

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 9
№ 1
2024



ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9556 (Online)



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 9
№ 1
2024

Главный редактор

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

Зам. главного редактора

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

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

Сычёв Д.А., академик РАН (РФ, Москва)

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

Ответственный секретарь

Жовкля Н.А. (РФ, Иркутск)

Редакционная коллегия

Аль-Джефут М., доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)

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

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

Гржибовский А.М., д.м.н., профессор (РФ, Архангельск)

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

Мадаева И.М., д.м.н. (РФ, Иркутск)

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

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

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

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

Семёнова Н.В., д.б.н. (РФ, Иркутск)

Хавинсон В.Х., академик РАН (РФ, Санкт-Петербург)

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

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

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

Редакционный совет

Айзман Р.И., д.б.н. (РФ, Новосибирск); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белокриницкая Т.Е., д.м.н., профессор (РФ, Чита); Бохан Н.А., академик РАН (РФ, Томск); Бывальцев В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Данчинова Г.А., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дубровина В.И., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дыгай А.М., академик РАН (РФ, Томск); Ковров Г.В., д.м.н. (РФ, Москва); Колосов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Кривошапкин А.Л., член-корр. РАН (РФ, Москва); Кудлай Д.А., член-корр. РАН (РФ, Москва); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (РФ, Калининград); Манчук В.Т., член-корр. РАН (РФ, Красноярск); Огарков О.Б., д.м.н. (РФ, Иркутск); Осипов А.Н., член-корр. РАН (РФ, Москва); 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); Савченков М.Ф., академик РАН (РФ, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); 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 Йонгхонг, 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 научное 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 2587-9556 (Online)



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 9
N 1
2024

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)

Sychev D.A., Member of RAS (Russia, Moscow)

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

Executive secretary

Zhovklaya N.A. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Al-Jefout M., MD, Professor (Jordan, Karak)

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

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

Grzhibovskii A.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Arkhangelsk)

Kolesnikova L.I., Member of RAS (Russia, Irkutsk)

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

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

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

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

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

Semenova N.V., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk)

Khavinson V.Kh., Member of RAS (Russia, Saint Petersburg)

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

Aizman R.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Novosibirsk); Atshabar B.B., Dr. Sc. (Med.), Professor (Kazakhstan, Almaty); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Chita); Bokhan N.A., Member of RAS (Russia, Tomsk); Byvaltsev V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Danchinova G.A., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dubrovina V.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dygai A.M., Member of RAS (Russia, Tomsk); Kovrov G.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kolosov V.P., Member of RAS (Russia, Blagoveshchensk); Konstantinov Yu.M., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Krivoshepin A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Kudlay D.A., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Makarov L.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Malyshev V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Kaliningrad); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (Russia, Krasnoyarsk); Ogarkov O.B., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Osipov A.N., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow) 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); Savchenkov M.F., Member of RAS (Russia, Irkutsk); Suturina L.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Sergelen O., Dr. Sc. (Med.), Professor (Mongolia, Ulaanbaatar); 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 2541–9420 (Print)

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

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

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 1 (2024)

Рычкова
Любовь Владимировна

Д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН

В первом номере журнала за текущий год экспериментальные исследования занимают лидирующие позиции. Их высокий процент от общего количества публикуемых статей свидетельствует о прогрессивном развитии научных разработок. Задача журнала – донести до общественности результаты самых интересных и перспективных исследований. Важно отметить, что объединяет эти статьи не только качество проведённых экспериментов и полученных результатов, но и их потенциал в применении для улучшения качества жизни людей.

Статья коллектива авторов из Новокузнецка (**Горохова Л.Г. и соавт.**) имеет наиболее практический характер: в рамках исследования было доказано, что индол и 1-бензилиндол в условиях длительного поступления в организм приводят к функциональным нарушениям сердечно-сосудистой системы, которые являются причиной развития артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, атеросклеротических поражений сосудов. В связи с этим на предприятиях, где имеет место контакт с индолом и его производными, необходимо внедрение расширенного списка обследований работников.

В рамках исследования, проведённого авторами из Оренбурга (**Казаква Т.В. и соавт.**), было установлено, что вследствие загрязнения окружающей среды высокие концентрации марганца приводят к кумуляции данного микроэлемента в сыворотке крови, снижению уровня кальция, калия, магния, железа и меди. В коре головного мозга повышается уровень марганца, свинца, ртути и стронция на фоне снижения железа и йода, что в свою очередь ведёт к нарушению функционирования различных систем организма и развитию различных патологических состояний.

Исследование влияния мелатонина представлено сразу в двух исследованиях: в статье наших постоянных авторов из Новосибирска (**Мичурина С.В. и соавт.**) и авторов из Волгограда (**Бабков Д.А. и соавт.**). Первые провели эксперимент по выявлению влияния мелатонина на экспрессию антиапоптотического Bcl-2 и проапоптотического Bad, а также соотношение Bcl-2/Bad в лютеоцитах яичников в условиях экспериментальной гипертермии. Своевременное введение мелатонина показало сдвиг соотношения площадей экспрессии Bcl-2/Bad в сторону увеличения антиапоптотического Bcl-2 уже через неделю восстановительного периода и способствовало более ранней нормализации Bcl-2/Bad до физиологического уровня через две недели. Второй коллектив авторов осуществил разработку и валидацию метода виртуального скрининга для выявления биоизостерических аналогов мелатонина, перспективных для изучения в качестве средств, снижающих внутриглазное давление. Результативность составила 40 %, что является перспективным показателем для дальнейшего изучения и разработки исследуемых соединений в качестве средства для лечения глаукомы.

Хотелось бы отдельно отметить совместную статью авторов из Ярославля и Москвы (**Хохлов А.Л. и соавт.**) об определении изменения содержания моноаминовых нейромедиаторов и их метаболитов в структурах головного мозга с применением метода ВЭЖХ-МС/МС. До недавнего времени методика совместного определения моноаминовых медиаторов и их метаболитов не разрабатывалась. Сейчас же она прошла полную валидацию и соответствует требованиям российских и международных руководств. Выбранный способ стабилизации позволяет хранить образцы гомогенатов мозга в течение 30 дней после отбора.

Исследование, проведённое авторами из Москвы (**Адамовская О.Н. и соавт.**), можно озаглавить как «Новые времена требуют новых исследований». Авторами выявлено, что из-за внедрения в образовательный процесс информационно-компьютерных технологий у школьников при выполнении когнитивной нагрузки на электронных устройствах происходит изменение показателей variability сердечного ритма, электродермальной активности и мозгового кровообращения.

