенных азур-эозином по Романовскому (рис. 5е, ж). Эти опухоли появились в изолированных лёгких мышей в течение 5 суток инокуляции с раковыми клетками HeLa.

Таким образом, при рассмотрении изолированных интактных лёгких, помещённых в суспензию раковых клеток HeLa, удалось выявить по меньшей мере 4 основных типа опухолевого роста с помощью окрашивания азур-эозином по Романовскому, которое использовалось для выявления скоплений ДНК раковых клеток: 1-й тип – периферические округлые эпителиальные опухоли, 2-й тип – центральные опухоли трахеальной карины, 3-й тип – периферические пневмониеподобные опухоли долей лёгких, 4-й тип – опухоли по верхнему краю лёгкого, сходному с раком Пенкаста. Наблюдалось также развитие структур, напоминающих раковые лимфатические узлы в тканях в виде мелких округлых скоплений на долях лёгких.

4. Гистологический анализ опухолей в окрашенных гематоксилином микротомных срезах

Окрашивание срезов замороженных опухолей красителем азур-эозином по Романовскому не позволяло детально изучить клеточные и тканевые паттерны опухолеобразования. Поэтому было решено опухолеобразующие лёгкие подвергнуть стандартной технике фиксации 96%-м этанолом и обезвоживающей проводки в ксилоле с целью заключения в парафин с последующим получением парафиновых срезов лёгких на микротоме.

Представлялось интересным изучить гистологию этих опухолевых тканей при микроскопировании микротомных срезов, окрашенных специфическим краси-

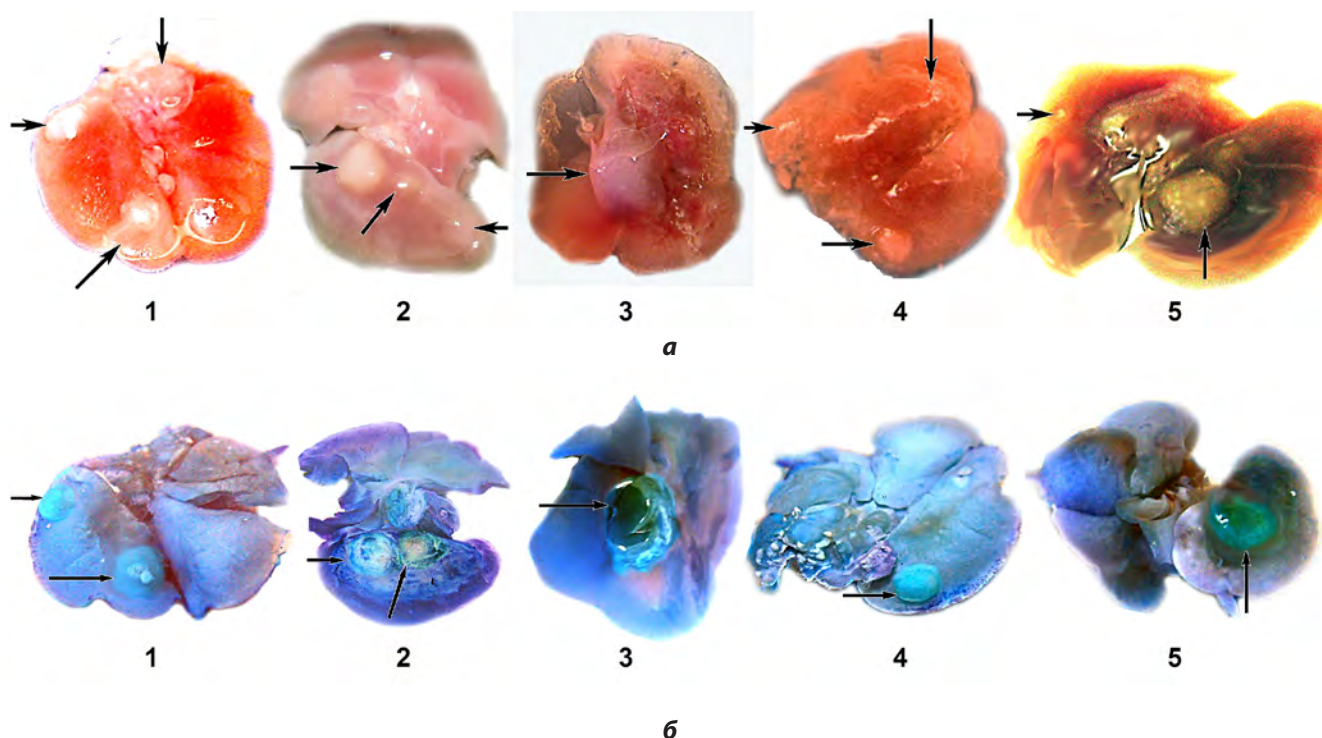


РИС. 4. Округлые периферические эпителиальные неокрашенные опухоли интактных лёгких у мышей после 2 суток культивирования с HeLa (а). Окраска азур-эозином по Романовскому (б) использована для выявления ДНК опухолей. Цифрами обозначены номера одних и тех же мышей, у которых были взяты лёгкие для анализа. Стрелками обозначены опухоли

FIG. 4. Round peripheral epithelial native (noncolored) tumours of intact mice lungs (a). Azur-eosin staining by Romanovsky was used for the detection of DNA of tumour growths (b). The numbers indicate the numbers of the same mice from which the lungs were taken for analysis. Arrows are pointed to tumour growths

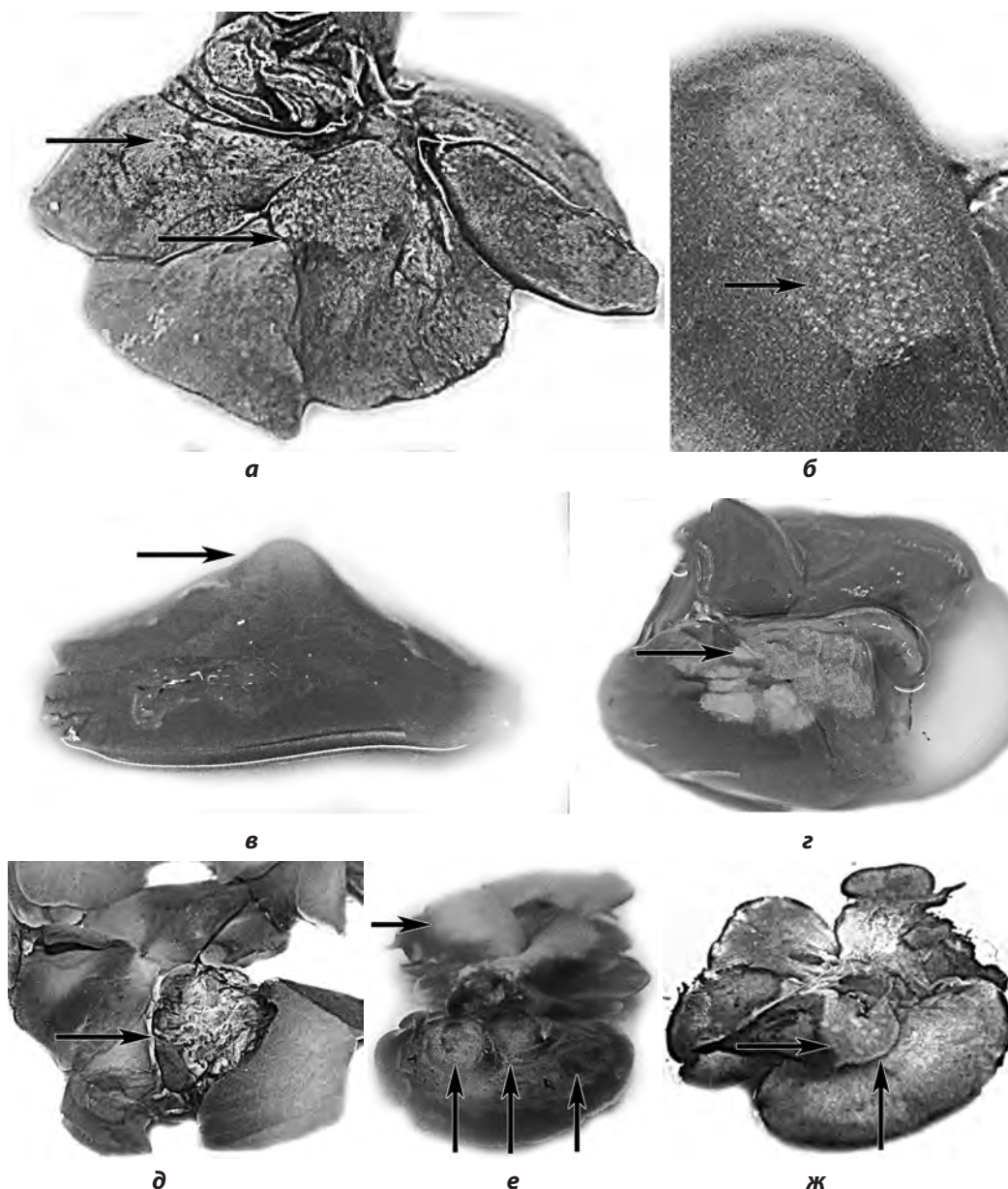


РИС. 5.

Типы опухолевого роста лёгких у мышей после инокуляции с раковыми клетками HeLa: **а** – пневмонииподобные опухоли; **б** – пневмонииподобная опухоль доли лёгкого (увеличение 1 : 10); **в** – периферическая опухоль по типу рака Пенкаста по верху доли лёгкого; **г** – централизованная опухоль в зоне карины при входе трахеи в бронхи; **д** – централизованная опухоль в области карины, окрашенная азур-эозином по Романовскому; **е, ж** – округлые и лопастные опухоли, окрашенные азур-эозином по Романовскому. Стрелками обозначены опухоли

FIG. 5.

Types of lung tumor growth in mice after inoculation with HeLa cancer cells: **а** – pneumonia-like tumors; **б** – pneumonia-like tumor of the lobe of the lung (magnification 1 : 10); **в** – peripheral tumor of the Pencast cancer type along the top of the lobe of the lung; **г** – centralized tumor in the carina zone at the entrance of the trachea to the bronchi; **д** – centralized tumor in areas of carina stained with azure-eosin according to Romanovsky; **е, ж** – rounded and lobed tumors stained with azure-eosin according to Romanovsky. Arrows indicate tumors

телем, гематоксилином по Carazzi, окрашивающим ядра пролиферирующих опухолевых клеток.

На рисунке 6 представлены паттерны микротомных срезов опухолеобразующих структур в присутствии клеток HeLa в лёгких у мышей после окраски гематоксилином по Carazzi, при этом лёгкие не были помещены в раствор вакцинного материала (вариант «+HeLa –E2»). При просмотре практически нескольких сотен срезов обнаружи-

вались протяжённости тканей и зоны делящихся клеток с ярко окрашенными гематоксилином ядрами (гиперхромные ядра). Большей частью эти зоны имели направление (вектор) в виде конусов нарастания, «волн» и обширных пространств тканевых разрастаний пролиферирующих клеток (рис. 6а–г). По типу опухолеобразования эти протяжённые зоны пролиферации круглых клеток с гиперхромными ядрами представляют собой аналог кру-

глоклеточной саркомы лёгких (рис. бд–ж), одного из наиболее агрессивных типов рака лёгких и мягких тканей дыхательной системы [11, 12]. По-видимому, пролиферация клеток и опухолеобразование захватывали все зоны лёгкого, то есть инвазия клеток HeLa в ткани лёгкого за 5 суток произошла достаточно быстро и, по всей вероятности, пролиферация была беспрепятственной и обширной, которая к тому же имела ярко выраженную направленность от центра лёгкого к периферическим областям.