В номере также представлен ряд обзорных статей по различным направлениям. Например, коллективом авторов из Москвы (**Регентова О.С. и соавт.**) проведён анализ перспектив применения ультразвука различной интенсивности для лечения пациентов со злокачественными глиомами головного мозга. По имеющимся данным, фокусированный ультразвук является многообещающим потенциальным методом лечения глиом. Авторы из Уфы (**Зиганшин А.М. и соавт.**) выполнили анализ литературы по последним исследованиям посткастрационного синдрома, его влиянию на качество жизни и методам коррекции. Несмотря на высокую степень изученности данной проблемы, всё ещё остаются существенные пробелы в аспектах снижения риска развития инсульта, депрессии, когнитивных расстройств и болезни Альцгеймера.

Авторами из Костромы (**Тихонова И.В. и соавт.**), Москвы (**Маракшина Ю.А. и соавт.**) представлены статьи по психологии. Первый коллектив авторов исследует представления о стрессогенности родительской роли у потенциальных родителей (объективные и субъективные детерминанты). Во второй статье изучаются психометрические свойства сокращённой шкалы математической тревожности на выборке российских старшеклассников.

Также в номер вошли статьи по тематикам куда более редким для нашего журнала, чем традиционные направления. Это статья авторов из Екатеринбурга (**Антонова Н.Л. и соавт.**) «Социальные факторы формирования пищевых расстройств: опыт социологического исследования», вошедшая в раздел «Демографии», и статья коллектива авторов из Москвы (**Сираева Т.В. и соавт.**) по фтизиатрии «Организационные аспекты медицинской реабилитации больных туберкулёзом органов дыхания».

Подробнее с результатами исследования всех представленных работ можно ознакомиться в соответствующих разделах журнала. Надеемся, что представленные материалы будут интересны широкому кругу читателей, за что хотим выразить благодарность как авторам, так и рецензентам, принимавшим участие в создании данного выпуска.

Для цитирования: Рычкова Л.В. Предисловие заместителя главного редактора к № 1 (2024). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.1

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 1, 2024

Lyubov V. Rychkova

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

In the first issue of the journal for 2024, experimental research takes a leading position. Its high percentage in the total number of articles indicates the progress in scientific developments. The aim of our journal is to convey to the public the results of the most interesting and promising research. It is important to note that these articles are united not only by the quality of the performed experimental research and the results obtained, but also by their potential for application in order to improve the quality of people's life.

The article by the authors from Novokuznetsk (**Gorokhova L.G. et al.**) is of the most practical nature: the study proved that indole and 1-benzylindole in case of long-term intake, lead to functional disorders of the cardiovascular system, which are the cause for development of arterial hypertension, coronary heart disease, atherosclerotic vascular lesions. In this regard, at enterprises where there is contact of workers with indole and its derivatives, it is necessary to introduce an expanded list of medical examinations for employees.

As part of a study conducted by authors from Orenburg (**Kazakova T.V. et al.**), it was found that due to environmental pollution, high concentrations of manganese lead to the accumulation of this microelement in the blood serum, a decrease in the levels of calcium, potassium, magnesium, iron and copper. In the cerebral cortex, the level of manganese, lead, mercury and strontium increases against the background of a decrease in iron and iodine levels, which in turn leads to disorders of the various body systems and the development of various pathological conditions.

The influence of melatonin was studied in two works presented in the current issue: in an article by our regular authors from Novosibirsk (**Michurina S.V. et al.**) and in the article by authors from Volgograd (**Babkov D.A. et al.**). The first group of authors conducted an experiment to identify the effect of melatonin on the expression of anti-apoptotic Bcl-2 and pro-apoptotic Bad, as well as the Bcl-2/Bad ratio in ovarian luteocytes under experimental hyperthermia. Timely administration of melatonin caused a shift in the ratio of Bcl-2/Bad expression areas towards an increase in anti-apoptotic Bcl-2 after only a week of the recovery period and contributed to an earlier normalization of Bcl-2/Bad to physiological levels after two weeks. The second group of authors developed and validated a virtual screening method to identify bioisosteric analogs of melatonin that are promising for study as agents that reduce intraocular pressure. The effectiveness was 40 %, which is a promising indicator for further research and development of the studied compounds as a treatment for glaucoma.

We would like to specifically note the joint article by authors from Yaroslavl and Moscow (**Khokhlov A.L. et al.**) on determining changes in the content of monoamine neurotransmitters and their metabolites in brain structures using high-performance liquid chromatography in combination with tandem mass spectrometry. Until recently, a method for the joint determination of monoamine mediators and their metabolites was not developed. Now it has been fully validated and meets the requirements of Russian and international guidelines. The chosen stabilization method allows samples of brain homogenates to be stored for 30 days after collection.

The study conducted by authors from Moscow (**Adamovskaya O.N. et al.**) can be titled "New times require new research". The authors found that due to the introduction of information and computer technologies into the educational process, schoolchildren, when performing cognitive load on electron-

ic devices, experience changes in heart rate variability, electrodermal activity and cerebral circulation.

The issue also contains a number of review articles in various areas. For example, a team of authors from Moscow (**Regentova O.S. et al.**) analyzed the prospects for using ultrasound of various intensities to treat patients with malignant brain gliomas. Focused ultrasound is reported to be a promising potential treatment for gliomas. Authors from Ufa (**Ziganshin A.M. et al.**) analyzed the literature on the latest research on post-castration syndrome, its impact on quality of life and correction methods. Despite the high level of prior studies of this problem, there are still significant gaps in reducing the risk of stroke, depression, cognitive disorders and Alzheimer's disease.

Authors from Kostroma (**Tikhonova I.V. et al.**) and Moscow (**Marakshina Yu.A. et al.**) presented articles on psychology. First group of authors examined the perceptions of potential parents about the stressfulness of the parental role (objective and subjective determinants). The second article is devoted to the studying of psychometric properties of the Abbreviated Math Anxiety Scale on a sample of Russian high school students.

The issue also includes articles on topics much more rare for our journal than traditional areas. First, this is an article by authors from Yekaterinburg (**Antonova N.L. et al.**) "Social factors in the formation of eating disorders: Experience of sociological research" presented in the "Demography" section, and an article by the team of authors from Moscow (**Siraeva T.V. et al.**) in phthysiology "Organizational aspects of medical rehabilitation of patients with respiratory tuberculosis".

More detailed information about the research results of all presented works can be found in the relevant sections of our journal. We hope that presented materials will be of interest to a wide range of readers. We would like to express our gratitude to both the authors and the reviewers who took part in the creation of this issue.

For citation: Rychkova L.V. Deputy editor-in-chief's preface to Issue 1, 2024. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.1

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие заместителя главного редактора к № 1 (2024). Рычкова Л.В. 5

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

Роль лизофосфатидной кислоты и её рецепторов в патогенезе бронхиальной астмы. Кытикова О.Ю., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К. 12

ДЕМОГРАФИЯ

Социальные факторы формирования пищевых расстройств: опыт социологического исследования. Антонова Н.Л., Нагноенко Д.В. 23

КАРДИОЛОГИЯ

L-аргинин и артериальная гипертензия: клинико-патогенетические взаимосвязи и коморбидность. Щербак В.А., Медведева А.С., Аксенова Т.А., Щербак Н.М., Аксенов К.О. 32

Взаимосвязь содержания FoxP3⁺ Т-регуляторных лимфоцитов и толщины эпикардальной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца. Кологривова И.В., Харитонов О.А., Дмитриук А.А., Кравченко Е.С., Кошельская О.А., Суслова Т.Е. 42

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Биологические свойства и генетическая структура клинических изолятов комплекса видов *Klebsiella pneumoniae*. Белькова Н.Л., Клименко Е.С., Немченко У.М., Григорова Е.В., Ситникова К.О., Зугеева Р.Е., Смурова Н.Е., Чемезова Н.Н., Савилов Е.Д. 53

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Исследования воздействия индола и его производного 1-бензилиндоло на функциональное состояние сердца и показатели крови лабораторных крыс. Горохова Л.Г., Михайлова Н.Н., Жукова А.Г., Казницкая А.С. 64

Молекулярные компоненты, иммунные и стволовые клетки в регенерации мягких тканей. Плехова Н.Г., Королев Д.В., Шуматов В.В. 73

Особенности нейровегетативной и гуморальной регуляции когнитивной деятельности у подростков при использовании электронных устройств. Адамовская О.Н., Ермакова И.В., Догадкина С.Б. 85

CONTENTS

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Deputy Editor-in-chief's preface to Issue 1, 2024. Rychkova L.V. 5

INTERNAL DISEASES

Lysophosphatidic acid and its receptors: Role in bronchial asthma pathogenesis. Kytikova O.Yu., Novgorodtseva T.P., Denisenko Yu.K. 12

DEMOGRAPHY

Social factors in the formation of eating disorders: Experience of sociological research. Antonova N.L., Nagnoenko D.V. 23

CARDIOLOGY

The role of L-arginine in the pathogenesis of essential arterial hypertension. Shcherbak V.A., Medvedeva A.S., Aksenova T.A., Shcherbak N.M., Aksenov K.O. 32

Association of FoxP3⁺ T regulatory lymphocytes with epicardial adipose tissue thickness in patients with coronary heart disease. Kologrivova I.V., Kharitonova O.A., Dmitriukov A.A., Kravchenko E.S., Koshelskaya O.A., Suslova T.E. 42

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Biological properties and genetic structure of clinic isolates of *Klebsiella pneumoniae* species. Belkova N.L., Klimenko E.S., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Sitnikova K.O., Zugeeva R.E., Smurova N.E., Chemezova N.N., Savilov E.D. 53

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Studies of the effect of indole and its derivative 1-benzylindole on the functional state of the heart and blood values of laboratory rats. Gorokhova L.G., Mikhailova N.N., Zhukova A.G., Kazitskaya A.S. 64

Molecular components, immune and stem cells in soft tissue regeneration. Plekhova N.G., Korolev D.V., Shumatov V.B. 73

Features of neurovegetative and humoral regulation of cognitive activity in adolescents when using electronic devices. Adamovskaya O.N., Ermakova I.V., Dogadkina S.B. 85

ОНКОЛОГИЯ

Перспективы применения ультразвука различной интенсивности для лечения пациентов со злокачественными глиомами головного мозга. Регентова О.С., Пархоменко Р.А., Щербенко О.И., Антоненко Ф.Ф., Зелинская Н.И., Сидибе Н., Полушкин П.В., Солодкий В.А.

96

Посткастрационный синдром: актуальность, влияние на качество жизни, методы коррекции. Зиганшин А.М., Тагиров М.Р., Бабоян Д.О.

107

ONCOLOGY

Prospects for using ultrasound of various intensity for the treatment of patients with malignant brain gliomas. Regentova O.S., Parkhomenko R.A., Shcherbenko O.I., Antonenko F.F., Zelinskaya N.I., Sidibe N., Polushkin P.V., Solodkiy V.A.

Post-castration syndrome: relevance, impact on quality of life, methods of correction. Ziganshin A.M., Tagirov M.R., Baboyan D.O.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Виртуальный и экспериментальный скрининг новых биоизостеров мелатонина для лечения глаукомы. Бабков Д.А., Таран А.С., Шевченко А.А., Науменко Л.В., Жуковская О.Н., Ефремов А.М., Безсонова Е.Н., Лозинская Н.А., Спасов А.А.

116

Изменение нарушений аккомодации у детей с анизометропической амблиопией и гиперметропией. Куликова И.Л., Александрова К.А.

129

Интраокулярный дирифиляриоз: хирургические подходы, особенности клинического течения (клинический случай). Архипов Е.В., Зайка В.А., Кузьмин С.В., Самсонов Д.Ю., Нефедьева М.Д., Журавская К.Р.

136

Некоторые аспекты лабораторной диагностики офтальмодемодеккоза. Попова Д.А., Курсакова Ю.В.

142

OPHTHALMOLOGY

Virtual and experimental screening of new melatonin bioisosteres for the treatment of glaucoma. Babkov D.A., Taran A.S., Shevchenko A.A., Naumenko L.V., Zhukovskaya O.N., Efremov A.M., Bezsonova E.N., Lozinskaya N.A., Spasov A.A.

Changes in accommodation disorders in children with anisometropic amblyopia and hypermetropia. Kulikova I.L., Aleksandrova K.A.

Intraocular dirofilariasis: Surgical approaches, features of the clinical course (clinical case). Arkhipov E.V., Zaika V.A., Kuzmin S.V., Samsonov D.Yu., Nefedieva M.D., Zhuravskaya K.R.

Some aspects of laboratory diagnostics of ophthalmodemodocosis. Popova D.A., Kursakova Yu.V.

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ

Psychometric properties of the abbreviated math anxiety scale on a sample of Russian high school students. Marakshina J.A., Pavlova A.A., Ismatullina V.I., Lobaskova M.M., Adamovich T.V., Mironets S.A., Sitnikova M.A., Malykh S.B.