На рисунке 7 представлены паттерны микротомных срезов лёгких мышей, инокуляция которых с клет-

ками HeLa происходила в присутствии вакцинного материала плодов томата, трансгенного по гену ВПЧ16 E2. Как показал просмотр нескольких сотен препаратов лёгких, окрашенных гематоксилином, не было выявлено зон или протяжённостей интенсивно пролиферирующих клеток с ярко окрашенными ядрами. Обычно паттерны на рисунке 7 представляли «полотна» крупных уплотнённых клеток периферической паренхимы лёгких (рис. 7а–в) со слабоокрашенными ядрами. На препаратах обнаружены протяжённости гладкомышечных клеток с бледно окрашенными ядрами миоцитов (рис. 7г)

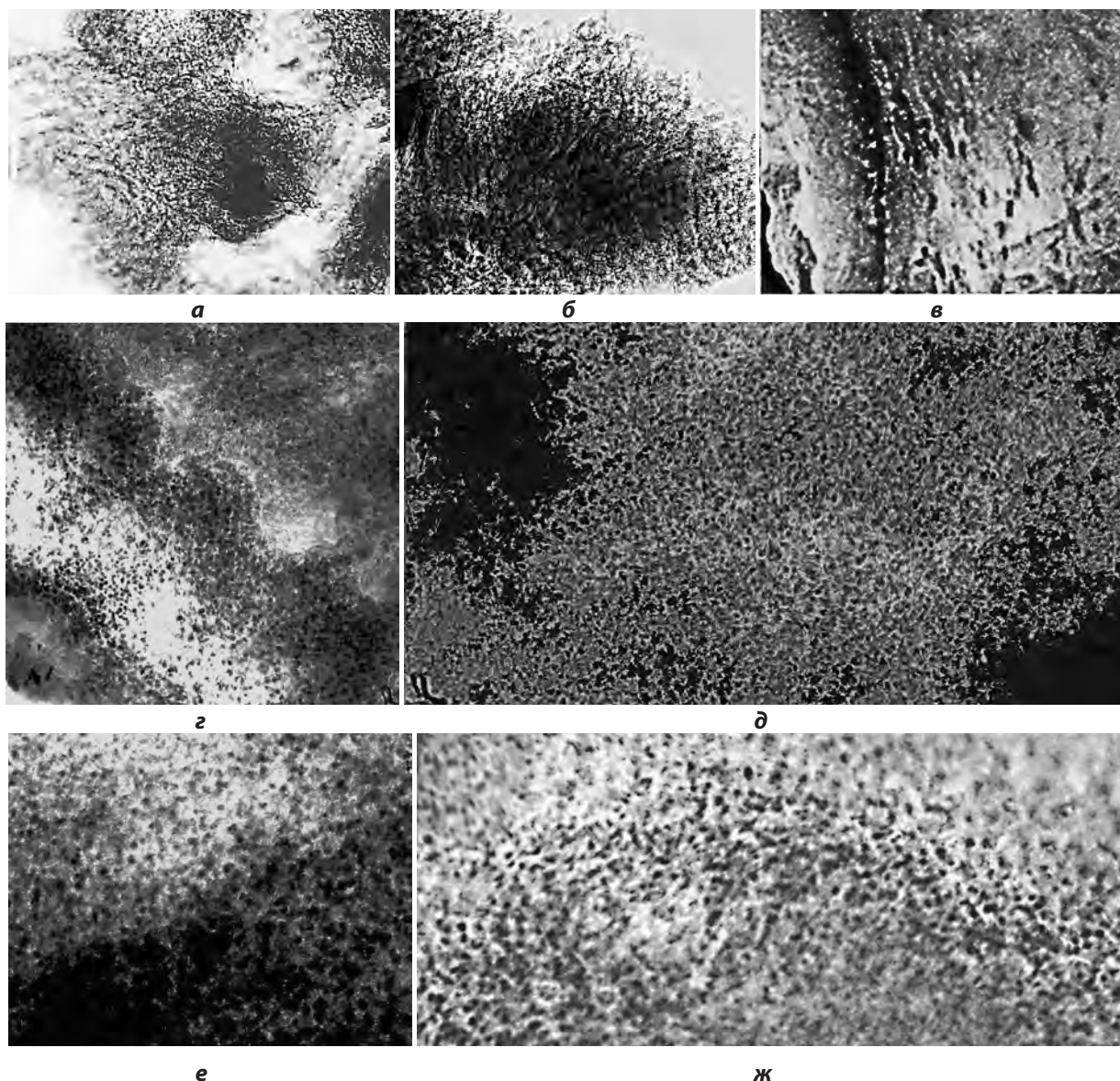


РИС. 6.

Паттерны микротомных срезов лёгких мышей через 5 суток инокуляции с раковыми клетками HeLa (вариант «+HeLa –E2») без вакцины. Срезы окрашены гематоксилином по Carazzi. Световой микроскоп, увеличение $\times 200$, разрешение видеокamеры Levenhuk: 2048–1536 пс. **а–г** – опухолевые «конусы» и «волны» нарастания зон пролиферации клеток с гиперхромными ядрами; **д–ж** – аналоги круглоклеточной саркомы лёгких мышей с гиперхромными ядрами

FIG. 6.

Patterns of microtome sections of mice lungs after 5 days of inoculation with HeLa cancer cells (variant «+HeLa –E2») without vaccine. Sections were stained with hematoxylin by Carazzi. Light microscope, magnification $\times 200$, Levenhuk video camera resolution: 2048–1536 pс. **a–g** – tumor “cones” and “waves” of growth of zones of proliferation of cells with hyperchromic nuclei; **d–h** – analogues of round cell sarcoma of the lungs of mice with hyperchromic nuclei

и поперечных срезов пучков миоцитов. На препаратах встречались структуры просветов бронхиол (рис. 7д, е) и, возможно, прослойки рыхлых клеток соединитель-

ных тканей лёгких с одиночными гиперхромными ядрами (рис. 7ж), но зон интенсивной пролиферации клеток не было обнаружено.

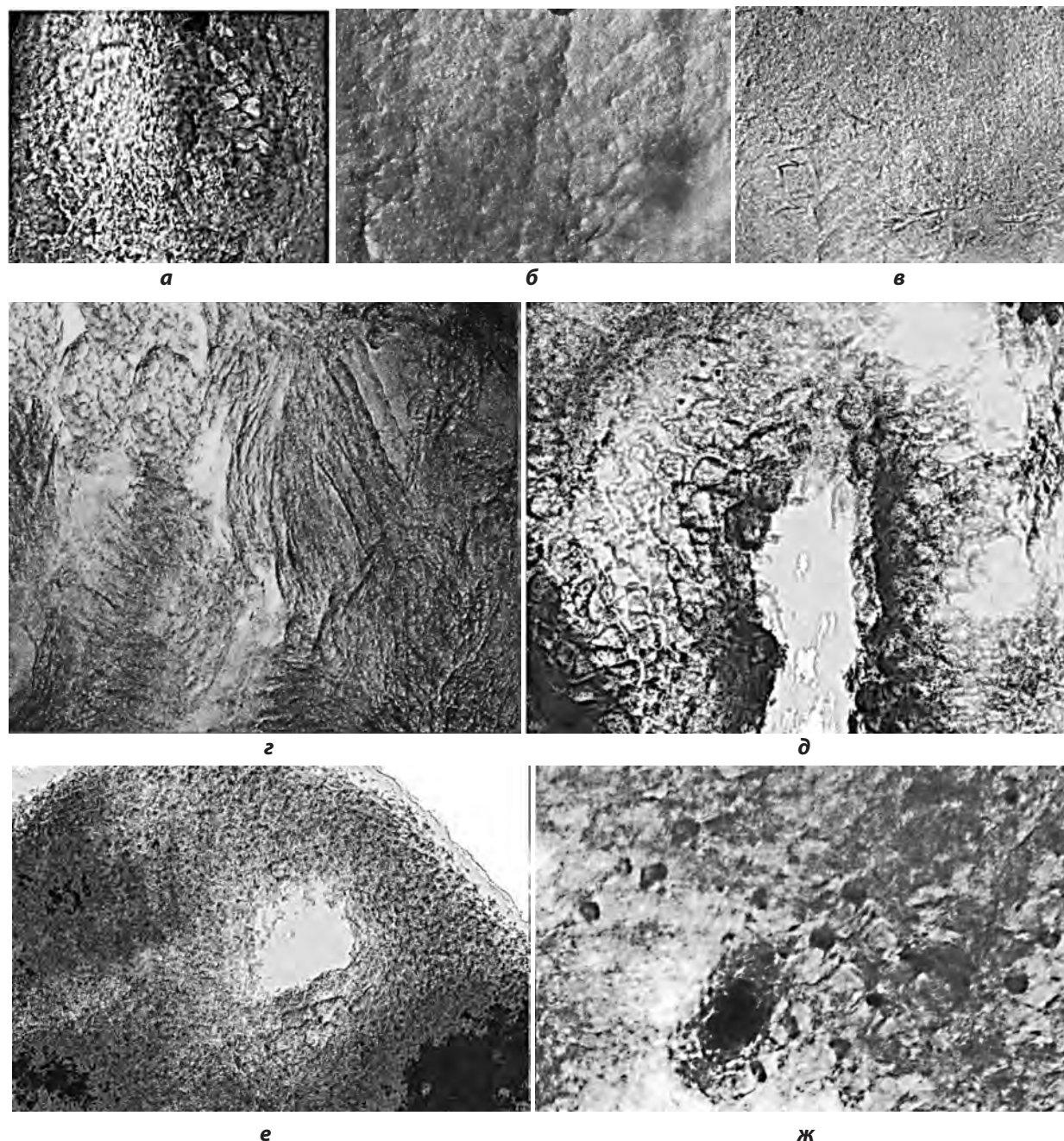


РИС. 7.

Паттерны микротомных срезов лёгких мышей через 5 суток инокуляции с раковыми клетками HeLa в присутствии вакцинного препарата плодов томата, трансгенного по ВПЧ16 E2 (вариант «+HeLa +E2»). Срезы окрашены гематоксилином по Carazzi. Световой микроскоп, увеличение $\times 200$, разрешение видеокамеры Levenhuk: 2048–1536 пс. **а–в** – паттерны уплотнённых клеток периферической паренхимы лёгких со слабоокрашенными ядрами; **з** – паттерны гладкомышечных длинных клеток и их поперечных срезов с бледно окрашенными ядрами; **д, е** – паттерны фрагментов бронхиол; **ж** – паттерн рыхлых клеток соединительнотканых прослоек с редкими гиперхромными ядрами

FIG. 7.

Patterns of microtome sections of mouse lungs after 5 days of inoculation with HeLa cancer cells in the presence of a vaccine preparation of tomato transgenic for HPV16 E2 (variant “+HeLa +E2”). Sections were stained with hematoxylin by Carazzi. Light microscope, magnification $\times 200$, Levenhuk video camera resolution: 2048–1536 pс. **a–в** – patterns of flattened cells of the peripheral lung parenchyma with weakly stained nuclei; **z** – patterns of long smooth muscle cells and their transverse sections with pale stained nuclei; **d, e** – patterns of fragments of bronchioles; **ж** – a pattern of loose cells of connective tissue layers with rare hyperchromic nuclei

Таким образом, раковые клетки HeLa вызывали весьма интенсивную пролиферацию клеток лёгких у мышей, приводящую к образованию опухолей. Если инокуляция происходила в присутствии вакцинного препарата плодов томата, трансгенного по ВПЧ16 E2, то стимуляции пролиферации клеток лёгких не происходило. Эти результаты позволяют предполагать, что «ранний» белок ВПЧ16 E2 мог бы послужить платформой для разработки вакцины против рака, вызываемого клетками HeLa, а также опосредованного высококанцерогенными типами папилломавирусов.

5. Изучение иммуногенности «раннего» белка ВПЧ16 E2

Для испытания индукции иммуногенности, вызываемой «ранним» белком ВПЧ16 E2, был использован имму-

ноферментный метод Элиспот, рекомендуемый для разработок по созданию вакцин как обязательный способ проверки клеточного иммунного ответа.

Периферическую кровь и селезёнку выделяли из мышей, очищали от эритроцитов с помощью флотации при 700 g в рефрижераторной центрифуге и получали очищенные препараты лимфоцитов в супернатанте. Очищенные образцы лимфоцитов подвергали инокуляции и выращиванию на среде DMEM на мембранных дисках в присутствии вакцинного материала плодов томата, трансгенного по гену ВПЧ16 E2 в качестве активатора генераций иммунных клеток. Наличие Т-лимфоцитов в периферических мононуклеарных клетках крови и в спленоцитах контролировали в световом микроскопе по их характерному виду [8] с помощью видеокамеры Levenhuk.