152

Представления о стрессогенности родительской роли у потенциальных родителей: объективные и субъективные детерминанты. Тихонова И.В., Шипова Н.С., Мусиюк Ю.В.

161

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

Психометрические свойства Сокращённой шкалы математической тревожности на выборке российских старшеклассников. Маракшина Ю.А., Павлова А.А., Исмагуллина В.И., Лобаскова М.М., Адамович Т.В., Миронец С.А., Ситникова М.А., Малых С.Б.

Ideas about the stressfulness of the parental role in potential parents: objective and subjective determinants. Tikhonova I.V., Shipova N.S., Misiyuk Yu.V.

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Разработка и валидация методики количественного определения моноаминовых нейромедиаторов и их метаболитов в тканях мозга крыс с помощью ВЭЖХ-МС/МС. Хохлов А.Л., Яичков И.И., Корсаков М.К., Каграманян И.Н., Вольхин Н.Н., Петухов С.С., Зайкова В.Е.

177

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

Development and validation of a method for the quantitative determination of monoamine neurotransmitters and their metabolites in rat brain tissue using HPLC-MS/MS. Khokhlov A.L., Yaichkov I.I., Korsakov M.K., Kagramanyan I.N., Volkhin N.N., Petukhov S.S., Zaikova V.E.

ФТИЗИАТРИЯ

Организационные аспекты медицинской реабилитации больных туберкулёзом органов дыхания. Супраева Т.В., Комиссарова О.Г., Романов В.В.

192

PHTHISIOLOGY

Organizational aspects of medical rehabilitation of patients with respiratory tuberculosis. Siraeva T.V., Komissarova O.G., Romanov V.V.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние мелатонина на экспрессию белков Bcl-2 и Bad в клетках жёлтых тел яичников после воздействия экспериментальной гипертермии. Мичурина С.В., Колесников С.И., Ищенко И.Ю., Архипов С.А. 203

Влияние субхронического воздействия марганца на минеральный обмен крыс линии Wistar. Казакова Т.В., Маршинская О.В., Нотова С.В. 214

Восстановление нарушенной метаболическим синдромом адаптационной кардиопротекции у крыс путём активации PPARα. Нарыжная Н.В., Деркачев И.А., Курбатов Б.К., Сиротина М.А., Килин М., Маслов Л.Н. 222

Профилактика и коррекция нарушений поведенческой активности крыс с метаболическим синдромом комплексным фитоадаптогеном. Дзампаева Ж.В., Датиева Ф.С., Такоева Е.А., Нартикоева М.И. 233

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Влияние вакцинации на заболеваемость и смертность от внебольничных пневмоний. Баянова Т.А., Стукова Е.С., Кравченко Н.А. 241

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ

К 500-летию со дня рождения Габриэле Фаллопио (1523–1562). Фоминых Т.А., Кутя С.А., Уланов В.С., Мороз Г.А. 251

Мишин Владимир Юрьевич (к 75-летию со дня рождения) 259

EXPERIMENTAL RESEARCHES

The effect of melatonin on the Bcl-2 and Bad proteins expression in ovarian corpus luteum cells after exposure to experimental hyperthermia. Michurina S.V., Kolesnikov S.I., Ishchenko I.Yu., Arkhipov S.A.

Effect of subchronic exposure to manganese on mineral metabolism in Wistar rats. Kazakova T.V., Marshinskaya O.V., Notova S.V.

Restoration of adaptive cardioprotection impaired by metabolic syndrome in rats by the PPARα activation. Naryzhnaya N.V., Derkachev I.A., Kurbatov B.K., Sirotina M.A., Kilin M., Maslov L.N.

Prevention and correction of behavioral disorders in rats with metabolic syndrome using a complex phytoadaptogen. Dzampaeva Zh.V., Datieva F.S., Takaeva E.A., Nartikoeva M.I.

EPIDEMIOLOGY

Effect of vaccination on morbidity and mortality from community-acquired pneumonia. Bayanova T.A., Stukova E.S., Kravchenko N.A.

HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

To the 500th anniversary of the birth of Gabriele Fallopio (1523–1562). Fominykh T.A., Kutia S.A., Ulanov V.S., Moroz G.A.

Vladimir Yu. Mishin (to the 75th anniversary)

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ INTERNAL DISEASES

РОЛЬ ЛИЗОФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ РЕЦЕПТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кытикова О.Ю.,
Новгородцева Т.П.,
Денисенко Ю.К.

Владивостокский филиал ФГБНУ
«Дальневосточный научный центр
физиологии и патологии дыхания» –
Научно-исследовательский институт
медицинской климатологии
и восстановительного лечения
(690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кытикова Оксана Юрьевна,
e-mail: kytikova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Лизофосфатидная кислота (LPA, lysophosphatidic acid) является биологически активным липидным медиатором, регулирующим ряд сигнальных путей, вовлечённых в патогенез бронхиальной астмы (БА). Интерес к изучению взаимоотношений LPA с LPA-рецепторами (LPARs, lysophosphatidic acid receptors) и ионными каналами с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP, transient receptor potential) обусловлен их ролью в инициации и развитии бронхиальной обструкции, что предполагает разработку новых эффективных стратегий лечения БА через блокирование синтеза LPA и/или регуляции активности лиганд-рецепторного взаимоотношения.

Цель обзора. Обобщить представления о роли лизофосфатидной кислоты и её рецепторов в патогенезе бронхиальной астмы на основании анализа статей, опубликованных на английском языке в период с 2020 по 2023 г. в базе данных PubMed.

Заключение. В данном обзоре обобщены последние литературные данные о химической структуре, путях биосинтеза и рецепторах LPA. Представлена информация о роли LPA, LPARs и TRP-каналов в патогенезе БА. Обобщены терапевтические стратегии БА, нацеленные на LPA, LPARs и TRP-каналы. Данный обзор подчёркивает не только новый взгляд на понимание механизмов инициации астматических реакций, но и возможные способы управления ими на этапе коррекции их развития.

Ключевые слова: лизофосфатидная кислота, рецепторы лизофосфатидной кислоты, ионные каналы с транзиторным рецепторным потенциалом, бронхиальная астма

Статья поступила: 30.05.2023
Статья принята: 25.01.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Кытикова О.Ю., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К. Роль лизофосфатидной кислоты и её рецепторов в патогенезе бронхиальной астмы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 12-22. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.2

LYSOPHOSPHATIDIC ACID AND ITS RECEPTORS: ROLE IN BRONCHIAL ASTHMA PATHOGENESIS

Kytikova O.Yu.,
Novgorodtseva T.P.,
Denisenko Yu.K.

Vladivostok Branch, Far Eastern
Scientific Centre of Physiology
and Pathology of Respiration –
Research Institute of Medical Climatology
and Rehabilitation Treatment
(Russkaya str. 73G, Vladivostok 690105,
Russian Federation)

Corresponding author:
Oxana Yu. Kytikova,
e-mail: kytikova@yandex.ru

ABSTRACT

Lysophosphatidic acid (LPA) is a biologically active lipid mediator that regulates a number of signaling pathways involved in the pathogenesis of bronchial asthma. Attention to studying the relationship of LPA with LPA receptors (LPARs) and ion channels with transient receptor potential (TRP) is caused by their role in the initiation and development of bronchial obstruction, which suggests the development of new effective strategies for the treatment of bronchial asthma through blocking LPA synthesis and/or regulation of the activity of the ligand-receptor relationship.

The aim of the review. To summarize ideas on the role of lysophosphatidic acid and its receptors in the pathogenesis of bronchial asthma based on the analysis of articles published in English in 2020–2023 from the PubMed database.

Conclusion. The review summarizes recent literature data on the chemical structure, biosynthetic pathways and LPA receptors. It presents the information on the role of LPA, LPARs and TRP channels in the pathogenesis of bronchial asthma; summarizes the bronchial asthma therapeutic strategies targeting LPA, LPARs, and TRP channels. The review highlights not only a new perspective on understanding the mechanisms of initiation of asthmatic reactions, but also possible ways to manage them at the stage of correction of their development.

Key words: lysophosphatidic acid, lysophosphatidic acid receptors, transient receptor potential channels, bronchial asthma

Received: 30.05.2023
Accepted: 25.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Kytikova O.Yu., Novgorodtseva T.P., Denisenko Yu.K. Lysophosphatidic acid and its receptors: Role in bronchial asthma pathogenesis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 12–22. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.2

ВВЕДЕНИЕ

Лизофосфолипиды являются биоактивными липидными медиаторами, локализованными в мембранах клеток [1]. Они влияют на пролиферацию, дифференцировку, выживаемость, миграцию, адгезию, инвазию и морфогенез клеток, а также связаны с нейрогенезом, ангиогенезом, фиброгенезом и онкогенезом [2]. В последние годы активно изучается сигнальная функция лизофосфолипидов, в частности лизофосфатидной кислоты (LPA, lysophosphatidic acid), при различных заболеваниях и патологических состояниях. В то же время не так много внимания уделено изучению роли LPA в патогенезе бронхолегочных заболеваний, в частности бронхиальной астмы (БА) [3–5].

Известно, что LPA взаимодействует с LPA-рецепторами 1–6 (LPARs, lysophosphatidic acid receptors), ядерными рецепторами, активируемыми пролифераторами пероксисом (PPARs, peroxisome proliferator-activated receptors), актин-связывающими белками (ABP, actin-binding proteins) и, как недавно выяснилось, с рецепторами ионных каналов с транзитным рецепторным потенциалом (TRP, transient receptor potential), что resultsруется в активации множества сигнальных путей [2, 4, 6, 7].

Роль рецепторов LPA в патогенезе астматических реакций активно изучается [3], однако в последние годы фокус исследований заметно сместился на взаимодействие LPA с рецепторами TRP-каналов [8, 9]. Известно, что нарушение функционирования данных каналов играет важную роль в патогенезе бронхиальной обструкции, что делает их перспективными мишенями в терапии БА [10–18]. LPA была идентифицирована как лиганд для TRP-рецепторов; описана её способность модулировать активность TRPM2 (TRP cation channel, subfamily M, member 2), TRPV1 (TRP cation channel, subfamily V, member 1) и TRPA1 (TRP cation channel, subfamily A, member 1) [3, 19].

С установлением механизма взаимодействия LPA с LPARs и TRP-рецепторами в бронхолегочной системе открывается новый взгляд не только на понимание механизмов инициации астматических реакций, но и на возможные способы управления ими. Это предполагает принципиально новые возможности в разработке эффективной терапевтической стратегии БА на этапе коррекции развития астматических реакций.

Управление передачей сигналов LPA через воздействие на LPAR1–6 является актуальной фармакологической целью [20]. Однако передача сигналов LPA через её рецепторы также связана со стимуляцией развития фиброза, запуском процессов атерогенеза, онкогенеза и метастазирования [21]. Таким образом, применение агонистов LPA сталкивается с дилеммой использования терапевтически эффективных механизмов действия этой липидной молекулы при избегании развития нежелательных эффектов [20], что обуславливает актуальность изучения и других рецепторов LPA в качестве терапевтических мишеней.

В данной статье обобщены последние литературные данные о химической структуре, путях биосинтеза и рецепторах LPA. Основное внимание уделено роли LPA, LPARs и TRP-каналов в патогенезе БА. Обобщены и обсуждены возможные терапевтические стратегии БА, нацеленные на LPA, LPARs и TRP-каналы.

В базе данных PubMed проведён систематический поиск статей, опубликованных на английском языке в период с 2020 по 2023 г. Для более детального освещения представленной информации также были проанализированы 5 статей, опубликованных ранее 2020 г., которые не включали ключевые слова данного обзора. В обзор включали источники информации, в которых освещались вопросы, касающиеся цели настоящего обзора. Информационные запросы включали следующую совокупность ключевых слов: «lysophosphatidic acid», «asthma», «transient receptor potential channels», «lysophosphatidic acid receptors» (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1
РЕЗУЛЬТАТЫ СИСТЕМАТИЧЕСКОГО ПОИСКА СТАТЕЙ
В БАЗЕ ДАННЫХ PUBMED (2020–2023 гг.)

TABLE 1
RESULTS OF A SYSTEMATIC SEARCH OF ARTICLES
IN THE PUBMED DATABASE (2020–2023)

Ключевые слова	Число статей за период 2020–2023 гг.
«lysophosphatidic acid»	698
«lysophosphatidic acid» and «asthma»	9
«lysophosphatidic acid» and «transient receptor potential channels»	7
«lysophosphatidic acid» and «asthma» and «transient receptor potential channels»	1
«asthma» and «transient receptor potential channels»	67
«lysophosphatidic acid» and «lysophosphatidic acid receptors»	304
«lysophosphatidic acid» and «asthma» and «lysophosphatidic acid receptors»	5
«asthma» and «lysophosphatidic acid receptors»	4

Найденные по запросу названия статей просматривали и в случае их соответствия тематике литературного обзора, подвергали анализу рефераты статей. При соответствии реферата критериям включения, проводили поиск и анализ полнотекстового варианта статьи.