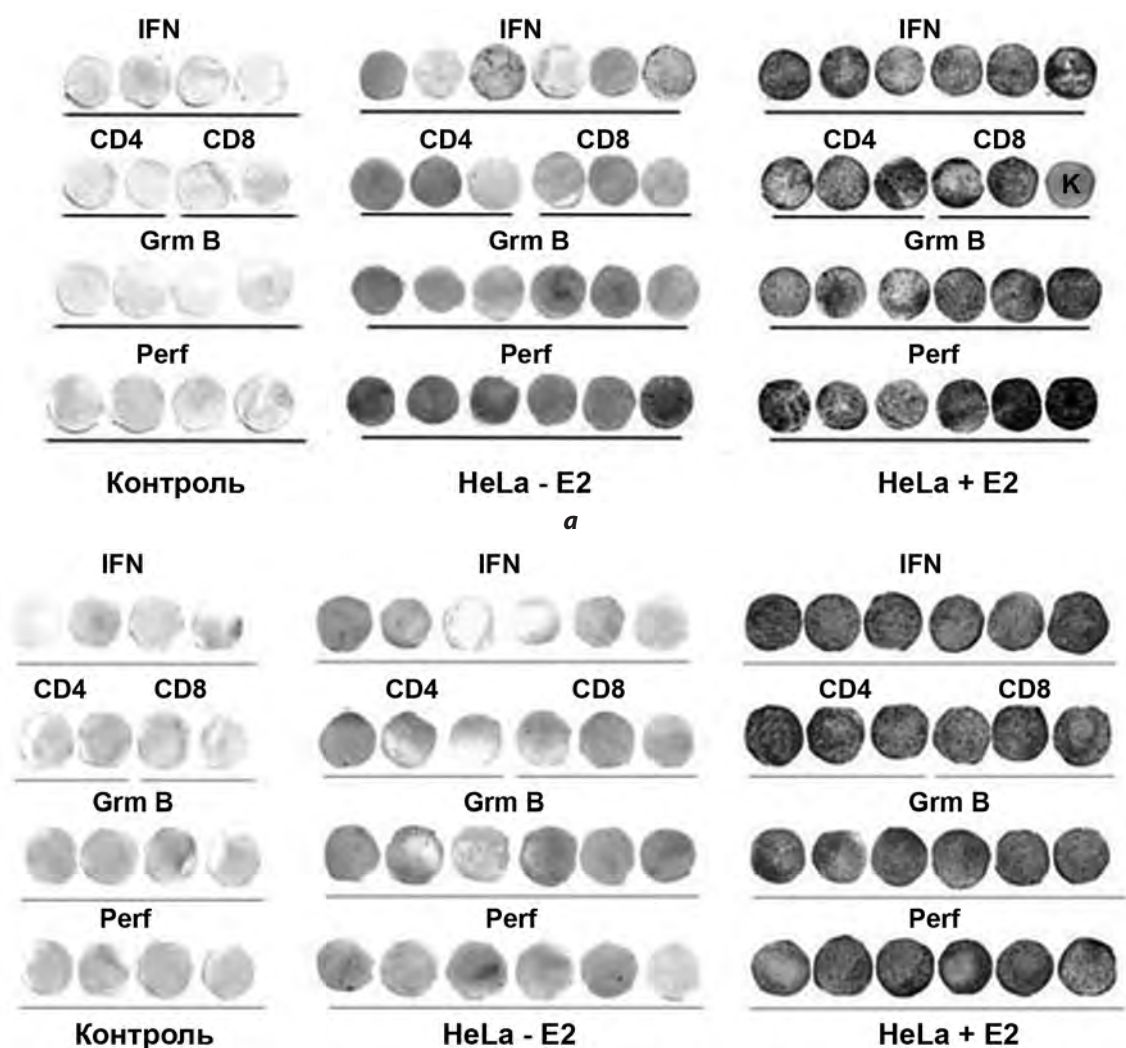


РИС. 8.

Элиспот, показывающий активацию синтеза γ -интерферона (INF), CD4- и CD8-T-лимфоцитов, ферментов апоптоза: гранзима В (GrmB), перфорины (Perf) в периферических мононуклеарных клетках крови (а) и спленоцитах мышей (б), предварительно инъецированных клетками HeLa и затем вакцинированных с ВПЧ16 E2: К – контроль [8]

FIG. 8.

Elispot showing activation of synthesis of γ -interferon (INF), CD4- and CD8-T-lymphocytes, apoptosis enzymes: granzyme B (GrmB), perforin (Perf) in peripheral blood mononuclear cells (a) and mouse splenocytes (b), preliminary injected with HeLa cells and then vaccinated with HPV16 E2: K – control [8]

Как видно из рисунков 8 и 9, присутствие вакцинного препарата из плодов томата, трансгенного по ВПЧ16 E2, в питательном растворе при выращивании иммунных клеток приводило к весьма значительной активации Т-клеточного иммунного ответа: значительно усиливался синтез γ -интерферона, увеличивалось содержание CD4-T-

лимфоцитов (хелперов) и CD8-T-лимфоцитов (киллеров) [8], происходило увеличение количества Т-клеточных рецепторов, а также резко возрастала активность ферментов апоптоза: гранзима В, перфорина и гранулизына.

Таким образом, вакцинирование вакцинным материалом плодов томата, трансгенного по гену ВПЧ16 E2,

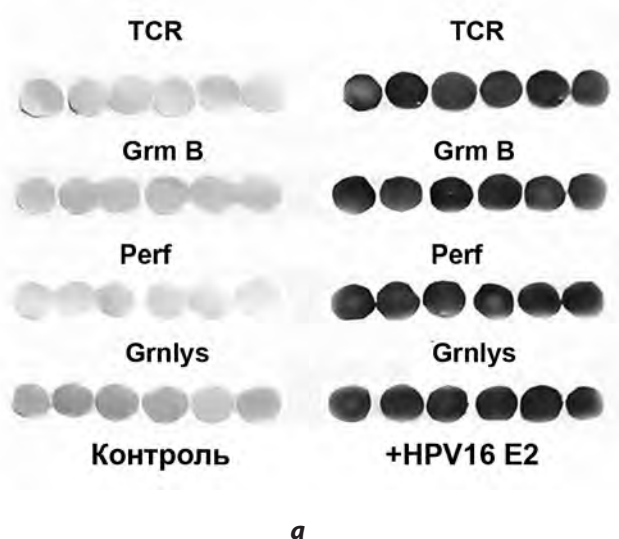


РИС. 9.
Элиспот, показывающий активацию Т-клеточного рецептора (TCR), ферментов апоптоза: гранзима В (GrmB), перфорина (Perf), гранулизына (Grnlys) в периферических мононуклеарных клетках крови (а) и в спленоцитах (б) мышей, предварительно инъецированных клетками HeLa и затем вакцинированных E2. **Контроль** – мыши, инъецированные клетками HeLa без вакцинирования; **К** – пустой мембранный диск без нанесения препарата спленоцитов

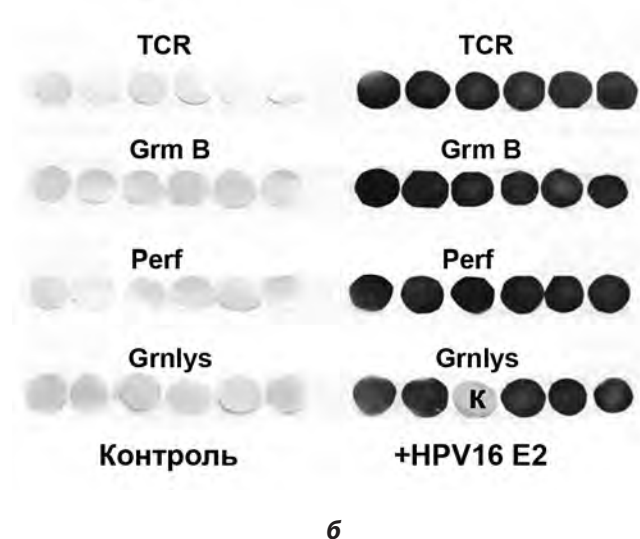


FIG. 9.
Elispot showing activation of T-cell receptor (TCR), apoptosis enzymes: granzyme B (GrmB), perforin (Perf), granulysin (Grnlys) in peripheral blood mononuclear cells (a) and in splenocytes (b) of mice pre-injected with HeLa cells and then vaccinated with E2. **Контроль** – mice injected with HeLa cells without vaccination; **К** – an empty membrane disk without applying the splenocyte preparation

ТАБЛИЦА 3
ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВПЧ16 E2 НА СОДЕРЖАНИЕ γ -ИНТЕРФЕРОНА, КОЛИЧЕСТВО CD4- И CD8-T-ЛИМФОЦИТОВ, ГРАНЗИМА В И ПЕРФОРИНА В КРОВИ И СЕЛЕЗЁНКЕ МЫШЕЙ, ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ВНУТРИМЫШЕЧНО ИНЪЕЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАМИ HeLa

Вариант	γ -интерферон	CD4	CD8	Гранзим В	Перфорин
Периферические мононуклеарные клетки крови					
Контроль	5, 20, 17, 14	8, 9, 0	5, 4, 0	6, 7, 10, 7	0, 2, 5, 14
+HeLa –E2	6, 10, 22, 3, 0, 51	7, 8, 4	12, 4, 14	8, 2, 8, 17, 9, 5	41, 6, 4, 7, 5, 8
+HeLa +E2	420, 840, 584, 512, 576, 460	615, 1232, 615	646, 1104	688, 924, 672, 840, 749, 720	760, 666, 1007, 552, 491, 354
Спленоциты					
Контроль	0, 6, 12, 0	1, 5	7, 0	6, 0, 0, 0	0, 6, 6, 0
+HeLa –E2	9, 7, 0, 14, 43, 53	57, 25, 16	9, 21, 7	14, 44, 36, 28, 0, 5	30, 15, 10, 11, 14, 11
+HeLa +E2	448, 568, 664, 280, 680, 572	600, 642, 595	511, 504, 336	570, 384, 540, 590, 564, 264	435, 485, 528, 618, 612, 552

Примечание. Количество клеток показано в пересчёте на мембранный нитроцеллюлозный фильтр; числа приведены по индивидуальным мышам: 1 число = 1 мышь.

TABLE 3
THE THERAPEUTIC EFFECT OF HPV16 E2 ON THE CONTENT OF γ -INTERFERON, THE NUMBER OF CD4- AND CD8-T-LYMPHOCYTES, GRANZYME B AND PERFORIN IN THE BLOOD AND SPLEEN OF MICE PREVIOUSLY INTRAMUSCULARLY INJECTED WITH HeLa CELLS

ТАБЛИЦА 4

ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВПЧ16 Е2 НА СОДЕРЖАНИЕ Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА, ГРАНЗИМА В, ПЕРФОРИНА И ГРАНУЛИЗИНА В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ И В СПЛЕНОЦИТАХ МЫШЕЙ, ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ВНУТРИМЫШЕЧНО ИНЪЕЦИРОВАННЫХ КЛЕТКАМИ HeLa

TABLE 4

THERAPEUTIC EFFECT OF HPV16 E2 ON THE CONTENT OF THE T-CELL RECEPTOR, GRANZYME B, PERFORIN AND GRANULISIN IN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS AND SPLENOCYTES OF MICE PREVIOUSLY INTRAMUSCULARLY INJECTED WITH HeLa CELLS

Вариант	Т-клеточный рецептор	Гранзим В	Перфорин	Гранулизин
Периферические мононуклеарные клетки крови				
+HeLa –E2	31, 20, 14, 27, 16, 23	33, 41, 15, 25, 37, 39	44, 30, 9, 23, 25, 27	15, 19, 13, 20, 22, 25
+HeLa +E2	1224, 2512, 4688, 1892, 2800, 2312	1084, 1691, 4466, 4912, 5104, 6945	3532, 4280, 5120, 5216, 3248, 4096	5364, 4688, 4480, 4234, 5016, 4896
Спленициты				
+HeLa –E2	32, 40, 24, 10, 26, 9	40, 74, 59, 39, 45, 53	18, 15, 32, 20, 25, 26	18, 15, 13, 12, 19, 13
+HeLa +E2	824, 1165, 864, 964, 896, 1176	1008, 1104, 634, 952, 1004, 1126	1480, 1304, 1392, 1384, 1064, 1392	1648, 1220, 992, 1360, 1088

Примечание. Количество клеток показано в пересчёте на мембранный нитроцеллюлозный фильтр; числа приведены по индивидуальным мышам: 1 число = 1 мышь.

вызывало весьма значительный иммунный клеточный ответ. В таблицах 3, 4 представлены результаты подсчёта «пятен», клонов Т-лимфоцитов, активированных индуктором ВПЧ16 Е2, и регистрируемых по реакции с соответствующими первичными и вторичными антителами и красящим субстратом с сопряжённым окислителем BCIP/NBT.