1. ЛИЗОФОСФАТИДНАЯ КИСЛОТА

Лизофосфатидная кислота относится к классу лизоглицерофосфолипидов – фосфолипидов только с одним жирнокислотным остатком, в отличие от глицерофосфолипидов, имеющих две жирные кислоты (ЖК) в sn-1 и sn-2 положении [6].

Лизофосфатидные кислоты представлены различными молекулярными видами в зависимости от наличия в их структуре насыщенных или ненасыщенных жирнокислотных остатков (LPA16:0, LPA18:0, LPA18:1, LPA18:2, LPA20:4 и LPA22:6). Также структура и активность LPA определяются положением жирных кислот в молекуле глицерина [1, 6] (рис. 1).

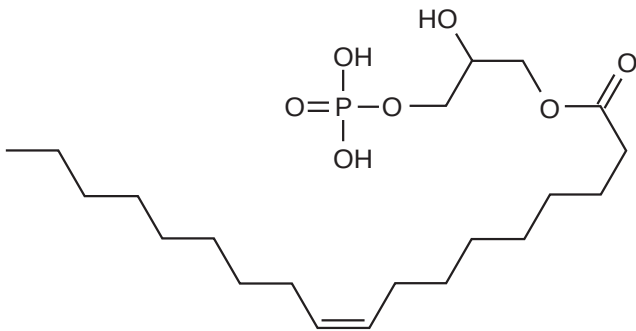


РИС. 1.
Формула лизофосфатидной кислоты
FIG. 1.
Chemical structure of lysophosphatidic acid

Биосинтез LPA осуществляется несколькими путями [2, 6, 7] (табл. 2).

В первом пути биосинтез LPA зависит от активности фосфолипаз [22]. Данный путь включает расщепление мембранных фосфолипидов (фосфатидилхолин, фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин) или расщепление диацилглицерина (DAG, diacyl glycerol) с образованием фосфатидной кислоты. Фосфатидная кислота

является субстратом для фосфолипаз A1 и A2, которые высвобождают ЖК из положений sn-1 или sn-2 соответственно, образуя LPA.

Фосфолипаза A1 действует как внеклеточно, так и внутриклеточно. Внеклеточная фосфолипаза A1 вовлечена в гидролиз триацилглицерина и расщепление жирной кислоты. Фосфолипаза A2 представляет собой большое суперсемейство, включающее 15 групп и 30 изоформ, принадлежащих к четырём типам: секреторные (IB, IIA, IIC, IID, IIE, IIF, III, V, X, XIIA и XIIB), цитозольные, кальций-независимые и липопротеин-ассоциированные фосфолипазы A2. Фосфолипаза A2 гидролизует ненасыщенные жирные кислоты, вовлечена в производство эйкозаноидов и фактора активации тромбоцитов. С одной стороны, секреторная фосфолипаза A2 высвобождает омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), которые являются субстратом для противовоспалительных и про-разрешающих оксипинов, с другой – при участии секреторной фосфолипазы A2 образуются жирные кислоты, лизофосфатидная кислота, лизофосфолипиды, простагландины, лейкотриены и тромбоксаны, которые обладают провоспалительным действием [1, 22].

Во втором пути биосинтез LPA осуществляется при участии аутоксина (ATX, autotaxin) [6]. Аутоксин (изоформы ATX-α, ATX-β, ATX-γ, ATX-δ и ATX-ε) или лизофосфолипаза Д относится к классу внеядерных пирофосфатаз/фосфодиэстераз (ENPP2, ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2). Транскрипцию гена ENPP2, находящегося в области 8q24 хромосомы человека, регулируют несколько провоспалительных и транскрипционных факторов [23]. Ингибирование ATX приводит к снижению уровня провоспалительных медиаторов (фактора некроза опухоли, интерлейкина (IL) 1, IL-6) в эксперименте [24].

ATX активен в большинстве биологических жидкостей, включая сыворотку/плазму, жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), спинномозговую жидкость и мочу. В тромбоцитах аутоксин может связываться с интегринами тромбоцитов αVβ3 и αIIbβ3. Считается, что основным источником аутоксина в крови является жировая ткань [6].

LPA также образуется из глицерин-3-фосфата при участии глицерин-3-фосфат ацилтрансферазы. Наконец, LPA может расщепляться до моноацилглицерина и диацилглицерина при участии лизофосфатаз, до PA – с помощью LPA-ацилтрансферазы, и до G3P – при участии лизофосфолипаз [6].

ТАБЛИЦА 2
ПУТИ И ФЕРМЕНТЫ БИОСИНТЕЗА ЛИЗОФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ

Пути биосинтеза LPA	Ферменты, участвующие в биосинтезе LPA
Фосфатидная кислота	PLA1, PLA2
Лизоглицерофосфолипиды (LPC, Lyso-PS и LPE)	ATX/Lyso PLD
Глицерин-3-фосфат (G3P, glycerol 3-phosphate)	GPAT

TABLE 2
PATHWAYS AND ENZYMES OF LYOPHOSPHATIDIC ACID BIOSYNTHESIS

Рецепторы лизофосфатидной кислоты

Физиологическая роль циркулирующих LPA заключается в преимущественной передаче сигналов посредством взаимодействия с сопряжёнными с G-белком трансмембранными рецепторами (GPCR, G-protein coupled receptors), к которым относятся LPA-рецепторы (LPAR1–6) [2, 6]. Кроме того, недавние исследования показали, что LPA является лигандом для некоторых TRP-каналов [2, 4, 6, 7]. Рецепторы LPA суммированы в таблице 3.

LPAR1–3 относятся к семейству генов эндотелиальной дифференциации (EDG, endothelial differentiation gene): LPAR1/EDG2, LPAR2/EDG4 и LPAR3/EDG7. LPAR4 (P2RY9, GPR23), LPAR5 (GPR92) и LPAR6 (P2RY5, GPR87) принадлежат к группе пуринаргических рецепторов (P2Y, purinergic receptors). Недавние исследования показали, что LPA может также активировать P2Y10 [2].

LPAR1 широко экспрессируется в различных органах и тканях, однако больше – в головном мозге, сердце, плаценте, толстой и тонкой кишке. Более высокая экспрессия мРНК LPAR2 обнаружена в почках, матке, яичках, более низкая – в тимусе, поджелудочной железе и селезёнке. Уровень мРНК LPAR3 выше в сердце, лёгких, поджелудочной железе, головном мозге, простате и яичниках. Уровни мРНК LPAR4 повышены у мышей в коже, сердце, яичниках, тимусе. Большое количество LPAR5 экспрессируется в селезёнке, тонкой и толстой кишке. LPAR6 имеет отношение к росту волос, однако исследования его роли и механизмов в различных системах относительно немногочисленны [2].

LPARs активируют подтипы белка Gα (Gα12/13, Gαq/11, Gαi/o и Gαs), модулирующие нижестоящие сигнальные пути. Так, через Gα12/13 активируется сигналь-

ТАБЛИЦА 3
РЕЦЕПТОРЫ ЛИЗОФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ

TABLE 3
LYSOPHOSPHATIDIC ACID RECEPTORS

Рецепторы LPA	Сигнальный путь/эффектор
LPAR1/EDG2	Gα12/13 – Rho – ROCK Gαi/o – Ras – Erk 1/2 Gαi/o – PI3K – Akt-mTOR Gαi/o – PLC – CREB и GSK3 Gαq/11 – PLC – CREB и GSK3
LPAR2/EDG4	Gα12/13 – Rho – ROCK Gαi/o – Ras – Erk 1/2 Gαi/o – PI3K – Akt-mTOR Gαi/o – PLC – CREB и GSK3 Gαq/11 – PLC – CREB и GSK3
LPAR3/EDG7	Gαq/11 – PLC – CREB и GSK3 Gαi/o – Ras – Erk 1/2 Gαi/o – PI3K – Akt-mTOR Gαi/o – PLC – CREB и GSK3
LPAR4 (P2RY9, GPR23)	Gα12/13 – Rho – ROCK Gαq/11 – PLC – CREB и GSK3 Gαi/o – Ras – Erk 1/2 Gαi/o – PI3K – Akt-mTOR Gαi/o – PLC – CREB и GSK3 Gαs – AC – RKA
LPAR5 (GPR92)	Gα12/13 – Rho – ROCK Gαq/11 – PLC – CREB и GSK3 Gαs – AC – RKA
LPAR6 (P2RY5, GPR87)	Gα12/13 – Rho – ROCK Gαi/o – Ras – Erk 1/2 Gαi/o – PI3K – Akt-mTOR Gαi/o – PLC – CREB и GSK3 Gαs – AC – RKA
P2RY10	–
TRPV1	Прямое взаимодействие с K710 на конце COOH
TRPA1	LPAR5-PLD Прямое взаимодействие с внутриклеточными KK672–673 и KR977–978
TRPM2	LPAR1-Gαi/o-MAP kinases-PARP-1-ADP-ribose

ный путь ROCK (Rho/Rho-associated protein kinase); Gαq/11 активирует фосфолипазу C (PLC, phospholipase C) и далее, по нижестоящим каскадам, – GSK3 (glycogen synthase kinase 3) и CREB; Gαi/o активирует пути PLC – CREB и GSK3, а также стимулирует киназы, регулируемые внеклеточным сигналом 1/2 (ERK1/2), Akt/фосфоинозитид-3-киназы (PI3K, PI3-kinase) и ингибирует продукцию циклического аденозинмонофосфата (цАМФ); GαS модулирует активность аденилатциклазы и протеинкиназы A (PKA, protein kinase A), активируя сигнальный путь цАМФ [25].

Центральное место в эффектах LPA занимает её способность модулировать активный цитоскелет посредством активации малых ГТФаз Ras через Gαi/o (стимуляция внеклеточных сигналов Erk1/2) и Rho через Gα12/13 (стимуляция ROCK) [26]. Эти рецепторы передают сигнал через MAPK, PLC и тирозинкиназы и инициируют синтез ряда транскрипционных факторов, взаимодействующих с участками ДНК и инициирующих пролиферацию, миграцию клеток или межклеточные взаимодействия.

LPA опосредует множество функций через LPARs, в частности мобилизацию Ca²⁺, выживание, пролиферацию, адгезию, миграцию клеток, иммунную функцию, за счёт снижения продукции хемокинов и ингибирования миграции клеток, миелинизацию [2].

TRP-каналы

Как упоминалось выше, лизофосфотидная кислота активно взаимодействует с TRP-каналами, которые играют эссенциальную роль в сенсорной физиологии (обоняние, вкус, зрение, осязание, термоощущение, осмоощущение), патофизиологии боли и воспаления, а также выполняют роль сигнальных проводников в клетках [27–29]. Функция этих каналов заключается в изменении потенциала клеточной мембраны и колебаниях внутриклеточной концентрации свободного кальция [Ca²⁺]_i в ответ на стимулирующие влияния внешней среды [30]. TRP-каналы объединяют TRPC (канонические), TRPV (ванилоидные), TRPM (меластатиновые), TRPA (анкириновые), TRPML (муколипиновые), TRPP (полицистиновые) рецепторы [28–33]. TRPA1, TRPV1, TRPV2, TRPV4, TRPM3 и TRPM8 представляют собой термосенсорные TRP-каналы, которые активируются при изменении температуры, в частности температуры окружающей среды [27, 32]. TRPV активируются теплом, TRPA1 и TRPM8 – холодом [33, 34].

TRP-каналы экспрессируются в нейрональных клетках, а также в клетках респираторного тракта [14, 27]. На сегодняшний день установлено, что LPA способна прямо или косвенно активировать TRPM2, TRPV1 и TRPA1 [3, 35]. Так, косвенным путем активируются TRPM2 и TRPA1. Внеклеточное повышение LPA активирует LPAR5, фосфолипазу D (PLD, phospholipase D), приводящие к увеличению уровня внутриклеточной LPA и активации TRPA1. Активация LPAR5 через Gαi/o стимулирует PARP-1 (poly(ADP-ribose) polymerase 1), ADP-ribose и TRPM2. Напрямую активируются TRPA1 и TRPV1 [3, 35].

Таким образом, литературные данные демонстрируют, что LPA реализует свой механизм действия посредством взаимодействия с LPARs и TRP-каналами, активируя ряд сигнальных путей. LPARs и TRP-каналы широко

представлены в бронхолёгочной системе, что обуславливает актуальность дальнейшего изучения эффектов LPA при БА, несмотря на то, что клинические испытания модуляторов TRP до сих пор не были успешными [14].

2. БРОНХООБСТРУКЦИЯ И TRP-КАНАЛЫ

Эпидемиологические исследования последних лет убедительно свидетельствуют о том, что сочетание высоких, низких температур и влажности воздуха сопровождается развитием бронхообструкции у больных БА [12], что опосредовано участием TRP-каналов в рецепции физико-химических стимулов внешней среды [10], в частности термосенсорных TRPA1, TRPV1, TRPV2, TRPV4, TRPM3 и TRPM8 [27, 33].