Исходя из результатов, изложенных в таблицах 3, 4, можно предполагать, что использование вакцинного материала на основе антигенного белка ВПЧ16 Е2 может быть перспективно для создания пероральной терапевтической вакцины против рака шейки матки и, возможно, против других опасных аногенитальных папилломатозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе была впервые создана и использована экспериментальная модель мышей, подвергнутых воздействию раковых клеток HeLa, которые вызывают разнообразные варианты опухолевого роста в лёгких, семенниках, брюшной полости и т. д.

«Ранние» белки папилломавируса высококанцерогенного типа ВПЧ16 представляют большой интерес для разработки терапевтических вакцин против рака, и особенно широко в мировой практике проводятся исследования по изучению действия антител к «ранним» белкам на развитие уже имеющихся опухолей, предполагая, что основной онкобелок ВПЧ16 Е7 представляет собой таргетный белок при создании терапевтической вакцины. Действительно, онкобелок ВПЧ16 Е7 имеет небольшие размеры, 98 аминокислотных остатков. Но при этом в его небольшой последовательности обнаружены 42–47 линейных эпитопа, что, возможно, объясняет его высокие антигенные свойства: стабиль-

ность, высокий титр антител, высокая степень авидности (от англ. avidity – жадность, алчность) и быстрота связывания с антигенным белком ВПЧ16 Е7, перекрёстное взаимодействие с антигенным белком ВПЧ16 Е6 и другие свойства. Тем не менее, несмотря на высокий АГ-специфический иммунный ответ, ни сам белок Е7 при действии на клетки HeLa, ни антитела к нему не проявили каких-либо антиканцерогенных свойств. Возможно, что препятствием является барьер белковых ингибиторов контрольных точек иммунитета: связывание рецепторных белков PD-1 активированных лимфоцитов с рецептором PD-L1 раковой клетки. Сходным образом, белки оболочки ВПЧ16 L1 активируют Т-клеточный ответ, но не действуют на раковые опухоли, возможно, по той же причине невозможности преодоления барьера ингибиторов PD-1 – PD-L1 контрольных точек иммунитета. Интересным является и тот факт, что при вакцинации мышей дозой в 500 мкг ВПЧ16 Е7 и продолжительном дальнейшем содержании (3 месяца), не было обнаружено спонтанного развития опухолей у вакцинированных мышей.

«Ранний» белок ВПЧ16 Е2 также привлекал внимание исследователей. В частности, M. Dreer et al. [13], получили интересные результаты, изучая структуру и активность белка Е2. Они установили, что этот белок является сильным репрессором транскрипции с промоторов белков онкогенов ВПЧ16 Е6 и ВПЧ16 Е7. По их данным, структура белка Е2 включает два домена: трансактивационный N-домен и С-домен связывания с ДНК. Внутри белка Е2 со стороны N-домена ближе к зоне перешейки расположен «внутренний» ген белка Е8, а вся эта зона обозначается как Е2С-домен. Авторами установлено [14], что Е2С-домен белков Е8/Е2 связан с общим комплексом ядерного репрессора в клетках хозяина. Дисрегуляция этого репрессорного комплекса приводит к различным типам канцероген-

неза [15]. Было также изучено и терапевтическое действие рекомбинантного MVA E2 белка папилломавируса в клинических испытаниях [16]. Оно продемонстрировало на 1172 женщинах и 180 мужчинах то, что вектор, содержащий рекомбинантный белок MVA E2 папилломавируса, введённый путём инъекции, устранял интраэпителиальные и аногенитальные нарушения в течение двух лет.

Нами впервые было показано, что противоопухолевый эффект действия «раннего» белка ВПЧ16 E2 коррелирует с активацией Т-клеточного иммунитета, при этом весьма значительно усиливается синтез γ -интерферона, увеличивается содержание Т-клеточного рецептора, возрастает количество CD4- (хелперов) и CD8- (киллеров) Т-лимфоцитов, при этом их соотношение соответствует 1, то есть нормальному развитию иммунитета, а также регрессия опухолей сопровождается активацией (синтезом) ферментов апоптоза: гранзима В, перфорина и гранулизина. Также это коррелирует с обнаруженным нами впервые фактом, что ВПЧ16 E2 моментально «убивает» раковые клетки HeLa.

В разработанной нами экспериментальной модели опухолеобразования в лёгких мышей обращают на себя два аспекта. Первый заключается в обнаруженном довольно быстром преобразовании нормальных дифференцированных клеток лёгких в мелкоклеточные (круглоклеточные) опухоли с гиперхромными ядрами. Высокая восприимчивость тканей лёгких к инвазии раковых клеток HeLa может быть результатом наличия специфического рецептора, способствующего раковой трансформации и быстрому переходу дифференцированных клеток к пролиферации. Известны множественные мутации в лёгких, свидетельствующие об опухолевом росте лёгких, например, мутация T790 в гене, кодирующем EGFR (рецептор эпидермального ростового фактора), которую рассматривают как маркер канцерогенеза лёгких [17] и др. С другой стороны, также тканям лёгких приписывают избирательное накопление Т-клеточного регулятора, класса Т-лимфоцитов, входящих в микроокружение опухолей и стабилизирующих их [18].

Второй аспект заключается в более сильном опухолеобразовании лёгких у мышей самцов по сравнению с самками. Помимо общих рецепторов к клеткам HeLa в радиальной части головки сперматозоидов у самцов присутствует специфический рецептор: белок синдекан-1 для белка оболочки ВПЧ16 L1, что, по всей вероятности, способствует связыванию вируса и его более длительному нахождению в генитальных тканях самцов и более широкому распространению по органам инфицированного хозяина [19].

Исходя из результатов, изложенных в тексте, представленных на рисунках и в таблицах, можно предполагать, что использование вакцинного материала плодов трансгенного томата на основе антигенного белка ВПЧ16 E2 перспективно для разработки и создания терапевтической вакцины против рака лёгких, рака шейки матки и, возможно, против других типов рака и аногенитальных папилломатозов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022; 72(1): 7-33. doi: 10.3322/caac.21708
2. McBride AA. Human papillomaviruses: Diversity, infection and host interaction. *Nat Rev Microbiol.* 2022; 20(2): 95-108. doi: 10.1038/S41579-021-00617-5
3. Blakaj DM, Fernandez-Feuntes N, Chen Z, Hegde R, Fiser A, Bark RD, et al. Evolutionary and biophysical relationships among the papillomavirus E2 proteins. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009; 14(3): 900-917. doi: 10.2741/3285
4. Салаяев Р.К., Рекославская Н.И., Столбиков А.С. Антипролиферативное действие «раннего» белка папилломавируса ВПЧ16 E2 на опухоли семенников мышей, индуцированные клетками HeLa. *Доклады Академии наук.* 2019; 488(1): 103-107. doi: 10.31857/S0869-56524881103-107
5. Богданов Л.А., Шишков Д.К., Кутихин А.Г. Сравнение различных видов прогрессивных гематоксилинов при окрашивании элементов системы кровообращения и гепатолиенальной системы. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2019; 39(6): 46-54. doi: 10.15372/SSMJ20190606
6. Салаяев Р.К., Рекославская Н.И., Столбиков А.С. Синтез белков E2, E6 и E7 «ранних» генов папилломавируса тип 16 в растительной экспрессионной системе. *Доклады Академии наук.* 2018; 482(5): 601-604. doi: 10.31857/S086956520003034-0
7. Салаяев Р.К., Рекославская Н.И., Столбиков А.С., Третьякова А.В. Исследование иммуногенности антигенного белка высокоонкогенного вируса папилломы человека HPV16 L1, полученного в растительной экспрессионной системе на основе трансгенного томата. *Доклады Академии наук.* 2017; 474(2): 251-254. doi: 10.7868/S0869565217140249
8. Салаяев Р.К., Рекославская Н.И., Столбиков А.С. Индукция синтеза интерферона, CD4 и CD8 Т-лимфоцитов в крови и селезёнке мышей, перорально вакцинированных «ранним белком» ВПЧ16 E2. *Доклады Академии наук.* 2019; 488(3): 333-337. doi: 10.31857/S0869-56524883333-337
9. Marshall PN, Bentley SA, Lewis SM. Staining properties and stability of a standardized Romanowsky stain. *J Clin Pathol.* 1978; 31(3): 280-282. doi: 10.1136/jcp.31.3.280
10. Засухин Д.Н. Романовский Д.Л. (80 лет метода окраски крови и паразитов крови). *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 1971; 40(6): 729.
11. Ungari M, Manotti L, Tanzi G, Varotti E, Ferrero G, Gusolfino MD, et al. NeuN, a DNA binding neuron-specific protein expressed by Merkel cell carcinoma: Analysis of 15 cases. *Pathologica.* 2021; 113(6): 421-426. doi: 10.32074/1591-951x-195
12. Zhu J, Li B, Hu J.J., Liu W, Lu D, Liu J. Undifferentiated small round cell sarcoma of the hypopharynx: A rare case report and review of the literature. *Onco Target Ther.* 2021; 14: 4537-4544. doi: 10.2147/OTT.S320335
13. Dreer M, Fertey J, Poel van de S, Straub E, Madlung J, Macek B, et al. Interaction of NCOR/SMRT repressor complexes with papillomavirus E8^ΔE2C proteins inhibits viral replication. *PLoS Pathog.* 2016; 12(4): e1005556. doi: 10.1371/journal.ppat.1005556

14. Dreer M, van de Poel S, Stubenrauch F. Control of viral replication and transcription by the papillomavirus E8^{E2} protein. *Virus Res.* 2017; 231: 96-102. doi: 10.1016/j.virusres.2016.11.005

15. Wong M.M, Guo C, Zhang J. Nuclear receptor corepressor complexes in cancer: Mechanism, function and regulation. *Am J Clin Exp Urol.* 2014; 2(3): 169-187.

16. Rosales R, Lopez-Countreiras M, Rosales C, Magallanes-Molina J-R, Gonzalez-Vergara R, Arroyo-Cazarez JM, et al. Regression of human papilloma virus intraepithelial lesions is induced by MVA E2 therapeutic vaccine. *Hum Gene Ther.* 2014; 25(12): 1035-1049. doi: 10.1089/hum.2014.024

17. Wang Y, Wei Y, Ma X, Ma X, Gong P. Association between advanced NSCLCT790MEGFR-TKI secondary resistance and prognosis: An observational study. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(28): e11346. doi: 10.1097/MD.00000000000011346

18. Wang L, Zhang Y, Xie F. T regulatory cell/T helper 17 cell imbalance functions as prognostic biomarker of oral squamous cell carcinoma – CONSORT. *Medicine (Baltimore).* 2020; 99(49): e23145. doi: 10.1097/MD.00000000000023145

19. Foresta C, Patassini C, Bertoldo A, Menegazzo M, Francavilla F, Barzon L, et al. Mechanism of human papillomavirus binding to human spermatozoa and fertilizing ability of infected spermatozoa. *PLoS ONE.* 2011; 6(3): e15036. doi: 10.1371/journal.pone.0015036

REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022; 72(1): 7-33. doi: 10.3322/caac.21708

2. McBride AA. Human papillomaviruses: Diversity, infection and host interaction. *Nat Rev Microbiol.* 2022; 20(2): 95-108. doi: 10.1038/S41579-021-00617-5

3. Blakaj DM, Fernandez-Feuntes N, Chen Z, Hegde R, Fiser A, Bark RD, et al. Evolutionary and biophysical relationships among the papillomavirus E2 proteins. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009; 14(3): 900-917. doi: 10.2741/3285

4. Salyaev RK, Rekoslavskaya NI, Stolbikov AS. The antiproliferative effect of the “early” protein E2 of papillomavirus HPV16 on testis tumors of mice induced by the injection of HeLa cells. *Doklady Akademii nauk.* 2019; 488(1): 296-299. (In Russ.). doi: 10.1134/S1607672919050028

5. Bogdanov LA, Schischkov DK, Kutichin AG. The comparison of different types of progressive gematoxylin during staining of elements of blood circulatory system and hepatolienal system. *The Siberian Scientific Medical Journal.* 2019; 39(6): 46-54. (In Russ.). doi: 10.15372/SSMJ20190606

6. Salyaev RK, Rekoslavskaya NI, Stolbikov AS. Synthesis of proteins encoded by the “early” genes E2, E6 and E7 of papillomavirus of type 16 in the plant expression system. *Doklady Akademii nauk.* 2019; 488(2): 316-319. (In Russ.). doi: 10.1134/S1607672918050113

7. Salyaev RK, Rekoslavskaya NI, Stolbikov AS, Tretyakova AV. The study of immunogenicity of the antigenic protein of high risk oncogenic type of the human papillomavirus HPV16 L1 produced in the plant expression system on the base of transgenic tomato. *Doklady Akademii nauk.* 2017; 474(2): 2251-254. (In Russ.). doi: 10.1134/S1607672917030140

8. Salayev RK, Rekoslavskaya NI, Stolbikov AS. The induction of the synthesis of interferon, CD4 and CD8 T-lymphocyte in blood and spleen of mice after oral vaccination with the “early” protein HPV16 E2. *Doklady Akademii nauk.* 2018; 482(2): 271-274. (In Russ.). doi: 10.1134/S1607672918050113

9. Marshall PN, Bentley SA, Lewis SM. Staining properties and stability of a standardized Romanowsky stain. *J Clin Pathol.* 1978; 31(3): 280-282. doi: 10.1136/jcp.31.3.280

10. Zasuchin DN. Romanowsky D.L. (80 years of the methods of blood staining and parasites of blood). *Medical parasitology and parasitic diseases.* 1971; 40(6): 729. (In Russ.).

11. Ungari M, Manotti L, Tanzi G, Varotti E, Ferrero G, Gusolfino MD, et al. NeuN, a DNA binding neuron-specific protein expressed by Merkel cell carcinoma: Analysis of 15 cases. *Pathologica.* 2021; 113(6): 421-426. doi: 10.32074/1591-951x-195

12. Zhu J, Li B, Hu JJ, Liu W, Lu D, Liu J. Undifferentiated small round cell sarcoma of the hypopharynx: A rare case report and review of the literature. *Onco Target Ther.* 2021; 14: 4537-4544. doi: 10.2147/OTT.S320335

13. Dreer M, Fertey J, Poel van de S, Straub E, Madlung J, Macek B, et al. Interaction of NCOR/SMRT repressor complexes with papillomavirus E8^{E2C} proteins inhibits viral replication. *PLoS Pathog.* 2016; 12(4): e1005556. doi: 10.1371/journal.ppat.1005556

14. Dreer M, van de Poel S, Stubenrauch F. Control of viral replication and transcription by the papillomavirus E8^{E2} protein. *Virus Res.* 2017; 231: 96-102. doi: 10.1016/j.virusres.2016.11.005

15. Wong M.M, Guo C, Zhang J. Nuclear receptor corepressor complexes in cancer: Mechanism, function and regulation. *Am J Clin Exp Urol.* 2014; 2(3): 169-187.

16. Rosales R, Lopez-Countreiras M, Rosales C, Magallanes-Molina J-R, Gonzalez-Vergara R, Arroyo-Cazarez JM, et al. Regression of human papilloma virus intraepithelial lesions is induced by MVA E2 therapeutic vaccine. *Hum Gene Ther.* 2014; 25(12): 1035-1049. doi: 10.1089/hum.2014.024

17. Wang Y, Wei Y, Ma X, Ma X, Gong P. Association between advanced NSCLCT790MEGFR-TKI secondary resistance and prognosis: An observational study. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(28): e11346. doi: 10.1097/MD.00000000000011346

18. Wang L, Zhang Y, Xie F. T regulatory cell/T helper 17 cell imbalance functions as prognostic biomarker of oral squamous cell carcinoma – CONSORT. *Medicine (Baltimore).* 2020; 99(49): e23145. doi: 10.1097/MD.00000000000023145

19. Foresta C, Patassini C, Bertoldo A, Menegazzo M, Francavilla F, Barzon L, et al. Mechanism of human papillomavirus binding to human spermatozoa and fertilizing ability of infected spermatozoa. *PLoS ONE.* 2011; 6(3): e15036. doi: 10.1371/journal.pone.0015036

Сведения об авторах

Салеев Юрий Константинович – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, советник РАН, главный научный сотрудник лаборатории физиологии растительной клетки, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, <https://orcid.org/0000-0002-7602-7301>

Рекославская Наталья Игоревна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории физиологии растительной клетки, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: rekoslavskaya@sifibr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3480-9855>

Information about the authors

Ryurik K. Salyaev – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Corresponding Member of RAS, Advisor of RAS, Chief Research Officer at the Laboratory of Physiology of Plant Cell, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of RAS, <https://orcid.org/0000-0002-7602-7301>

Natalya I. Rekoslavskaya – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer of the Laboratory of Physiology of Plant Cell, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of SB RAS, e-mail: rekoslavskaya@sifibr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3480-9855>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ДИРОФИЛЯРИОЗА В ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

РЕЗЮМЕ

Рязанова Т.С.¹,
Свердлова А.В.¹,
Старостина О.Ю.¹,
Никитин А.А.²,
Григорова Н.Ю.³,
Кочетков Ю.В.²

¹ ФБУН «Омский
научно-исследовательский институт
природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора (644080, г. Омск,
пр. Мира, 7, Россия)

² Управление Роспотребнадзора
по Омской области (644001, г. Омск,
ул. 10 лет Октября, 98, Россия)

³ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Омской области» (644116, г. Омск,
ул. 27-я Северная, 42А, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Свердлова Алина Владимировна,
e-mail: sverdlova_av@oniipi.org

Актуальность. В последнее время в Российской Федерации отмечается тенденция к увеличению числа зарегистрированных случаев дирофиляриоза у жителей, проживающих в зоне умеренного климата, в том числе в Западной Сибири. Клиническое значение для человека имеют виды *Dirofilaria repens* и *Dirofilaria immitis*. Для дирофилярий характерна миграция в подкожную клетчатку, слизистые, органы зрения, внутренние органы. В Омской области наблюдается рост случаев дирофиляриоза, в том числе среди детей.

Цель исследования: оценка эндемичности территории Омской области в отношении возбудителей дирофиляриоза.

Материалы и методы. Проанализированы карты эпидемиологического обследования лиц, заражённых дирофиляриями за период 2013–2020 гг. и проживающих в Омской области (26 чел.). Паразитологическими и молекулярно-биологическими методами исследовано 1155 проб крови собак, 2488 экз. самок кровососущих комаров, 26 экз. гельминтов дирофилярий, удалённых у жителей Омской области.

Результаты. У 18 человек заражение расценено как местное, так как инвазированные лица не покидали Омскую область в течение предыдущих трёх лет. Местные случаи заражения регистрируются ежегодно. Заражённость окончательных хозяев (собак) дирофиляриями варьирует от 0,6 до 4,8 % в разные годы. В среднем, экстенсивность инвазии составила $3,0 \pm 0,6$ %, а интенсивность микрофиляриемии – $1277,68 \pm 395,87$ экз./мл крови. На территории г. Омска и Омского района зафиксировано 11 видов комаров родов *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culex*, *Anopheles*, *Coquillettidia*. Расчётная индивидуальная заражённость комаров разных видов колебалась от 0,6 % (*O. flavescens*) до 9,8 % (*An. messeae*). Общая заражённость переносчиков составила 3,4 %. Во всех положительных пробах обнаружена ДНК *D. repens*.

Заключение. Территория Омской области является эндемичной для возбудителей дирофиляриоза, в частности, *D. repens*. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение распространённости и видового разнообразия возбудителей дирофиляриоза в Западной Сибири, выявление наиболее опасных с эпидемиологической точки зрения видов переносчиков.

Ключевые слова: дирофиляриоз, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis*, трансмиссивные инвазии

Статья получена: 08.12.2022

Статья принята: 01.06.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Рязанова Т.С., Свердлова А.В., Старостина О.Ю., Никитин А.А., Григорова Н.Ю., Кочетков Ю.В. Распространение дирофиляриоза в Омской области. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 27-285. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.27

DISTRIBUTION OF DIROFILARIASIS IN OMSK REGION

Ryazanova T.S.¹,
Sverdlova A.V.¹,
Starostina O.Yu.¹,
Nikitin A.A.²,
Grigorova N.Yu.³,
Kochetkov Yu.V.²

¹ Omsk Research Institute of Natural
Foci Infectious of Rospotrebnadzor
(Mira ave. 7, Omsk 644080,
Russian Federation)

² Directorate of Rospotrebnadzor
for the Omsk Region
(10 let Oktyabrya str. 98, Omsk 644001,
Russian Federation)

³ Center of Hygiene and Epidemiology
of Omsk Region (27-ya Severnaya str.
42A, Omsk 644116, Russian Federation)

Corresponding author:

Alina V. Sverdlova,
e-mail: sverdlova_av@oniipi.org

ABSTRACT

Background. Recently, in the Russian Federation, there has been a tendency to an increase in the number of registered cases of dirofilariasis among residents living in a temperate climate zone, including in Western Siberia. The species *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* are of clinical importance for humans. *Dirofilariae* are characterized by migration into the subcutaneous tissue, mucous membranes, organs of vision, internal organs. In the Omsk region, there is an increase in cases of dirofilariasis, including among children.

The aim. To assess endemicity of the territory of the Omsk region in relation to pathogens of dirofilariasis.

Materials and methods. The maps of the epidemiological survey of persons infected with dirofilariae for the period 2013–2020 were analyzed, parasitological and molecular biological methods examined 1155 blood samples of dogs, 2488 samples female blood-sucking mosquitoes, 26 samples of dirofilaria helminths removed from residents of the Omsk region.

Results. In 18 people, the infection was regarded as local, since the infected persons had not left the Omsk region for the previous three years. Local infections are reported annually. Infection of the final owners – dogs – with dirofilaria ranges from 0.6 to 4.8 % in different years. On average, the extensiveness of the invasion was 3.0 ± 0.6 %; and the intensity of microfilaremia was 1277.68 ± 395.87 specimens/ml of blood. On the territory of Omsk and the Omsk region, 11 species of mosquitoes belonging to the genus *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culex*, *Anopheles*, *Coquillettidia* were identified. The estimated individual infection of mosquitoes of different species ranged from 0.6 % (*O. flavescens*) to 9.8 % (*An. messeae*). The total infection of vectors was 3.4 %. All positive samples were found to contain DNA of *D. repens*.

Conclusion. The territory of the Omsk region is endemic for pathogens of dirofilariasis, in particular, *D. repens*. Further studies are needed to study the prevalence and species diversity of pathogens of dirofilariasis in Western Siberia, to identify the most dangerous from an epidemiological point of view, species of vectors.

Key words: dirofilariasis, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis*, vector-borne invasions

Received: 08.12.2022
Accepted: 01.06.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Ryazanova T.S., Sverdlova A.V., Starostina O.Yu., Nikitin A.A., Grigorova N.Yu., Kochetkov Yu.V. Distribution of dirofilariasis in Omsk region. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 277-285. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.27

ВВЕДЕНИЕ

Дирофиляриозы – зоонозные трансмиссивные гельминтозы, вызываемые паразитированием нематод *Dirofilaria repens* и *Dirofilaria immitis*. Заболевание характеризуется миграцией гельминтов *D. repens* в подкожной клетчатке, слизистых, органах зрения, реже – внутренних органах. При паразитировании *D. immitis* поражаются лёгкие, сердце, крупные сосуды.

Заражение человека происходит трансмиссивно, через укус кровососущих комаров семейства *Culicidae*. Источником возбудителя для комаров служат зараженные собаки, реже кошки, дикие плотоядные, которые в свою очередь выступают в качестве окончательных хозяев данных паразитов. В последнее время появляются достоверные данные о том, что человек также может служить источником инвазии [1].

Половозрелые гельминты находятся в подкожной соединительной ткани дефинитивного хозяина (собаки, кошки). Самка *Dirofilaria* отрождает в просвет кровеносного сосуда живых личинок – микрофилярий. Кровососущие комары семейства *Culicidae* заражаются ими при питании кровью больных животных. В организме комара личинка развивается до инвазионной стадии (III стадия). Развитие личинок дирофилярий в комарах происходит при температуре выше +14 °C. Длительность развития в организме промежуточного хозяина одного поколения инвазионных личинок (оборот инвазии в переносчике) определяется пороговой температурой (+14 °C) и суммой тепла 130 градусо-суток. Инвазионные личинки мигрируют в грудной и головной отделы комара. В момент кровососания они активно внедряются в кожу теплокровного животного, где впоследствии превращаются во взрослую особь.

У человека паразит обычно не достигает половозрелой стадии. Характерным симптомом заболевания у человека является миграция гельминта под кожей на ранней стадии инвазии. Специфическим признаком дирофиляриоза является ощущение шевеления и ползания внутри уплотнения.

Описаны различные варианты локализации дирофилярий в молочных и слюнных железах, слизистых, в брюшной полости [2, 3], кроме того, *D. repens* могут паразитировать в лёгких и плевре [4–6].

Многие авторы публикаций сообщают об учащении случаев глазного дирофиляриоза [7–9].

Наблюдающееся в последние десятилетия распространение дирофиляриоза, вызванного *D. repens*, из эндемичных южных районов в районы умеренного и даже холодного климата Европы и России связывают с потеплением климата в Евразии, в том числе на территории РФ, и, как следствие, увеличением как числа переносчиков, так и числа оборотов инвазии с ростом пассивного перемещения собак [1]. Некоторые авторы высказывают мнение, что основным фактором является отсутствие систематического контроля заражённости собак и своевременного лечения, что приводит к сохранению в популяции собак такого количества инвазированных особей, которого достаточно для поддержания циркуляции *D. repens* [10].

Так как в последние годы на территории Омской области участились случаи дирофиляриоза человека, возникла необходимость в решении вопроса, являются ли случаи заражения спорадическими или территория Омской области эндемична для *D. repens*, и на ней существуют условия для постоянной циркуляции возбудителя дирофиляриоза.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эндемичности территории Омской области в отношении возбудителей дирофиляриоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведён анализ карт эпидемиологического обследования лиц, заражённых дирофиляриями за период 2013–2020 гг. и проживающих в Омской области (26 чел.).

Самок кровососущих комаров-переносчиков возбудителей дирофиляриоза отлавливали в летние сезоны 2010, 2016–2020 гг. методом «на себе» с использованием эксгаустера, а также при помощи энтомологического сачка. Родовую и видовую идентификацию проводили по морфологическим признакам. Всего собрано на территории г. Омска и рекреационной зоны 2488 экземпляров комаров, из которых сформирован 481 пул, в среднем по 5 особей в пуле (1–6 особей).

Инвазированность комаров оценивали молекулярно-биологическими методами по наличию в образцах генетических маркеров дирофилярий. ДНК дирофилярий выявляли методом ПЦР с видоспецифическими праймерами. Индивидуальную заражённость комаров при определении её в пулах, проводили с использованием калькулятора для случаев с неодинаковыми размерами пулов EpiTools [11].

Всего за период 2016–2021 гг. обследовано 1155 домашних собак из различных административных районов города Омска разных пород, обоего пола, в возрасте от 1 месяца до 18 лет.

Исследования проведены с согласия владельцев животных и в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).

Работа была одобрена локальным этическим комитетом ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (протокол № 5 от 06.12.2021).

Подавляющее большинство обследованных собак (800 особей) содержались в городе. Дефинитивные хозяева дирофилярий (собаки) изучены двумя методами: паразитологическим (микроскопия) и молекулярно-биологическим (ПЦР). Кровь собак собиралась в пробирки с ЭДТА. Для выявления микрофилярий применяли метод центрифугирования с дистиллированной водой с последующим просмотром мазков крови под микроскопом [12]. ДНК дирофилярий в крови собак выявляли методом ПЦР с видоспецифическими праймерами.

ДНК выделяли с использованием набора реагентов «ДНК-сорб-В» (Амплипрайм, ООО «НекстБио»), согласно инструкции.

Для выявления участков ДНК, специфичных для *Dirofilaria repens* и *Dirofilaria immitis*, сравнивали несколько пар праймеров, опубликованных в научной литературе и информационной базе GenBank. Для идентификации генетических маркеров *Dirofilaria repens* выбраны праймеры из базы GenBank: прямой ctc-ctg-aga-tgg-ggt-ttc-c, обратный cca-aac-aaa-cga-tcc-tta-tc, амплифицирующие участок митохондриального гена цитохромоксидазы I, длина фрагмента – 538 bp. Для выявления ДНК *Dirofilaria immitis* использовали праймеры: прямой 5'-gca-tct-tag-aac-ttg-gtc-cat-cc-3', обратный 5'-caa-ggc-gta-ttt-acg-cgc-ac-3' (reverse), направленные на участок 16S rRNA и амплифицирующие фрагмент размером 440 bp [13]. Подобранные режимы амплификации: начальная денатурация при 94 °C – 5 мин, затем 35 циклов, включающие 94 °C – 30 с, 55 °C – 40 с, 72 °C – 30 с, элонгация при 72 °C – 10 мин. Продукты амплификации визуализировали в 2%-м агарозном геле с 0,01 % бромистого этидия. Видовая специфичность праймеров подтверждена секвенированием продуктов амплификации. Сравнение полученных последовательностей показало 100%-ю гомологию с европейскими изолятами *D. repens*, опубликованными в GenBank. Определение последовательностей полученных ампликонов осуществляли прямым секвенированием на генетическом анализаторе AB 3500xL («Life Technologies», США). Последовательности редактировали и выравнивали, используя «DNA Analysis». Уровень гомологии последовательностей определяли при помощи BLAST.

Статистическую обработку материала проводили в программе Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., США). Вычислялась доля и ошибка доли ($P \pm m$) средняя арифметическая и ошибка средней арифметической ($M \pm m$), t-коэффициент Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На территории Омской области диروفилариоз человека регистрируется с 1999 г. Если в первые годы наблюдения выявляли единичные случаи (с 1999 по 2006 г. – 4 случая диروفилариоза), то за период с 2013 г. (начало регистрации диروفилариоза как отдельной нозологической формы в форме статистической отчётности № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях») по 2020 г. зарегистрировано 26 случаев. При анализе карт эпидемиологического обследования, у 18 человек заражение расценено нами как местное, так как пациенты не покидали Омскую область в течение предыдущих трех лет. Местные случаи заражения регистрируются ежегодно, от одного до четырёх случаев в год. Остальные пострадавшие выезжали в сезон передачи инвазии: в Индию (1 чел.), Вьетнам (1 чел.), г. Сочи (1 чел.), Курганскую область (1 чел.), г. Красноярск (1 чел.), Турция (1 чел.), Казахстан (2 чел.).

Диروفилариоз зарегистрирован у лиц всех возрастных групп, однако 73,1 % от всех случаев (19 чел.) приходится на лиц старше 40 лет. Надо отметить, что диروفилариоз был выявлен у трёх детей, двое из них (девочка 8 лет, проживающая в сельском районе и городской мальчик 10 лет) не покидали территорию Омской области в течение предыдущих 3 лет. Один ребёнок (мальчик 9 лет), проживающий в сельском посёлке, выезжал на отдых на озера в Казахстане.

Среди заражённых преобладали женщины, их оказалось почти 2 раза больше (17 чел.), чем лиц мужского пола (9 чел.). Из числа инвазированных диروفилариями лиц, не покидавших Омскую область в предыдущие 3 года, 11 человек проживали в г. Омске, из них только один человек – в индивидуальном доме с приусадебным участком, все остальные – в многоквартирных домах. Случаи диروفилариоза среди сельских жителей (7 чел.) зарегистрированы в Любинском (1 чел.), Черлакском (1 чел.), Таврическом (1 чел.), Омском (1 чел.), Исилькульском (1 чел.), Нововаршавском (1 чел.), Саргатском (1 чел.) районах.

Все пострадавшие подвергались укусам комаров в тёплое время года на дачных или приусадебных участках, во время отдыха на берегу реки или в лесу.

В каждом зарегистрированном случае паразитировал один гельминт. Все удалённые гельминты по морфологическим признакам отнесены к виду *D. repens*. Часть диروفиларий (6 экз.) были исследованы в ПЦР с видоспецифичными праймерами, во всех образцах обнаружены генетические маркеры *D. repens*. Сравнение полученных последовательностей показало 100 % гомологию с европейскими изолятами *D. repens*, опубликованными в GenBank. Две из полученных последовательностей депонированы под номерами MN061866; MN061867.

По результатам паразитологических исследований удалённых диروفиларий, в 80,8 % случаев были определены как неполовозрелые самки, в 19,2 % – как самцы. Длина гельминтов варьировала от 55 до 150 мм, при этом размеры самцов не превышали 90 мм, тогда как самки достигали в длину 150 мм, при минимальной длине 90 мм. Средняя длина самцов ($69,0 \pm 6,1$ мм) была в 1,8 раза меньше, чем у самок ($123,3 \pm 3,6$ мм), наблюдаемые различия статистически значимы ($p < 0,05$).

В 61,5 % случаев (16 чел.) гельминт локализовался в органе зрения. Пострадавшие жаловались на чувство инородного тела в глазу, боли, покраснение конъюнктивы. Реже паразитов удаляли из образований на туловище, голове, конечностях. У трёх человек гельминт удалён из опухолевидного образования в области руки, у одного – из подколенной области. В трёх случаях гельминт локализовался в волосистой части головы, в одном случае – на передней поверхности грудной клетки. Гельминты *D. repens* могут мигрировать в различные органы. В наших наблюдениях у двух мальчиков 9 и 10 лет диروفиларии удалены из новообразований в области мошонки.

Эндемичность Омской области подтверждена нами при обследовании, как дефинитивных хозяев (собак), так и переносчиков и промежуточных хозяев (самок кровососущих комаров). Ежегодно, среди обследованных со-

бак, мы выявляли от 0,6 до 4,8 % особей, заражённых дирофиляриями. Данный диапазон показателей заражённости связан, на наш взгляд, с разной аккумуляцией инвазии за прошедшие сезоны, структурой сезона передачи инвазии, численностью комаров-переносчиков, их векторной эффективностью. Интенсивность микрофиляриемии изменялась от 1 до 8766 личинок в 1 мл крови, и составила, в среднем, $1277,68 \pm 395,87$ экз./мл крови. Выявлено преобладание животных с низкой (до 50 экз./мл) и высокой (более 500 экз./мл) интенсивностью микрофиляриемии (13 и 12 животных соответственно). Только в 8 случаях концентрация микрофилярий составляла от 51 до 500 экз./мл у разных животных. Высокую концентрацию личинок дирофилярий в крови собак наблюдали с апреля по ноябрь. Вероятно, высокая интенсивность микрофиляриемии в крови обследованных собак является причиной повторных реинвазий, которые приводят к увеличению интенсивности заражения. Для видовой идентификации личинок, обнаруженных в образцах крови собак, применяли ПЦР с видоспецифичными праймерами. У всех заражённых животных обнаружена ДНК *D. repens*. ДНК *D. immitis* не найдена ни в одном из образцов крови. Отрицательный результат паразитологических исследований крови собак был подтверждён молекулярно-биологическими методами, в частности методом ПЦР. Для подтверждения идентичности вида гельминта было проведено секвенирование продуктов ПЦР. Сравнение полученных последовательностей показало 100%-е сходство с европейскими образцами *D. repens*, опубликованными в GenBank. Одна из полученных последовательностей депонирована под номером OK001764.

Дирофиляриоз зарегистрирован у собак от 1 до 16 лет. Получены следующие показатели инвазированности собак: в младшей возрастной группе (1–3 года) – $5,9 \pm 1,9$ % (9 из 153 особей); в средней возрастной группе собак (4–9 лет) – $6,1 \pm 1,6$ % (14 из 228 особей); в старшей (10 лет и старше) возрастной группе – $4,6 \pm 1,8$ % (6 из 130 особей). Несмотря на то, что ярко выраженной зависимости экстенсивных показателей заражённости от возраста животных не отмечено ($p > 0,05$), наибольшее количество инвазированных собак – 48,3 % от общего числа заражённых (14 из 29 животных) было зафиксировано в возрасте от 4 до 9 лет. Средний возраст инвазированных самцов и самок составил $5,9 \pm 0,9$ и $6,7 \pm 1,4$ года соответственно.

Личинки дирофилярий в крови животных регистрировали в течение всего года. Инвазию чаще фиксировали в зимние и весенние месяцы ($4,6 \pm 2,2$ и $5,1 \pm 1,5$ % соответственно), в летние и осенние периоды она составляла $1,9 \pm 0,8$ и $1,6 \pm 0,9$ % соответственно ($p > 0,05$). Тем не менее чётко установленной тенденции в сезонной динамике инвазированности животных дирофиляриями не наблюдается. На наш взгляд, это связано с тем, что выбор собак для наших исследований был случаен, и попавшие в выборку животные ранее не подвергались обследованию. Вследствие этого, выявленные животные находились на разной стадии заражения – от 6 месяцев (срок развития дирофилярий до половозрелости) до 3 лет (срок жизни гельминтов).

Наибольшее эпидемиологическое значение имеют бродячие собаки. Опрос владельцев инвазированных собак установил, что 53,6 % (15 из 28 животных) собак из числа инвазированных были подобраны на улице в черте города. Большая часть заражённых собак содержалась на цепи или в вольерах в частных домовладениях.

Гидрология юга Западной Сибири создаёт условия для массового развития кровососущих комаров. На территории Омской области встречается более 20 видов комаров. В основном это виды, которые относятся к родам *Aedes*, *Culex*, *Ochlerotatus*, *Coquillettidia*, *Anopheles*, и которые являются потенциальными переносчиками и промежуточными хозяевами дирофилярий. Нами на территории г. Омска и Омского района в период отловов 2010–2020 гг. идентифицировано 11 видов комаров, относящихся к родам *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culex*, *Anopheles*, *Coquillettidia*.

Преобладающими в отловах видами в июне были *O. flavescens* (45,1 %), *O. excrucians* (20,6 %), *O. dorsalis* (14,2 %); в июле – *Co. richiardii* (24,8 %), *O. flavescens* (23,1 %), *An. messeae* (21,4 %). Генетические маркеры дирофилярий обнаружены у 9 видов комаров: *Ae. vexans*, *Ae. cinereus*, *An. messeae*, *O. flavescens*, *O. caspius*, *O. excrucians*, *O. dorsalis*, *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*. Заражёнными оказались $8,2 \pm 1,4$ % пулов комаров, отловленных в городской черте, и $14,3 \pm 3,4$ % проб комаров из сборов с территории пригородного сельского района. ДНК дирофилярий в комарах выявляли во все летние месяцы (табл. 1).

Расчётная индивидуальная заражённость комаров разных видов колебалась в широких пределах – от 0,6 % (*O. flavescens*) до 9,8 % (*An. messeae*), в зависимости от месяца, места сбора и родовой и (или) видовой принадлежности. Общая заражённость переносчиков составила 3,4 %. Во всех положительных пробах обнаружена ДНК *D. repens*. Сравнение полученных последовательностей показало 100%-е сходство с европейскими образцами *D. repens*, опубликованными в GenBank.

В различных эпидемиологических исследованиях, проводимых в европейской части РФ, сообщается о распространённости дирофиляриоза от южных районов страны [14–17] до центральных и северных [18–20]. Но информация о циркуляции возбудителей дирофиляриоза на территориях Западной Сибири ограничена. Имеются сведения о заражённости собак в г. Томске, где микрофилярии дирофилярий выявлены у 5,3 % животных [21], в Тюменской области – у 15,6 % служебных собак [22], в Алтайском крае – у 5,2 % обследованных собак [23]. Полученные нами данные о заражённости дефинитивных хозяев на территории Омской области, расположенной на юге Западной Сибири, расширяет наши знания о распространённости дирофиляриоза. Инвазированность дирофиляриями собак в отдельные годы достигала 4,8 %, а интенсивность микрофиляриемии в крови 36,3 % заражённых животных составляла более 500 экз./мл. Необходимо отметить, что собаки являются основным источником инвазии, особенно с учётом большого количества бродячих, содержащихся на привязи или в вольерах и отсутствием регулярного обследования и лечения животных, в том числе, профилактического.

ТАБЛИЦА 1

ВИДЫ И РАСЧЁТНАЯ ЗАРАЖЁННОСТЬ (ПО ДАННЫМ ПЦР) КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ, ОТЛОВЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ Г. ОМСКА И ОМСКОГО РАЙОНА ЗА 2010–2020 ГГ.

TABLE 1

SPECIES AND ESTIMATED INVASION (ACCORDING TO PCR) OF BLOOD-SUCKING MOSQUITOES CAUGHT ON THE TERRITORY OF OMSK AND THE OMSK REGION IN 2010–2020

Территория	Месяц	Виды комаров и комплексы	Количество экземпляров / число пулов	Число положительных пулов / доля положительных пулов (% ± m)	Расчётная заражённость по данным ПЦР (%; 95% ДИ)
г. Омск (жилая зона, парки)	Июнь	Не определены	179/29	2 / 6,9 ± 4,7	1,1
		Смешанная группа комаров родов <i>Aedes</i> и <i>Ochlerotatus</i>	43/4	1 / 25 ± 21,6	3,0
		<i>Ae. vexans</i>	5/2	0	0
		<i>O. communis</i>	15/4	0	0
		<i>O. excrucians</i>	117/26	0	0
		<i>O. flavescens</i>	277/51	0	0
		<i>O. dorsalis</i>	15/5	0	0
		<i>Co. richiardii</i>	1/1	0	0
		<i>O. caspius</i>	3/2	0	0
	Июль	Не определены	521/70	21 / 30 ± 5,5	5,0
		<i>Ae. vexans</i>	82/18	1 / 5,6 ± 5,4	1,3
		<i>An. messeae</i>	197/19	13 / 68,4 ± 10,7	9,8
		<i>Co. richiardii</i>	215/42	0	0
		<i>O. communis</i>	62/13	0	0
		<i>O. excrucians</i>	5/2	0	0
		<i>O. flavescens</i>	166/38	1 / 2,6 ± 2,6	0,6
		<i>O. caspius</i>	34/8	1 / 12,5 ± 11,7	2,9
		<i>O. dorsalis</i>	42/8	0	0
		<i>Ae. cinereus</i>	6/2	0	0
		<i>Cx. modestus</i>	2/2	1	+
	Август	Не определены	91/8	1 / 12,5 ± 11,7	1,1
		<i>Ae. cinereus</i>	2/2	1	+
		<i>O. flavescens</i>	4/1	0	0
		<i>O. dorsalis</i>	1/1	0	0
Всего			2085/378	31 / 8,2 ± 1,4	2,8
Омский район (дачи, населённые пункты)	Июнь	<i>Aedes spp.</i>	29/13	0	0
		<i>O. communis</i>	1/1	0	0
		<i>O. excrucians</i>	36/8	0	0
		<i>O. flavescens</i>	57/12	0	0
		<i>O. caspius</i>	52/11	3 / 27,3 ± 13,4	6,5
		<i>O. dorsalis</i>	90/18	1 / 5,6 ± 5,4	1,1
	Июль	<i>Ae. vexans</i>	2/1	1	+
		<i>Ae. cinereus</i>	8/3	2	+
		<i>Cx. modestus</i>	10/2	2	+
		<i>Cx. pipiens</i>	1/1	1	+
		<i>O. communis</i>	4/2	0	0
		<i>O. excrucians</i>	1/1	1	+
		<i>O. flavescens</i>	47/11	0	0
		<i>O. caspius</i>	10/2	1	+
		<i>O. dorsalis</i>	14/3	1	+
		<i>Co. richiardii</i>	14/4	0	0
	Август	Не определены	81/12	2 / 16,7 ± 10,7	2,5
Всего			457/105	15 / 14,3 ± 3,4	3,4

Примечание. знак «+» означает, что заражённость не высчитывалась ввиду незначительного числа отловленных комаров.

Географическое распространение дирофиляриоза зависит как от наличия окончательного хозяина, так и компетентных переносчиков. Наши исследования показывают, что различные виды комаров, относящиеся к родам *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culex*, *Anopheles*, вероятно принимают участие в передаче возбудителей дирофиляриоза на юге Западной Сибири. В Томской области дирофилярии обнаруживали в комарах родов *Aedes* и *Coquillettidia* [24]. В Омской, Новосибирской областях, Алтайском крае ежегодно, в Тюменской, Томской областях – периодически регистрируются случаи заражения людей. В наших исследованиях при анализе карт эпидемиологического исследования заражённых дирофиляриями лиц в 69 % случаев заражение расценено как местное. Местные случаи регистрируются в различных субъектах Западной Сибири, в частности в Тюменской [25], Томской [24] областях. Несмотря на это, отсутствуют данные о зарегистрированных случаях дирофиляриоза у жителей Кемеровской области. Учитывая патогенное действие дирофилярий на организм человека, особенно в случаях их миграции в органы зрения и внутренние органы, необходимо расширять исследования, направленные на изучение инвазивности дефинитивных хозяев, заражённости и компетентности переносчиков, видового разнообразия дирофилярий в различных ландшафтных и климатических зонах Западной Сибири.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На территории Омской области ежегодно выявляются местные случаи заражения дирофиляриями вида *D. repens*, в том числе среди детей. Глазная форма дирофиляриоза регистрируется в более половины всех случаев (61,5 %). Риск заражения людей определяется наличием как инвазированных дефинитивных хозяев (собак), так и промежуточных хозяев-переносчиков (кровососущих комаров). По результатам нашего мониторинга, в популяции собак случаи дирофиляриоза регистрируются в течение всего года. Заражённость колеблется от 0,6 до 4,8 % в разные годы, а интенсивность инвазии – от 1 до 8766 личинок в 1 мл крови.

Таким образом, проведённые исследования показали, что потенциальными переносчиками возбудителей дирофиляриоза на территории Омской области являются комары 9 видов, относящиеся к четырём родам (*Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culex*, *Anopheles*). Генетические маркеры *D. repens* обнаружены у 0,6–9,8 % представителей разных родов. Полученные нами данные свидетельствуют, что территория Омской области является эндемичной для возбудителей дирофиляриоза, в частности *D. repens*, который на сегодняшний день является единственным выявленным на данной территории видом. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение распространённости и видового разнообразия возбудителей дирофиляриоза на территориях Западной Сибири, выявление наиболее опасных с эпидемиологической точки зрения видов переносчиков.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ракова В.М., Баранова А.М., Летюшев А.Н. Современные облики дирофиляриозов. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2020; 3: 59-63. doi: 10.33092/0025-8326mp2020.3.59-55
2. Бронштейн А.М., Федянина Л.В., Малышев Н.А., Кочергин Н.Г., Давыдова И.В., Бурова С.В. и др. Дирофиляриоз человека, вызываемый *Dirofilaria (Nochtiella) repens* – мигрирующий гельминтоз кожи и внутренних органов: новые данные о «старой» болезни. Анализ собственных наблюдений и обзор литературы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(3): 157-165. doi: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-157-165
3. Леонов М.Г., Тесленко Л.Г., Горяшко О.В., Ершова Я.Х. Дифференциальная цитологическая диагностика дирофиляриоза молочной железы. *Новости клинической цитологии России*. 2019; 23(1): 16-18. doi: 10.24411/1562-4943-2019-10104
4. Тищенко Г.В., Шалыга А.И. Дирофиляриоз плевры. *Проблемы здоровья и экологии*. 2020; 4(66): 122-127.
5. Бронштейн А.М., Малышев Н.А., Федянина Л.В., Фролова А.А., Давыдова И.В. Клинические маски дирофиляриоза лёгких и плевры: анализ собственных наблюдений и обзор литературы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(1): 43-49.
6. Rivasi F, Boldorini R, Criante P, Leutner M, Pampiglione S. Detection of *Dirofilaria (Nochtiella) repens* DNA by polymerase chain reaction in embedded paraffin tissues from two human pulmonary locations. *APMIS*. 2006; 114(7-8): 566-573. doi: 10.1111/j.1600-0463.2006.apm_423.x
7. Зумбулидзе Н.Г., Коненкова Я.С., Ласкин А.В., Касаткина О.М., Белов Д.Ф., Вигонюк Д.В. Дирофиляриоз органа зрения: учащение случаев инвазии в областях с умеренным климатом. *Офтальмологические ведомости*. 2019; 12(4): 101-106. doi: 10.17816/ov17731
8. De NV, Le TH, Chai JY. *Dirofilaria repens* in Vietnam: Detection of 10 eye and subcutaneous tissue infection cases identified by morphology and molecular methods. *Korean J Parasitol*. 2012; 50(2): 137-141. doi: 10.3347/kjp.2012.50.2.137
9. Dzamić AM, Colović IV, Arsić-Arsenijević VS, Stepanović S, Borčić I, Dzamić Z, et al. Human *Dirofilaria repens* infection in Serbia. *Helminthol*. 2009; 83(2): 129-137. doi: 10.1017/S0022149X09341346
10. Capelli G, Genchi C, Baneth G, Bourdeau P, Brianti E, Cardoso L, et al. Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe. *Parasit Vectors*. 2018; 11(1): 663. doi: 10.1186/s13071-018-3205-x
11. Williams CJ, Moffitt CM. A critique of methods of sampling and reporting pathogens in populations of fish. *JAquat Anim Health*. 2001; 13(4): 300-309. doi: 10.1577/1548-8667(2001)013<0300:AC OMOS>2.0.CO;2
12. Ястреб В.Б., Архипов И.А. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике дирофиляриоза собак в Московском регионе. *Российский паразитологический журнал*. 2008; 4: 110-114.
13. Oh HW, Jun HK, You MJ, Hayasaki M, Song KH. Ectopic migration of an adult heartworm in a dog with dirofilaiasis. *Korean J Parasitol*. 2008; 46(3): 171-173. doi: 10.3347/kjp.2008.46.3.171

14. Твердохлебова Т.И., Думбадзе О.С., Ермакова Л.А., Ковалев Е.В., Алешукина А.В., Нагорный С.А. и др. Ситуация по ларвальным гельминтозам на юге России и оптимизация эпидемиологического надзора за ними. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 6: 72-80. doi: 10.36233/0372-9311-2018-6-72-80

15. Нагорный С.А., Ермакова Л.А., Криворотова Е.Ю. Особенности эпидемиологии и эпизоотологии дирофиляриоза в городе Ростове-на-Дону и Ростовской области. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2012; 4: 46-48.

16. Черникова Е.А., Чулков О.Д., Писарева Е.Е. Проблемы дирофиляриоза в России и Волгоградском регионе: современные эпидемические тенденции. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2018; 2(66): 96-100. doi: 10.19163/1994-9480-2018-2(66)-96-100

17. Shaikevich E, Bogacheva A, Ganushkina L. *Dirofilaria* and *Wolbachia* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russia and on the Black Sea coast. *Parasite*. 2019; 26: 2. doi: 10.1051/parasite/2019002

18. Соколов Е.А., Крючкова Е.Н., Абалихин Б.Г. Эпизоотология дирофиляриоза городской популяции собак в Ивановской области. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2019; 20: 594-599. doi: 10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.594-599

19. Булатова С.И., Кониная М.В., Зубарева Л.Э. Активизация природных очагов дирофиляриоза в республике Марий Эл. *Инфекция и иммунитет*. 2017; S: 856.

20. Росоловский А.П., Ивченко И.В., Игнатъева В.Н., Пьяных В.А., Матина О.Н., Шевчук Е.А. и др. Дирофиляриоз в Новгородской области. *Инфекция и иммунитет*. 2017; S: 885.

21. Полторацкая Н.В., Подольск О.М., Можейко А.Н. О зараженности собак микрофиляриями *dirofilaria* (railliet et henry, 1911) в Томске. *Концептуальные и прикладные аспекты научных исследований и образования в области зоологии беспозвоночных Сборник статей V Международной конференции. Томск, 2020*. Томск; 2020: 283-286. doi: 10.17223/978-5-94621-931-0-2020-73

22. Либерман Е.Л., Сибен А.Н. Случай дирофиляриоза служебных собак в г. Тюмени. *Агропродовольственная политика России*. 2014; 9(33): 62-64.

23. Мезенцев С.В. Эпизоотология дирофиляриоза собак в Алтайском крае. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2013; 5(103): 110-113.

24. Полторацкая Н.В., Панкина Т.М., Бурлак В.А., Федорова В.С., Катохин А.В., Полторацкая Т.Н. и др. О зараженности кровососущих комаров дирофиляриями (*Dirofilaria railliet et henry*, 1911) в Томской области. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2021; 1: 21-28. doi: 10.33092/0025-8326mp2021.1.21-28

25. Сабирова Д.Р., Маркова О.П., Таджикинов В.О. Дирофиляриоз в Тюменской области. *Инфекция и иммунитет*. 2017; S: 887.

2. Bronshteyn AM, Fedyanina LV, Malyshev NA, Kochergin NG, Davydova IV, Burova SV, et al. Human dirofilariasis repens – migratory cutaneous and visceral helminthiasis: new data of “the old” disease. Analysis of cases and review. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2016; 21(3): 157-165. (In Russ.). doi: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-157-165

3. Leonov MG, Teslenko LG, Goryashko OV, Ershov YH. Differential citological diagnostics of breast dyrophilariasis. *Russian News of Clinical Cytology*. 2019; 23(1): 16-18. (In Russ.). doi: 10.24411/1562-4943-2019-10104

4. Tishchenko GV, Shalyga AI. Dirofilariasis of the pleura. *Health and Ecology Issues*. 2020; 4(66): 122-127. (In Russ.).

5. Bronshteyn AM, Malyshev NA, Fedyanina LV, Frolova AA, Davydova IV. Clinical masks of pleuropulmonary dirofilariasis, a rare clinical presentation of dirofilariasis in Russia: A report of four cases and literature review. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2015; 20(1): 43-49. (In Russ.).

6. Rivasi F, Boldorini R, Criante P, Leutner M, Pampiglione S. Detection of *Dirofilaria* (*Nochtiella*) *repens* DNA by polymerase chain reaction in embedded paraffin tissues from two human pulmonary locations. *APMIS*. 2006; 114(7-8): 566-573. doi: 10.1111/j.1600-0463.2006.apm_423.x

7. Zumbulidze NG, Konenkova YaS, Laskin AV, Kasatkina OM, Belov DF, Vigonyuk DV. Ocular dirofilariasis: The increasing incidence in a temperate zone. *Ophthalmology Journal*. 2019; 12(4): 101-106. (In Russ.). doi: 10.17816/ov17731

8. De NV, Le TH, Chai JY. *Dirofilaria repens* in Vietnam: Detection of 10 eye and subcutaneous tissue infection cases identified by morphology and molecular methods. *Korean J Parasitol*. 2012; 50(2): 137-141. doi: 10.3347/kjp.2012.50.2.137

9. Dzamić AM, Colović IV, Arsić-Arsenijević VS, Stepanović S, Borčić I, Dzamić Z, et al. Human *Dirofilaria repens* infection in Serbia. *Helminthol*. 2009; 83(2): 129-137. doi: 10.1017/S0022149X09341346

10. Capelli G, Genchi C, Baneth G, Bourdeau P, Brianti E, Cardoso L, et al. Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe. *Parasit Vectors*. 2018; 11(1): 663. doi: 10.1186/s13071-018-3205-x

11. Williams CJ, Moffitt CM. A critique of methods of sampling and reporting pathogens in populations of fish. *J Aquat Anim Health*. 2001; 13(4): 300-309. doi: 10.1577/1548-8667(2001)013<0300:AC OMOS>2.0.CO;2

12. Yastreb VB, Arkhipov IA. Recommendation for the diagnosis, treatment and preventions of canine dirofilariasis in the Moscow region. *Russian Journal of Parasitology*. 2008; 4: 110-114. (In Russ.).

13. Oh HW, Jun HK, You MJ, Hayasaki M, Song KH. Ectopic migration of an adult heartworm in a dog with dirofilaiasis. *Korean J Parasitol*. 2008; 46(3): 171-173. doi: 10.3347/kjp.2008.46.3.171

14. Tverdohlebova TI, Dumbadze OS, Ermakova LA, Kovalev EV, Aleshukina AV, Nagorniy SA, et al. The situation with larval helminthiasis in the south of Russia and the optimization of epidemiological surveillance for them. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; 6: 72-80. (In Russ.). doi: 10.36233/0372-9311-2018-6-72-80

15. Nagorny SA, Ermakova LA, Krivorotova EYu. Features of the epidemiology and epizootology of dirofilariasis in the city of Rostov-on-Don and the Rostov region. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2012; 4: 46-48. (In Russ.).

16. Chernikova EA, Chulkov OD, Pisareva EE. Dirofilariasis problems in Russia and the Volgograd region: current epidemic

REFERENCES

1. Rakova VM, Baranova AM, Letyushev AN. Modern forms of dirofilariasis. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2020; 3: 59-63. (In Russ.). doi: 10.33092/0025-8326mp2020.3.59-55

trends. *Journal of VolgSMU*. 2018; 2(66): 96-100. (In Russ.). doi: 10.19163/1994-9480-2018-2(66)-96-100

17. Shaikovich E, Bogacheva A, Ganushkina L. *Dirofilaria* and *Wolbachia* in mosquitoes (Diptera: *Culicidae*) in central European Russia and on the Black Sea coast. *Parasite*. 2019; 26: 2. doi: 10.1051/parasite/2019002

18. Sokolov EA, Kryuchkova EN, Abalikhin BG. Epizootology of dirofilariasis of the urban population of dogs in the Ivanovo region. *Theory and Practice of Parasitic Disease Control*. 2019; 20: 594-599. (In Russ.). doi: 10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.594-599

19. Bulatova SI, Konina MV, Zubareva LE. Activation of natural foci of dirofilariasis in the Republic of Mari El. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; S: 856. (In Russ.).

20. Rosolovskiy AP, Ivchenko IV, Ignatieva VN, Pyanykh VA, Matina ON, Shevchuk EA, et al. Dirofilariasis in the Novgorod region. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; S: 885. (In Russ.).

21. Poltoratskaya NV, Podolyak OM, Mozheiko AN. About infestation of dogs with microfilariae *dirofilaria* (railliet et henry,

1911) in Tomsk. *Kontseptual'nye i prikladnye aspekty nauchnykh issledovaniy i obrazovaniya v oblasti zoologii bespozvonochnykh Sbornik statey V Mezhdunarodnoy konferentsii. Tomsk, 2020*. Tomsk; 2020; 283-286. (In Russ.). doi: 10.17223/978-5-94621-931-0-2020-73

22. Lieberman EL, Siben AN. A case of dirofilariasis of service dogs in Tyumen. *Agro-food policy in Russia*. 2014; 9(33): 62-64. (In Russ.).

23. Mezentshev SV. Epizootology of canine dirofilariasis in the Altai Territory. *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2013; 5(103): 110-113. (In Russ.).

24. Poltoratskaya NV, Pankina TM, Burlak VA, Fedorova VS, Katochin AV, Poltoratskaya TN, et al. On the infection of blood-sucking mosquitoes with dirofilariiae (*Dirofilaria railliet et henry*, 1911) in the Tomsk region. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2021; 1: 21-28. (In Russ.). doi: 10.33092/0025-8326mp2021.1.21-28

25. Sabirova DR, Markova OP, Tadzhidinov VO. Dirofilariasis in the Tyumen region. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; S: 887. (In Russ.).

Сведения об авторах

Рязанова Татьяна Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник группы паразитарных болезней отдела природно-очаговых бактериальных зоонозов, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, e-mail: mail@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0001-6204-3573>

Свердлова Алина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник группы паразитарных болезней отдела природно-очаговых бактериальных зоонозов, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, e-mail: sverdlova_av@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0002-4390-1840>

Старостина Ольга Юрьевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник группы паразитарных болезней отдела природно-очаговых бактериальных зоонозов, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, e-mail: olgastar27@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2436-6790>

Никитин Александр Александрович – кандидат медицинских наук, заместитель Главного государственного санитарного врача по Омской области, Управление Роспотребнадзора по Омской области, e-mail: epidotdel@55.rosptrebnadzor.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4675-7079>

Григорова Наталья Юрьевна – врач-паразитолог отдела лабораторного контроля, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области», e-mail: nygrig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3202-2963>

Кочетков Юрий Васильевич – ведущий специалист-эксперт отдела эпидемиологического надзора, Управление Роспотребнадзора по Омской области, e-mail: y_kochetkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2696-6164>

Information about the authors

Tatyana S. Ryazanova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Group of Parasitic Diseases of the Department of Natural Focal Bacterial Zoonoses, Omsk Research Institute of Natural Foci Infectious of Rosptrebnadzor, e-mail: mail@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0001-6204-3573>

Alina V. Sverdlova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Group of Parasitic Diseases of the Department of Natural Focal Bacterial Zoonoses, Omsk Research Institute of Natural Foci Infectious of Rosptrebnadzor, e-mail: sverdlova_av@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0002-4390-1840>

Olga Yu. Starostina – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Group of Parasitic Diseases of the Department of Natural Focal Bacterial Zoonoses, Omsk Research Institute of Natural Foci Infectious of Rosptrebnadzor, e-mail: olgastar27@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2436-6790>

Alexander A. Nikitin – Cand. Sc. (Med.), Deputy Chief State Sanitary Doctor for the Omsk Region, Directorate of Rosptrebnadzor for the Omsk Region, e-mail: epidotdel@55.rosptrebnadzor.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4675-7079>

Natalya Yu. Grigorova – Parasitologist at the Laboratory Control Department, Center of Hygiene and Epidemiology of Omsk Region, e-mail: nygrig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3202-2963>

Yuriy V. Kochetkov – Leading Expert of the Epidemiological Surveillance, Directorate of Rosptrebnadzor for the Omsk Region, e-mail: y_kochetkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2696-6164>

Формат А4 (60×84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 02.06.2022.
Подписано в печать 01.07.2022, дата выхода в свет 05.07.2022.
Печ. л. 35,75. Усл. печ. л. 33,25. Уч. изд. л. 25,8. Зак. 028-22. Тир. 500.

Отпечатано в редакционно-издательском отделе ИНЦХТ.
Адрес типографии: 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.
Тел. 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com