Представлены убедительные доказательства важной роли TRPA1, TRPC6, TRPM2, TRPM5, TRPM7, TRPM8, TRPV2, TRPV4 в функции дыхательных путей и патогенезе связанных с ними заболеваний [13, 15–17].

Например, С-волокна, ненейрональные клетки, клетки дыхательных путей, клетки гладкой мускулатуры, эпителиальные клетки и фибробласты экспрессируют TRPA1 [36]. Сигаретный дым, выхлопные газы автомобилей, загрязнение воздуха, активные формы кислорода, различные температурные условия входят в число известных агонистов TRPA1 [37, 38]. Активация сенсорных нервов через TRPA1 инициирует кашель, секрецию слизи, гиперреактивность дыхательных путей, воспаление и развитие бронхообструкции [15, 17, 37, 39].

Ванилоидные рецепторы (TRPV1–6) локализованы в ноцицептивных нейронах, сенсорных волокнах дыхательных путей, на клетках бронхиального эпителия, тучных клетках, макрофагах и гладкомышечных клетках дыхательных путей человека [14, 15, 28].

TRPV1 присутствует в сенсорных волокнах дыхательных путей, выстилающих трахею, бронхи и альвеолы, а также экспрессируется в эпителиальных клетках бронхов и во внутрилёгочных артериях. Взаимосвязь TRPV1 с бронхолёгочными заболеваниями продемонстрирована *in vitro* и *in vivo*. Активация TRPV1 агонистами приводит к высвобождению нейрокина А, субстанции Р и CGRP, которые способствуют сокращению гладких мышц, гиперсекреции слизи, появлению кашля и развитию астматических симптомов [13]. Важно отметить, что недавно была описана роль TRPV1, который в основном экспрессируется в нейронах, в секреции IL-33 эпителием дыхательных путей в ответ на воздействие аллергена клещей домашней пыли HDM и грибковые аллергены [14]. Бронхоспазм и астматические симптомы, развивающиеся в ответ на воздействие холодного воздуха и высокой влажности, обусловлены участием не только TRPV1, но и TRPV2 и TRPV4 в осморепреции [16, 40]. TRPV1 и TRPV4, по-видимому, вносят наиболее существенный вклад в развитие и обострение БА [18].

Каналы TRPA1 часто действуют согласованно с TRPV1 [41]. Эти данные свидетельствуют о том, что взаимодействие TRPA1 и TRPV1 может играть важную роль в регулировании функции и возбудимости сенсорных нейронов

лёгких во время воспаления дыхательных путей. TRPV1 также может олигомеризоваться с другими субъединицами семейства TRP, включая TRPV3 [41].

TRPV1–4 являются каналами, демонстрирующими преобладание поступления Ca^{2+} над притоком Na^{+} , при этом TRPV5 и TRPV6 являются проницаемыми только для Ca^{2+} каналами [18]. В обзоре J.H. Nam и W.K. Kim обсуждаются взаимоотношения TRP-каналов и иммунных клеток, вовлечённых в патогенез аллергических заболеваний, а также терапевтические средства, нацеленные на данные каналы [30]. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} вызывает высвобождение гистамина, анафилактического фактора хемотаксиса эозинофилов и нейтрофилов из тучных клеток и приводит к сокращению мускулатуры бронхов. Эта внутриклеточная передача сигналов Ca^{2+} обеспечивается TRP-каналами, присутствующими почти во всех типах иммунных клеток, в частности тучных клеток, Т- и В-клеток, вовлечённых в патогенез аллергического воспаления, характерного для аллергической БА [30].

3. ЛИЗОФОСФАТИДНАЯ КИСЛОТА, LPARS И TRP-КАНАЛЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХООБСТРУКЦИИ

Синтез LPA усиливается при воспалении, в частности, локализованном в бронхолёгочной системе [5, 42–46]. Исследования *in vitro* показали, что LPA активирует эозинофилы, лимфоциты, тучные, дендритные, эпителиальные и гладкомышечные клетки дыхательных путей.

Продemonстрировано, что уровни LPA значительно повышены в БАЛ пациентов с БА [5]. Интересно, что LPA определена как регулятор эпителиально-мезенхимального перехода, вовлечённого в превращение фибробластов в миофибробласты и развитие ремоделирования дыхательных путей [47].

Функции LPA в бронхолёгочной системе обусловлены её реакциями с LPAR [2, 5, 46] и TRP-каналами [4, 8]. Как упоминалось выше, центральное место в эффектах LPA занимает её способность активировать малые ГТФазы Ras (стимуляция Erk1/2) и Rho-киназы через Gα12/13 (стимуляция ROCK) [26].

Известно, что Rho-киназа сигнального пути ROCK играет ключевую роль в поддержании выраженности мышечных сокращений при активации гладких мышц. Ингибирование Rho-киназы в настоящее время изучается как составляющая комбинированного лечения бронхообструкции при БА [48]. Соответственно, сигнальный путь LPA – LPARs – ROCK нуждается в пристальном изучении.

LPA через LPAR1–3 активирует киназы p38 MAPK и JNK и индуцирует продукцию IL-8, усиливающего воспаление и способствующего ремоделированию дыхательных путей при БА [5]. Эти данные свидетельствуют о том, что LPA играет важную роль в аллергическом воспалении дыхательных путей и что блокада LPAR может иметь терапевтический потенциал при БА [5].

LPA способна активировать TRPA1, TRPM2 и TRPV1 [3, 17]. В настоящее время лишь единичные работы посвя-

щены вопросам взаимодействия LPA и TRPA1 при различных патологиях [9]. TRPM2 экспрессируются в эндотелии лёгких и участвуют в регуляции барьерной функции, гибели, миграции клеток и ангиогенезе [16]. Несмотря на то, что LPA способна активировать TRPM2 [3], вопросы их взаимодействия при БА не изучены [17].

Недавно было описано, что LPA может активировать TRPV1 [3, 19]. M. Benítez-Angeles и соавт. сообщили, что LPA напрямую взаимодействует с TRPV1 через остаток K710 в С-конце TRPV1 [19].

Интересно, что LPA вовлечена в патогенез бронхообструкции через взаимодействие с LPAR и TRPV1 [3, 4]. Серия работ N.G. Jendzjowsky и соавт. была посвящена изучению роли каротидных тельцев в возникновении бронхообструкции [3]. Каротидные тельца реагируют на изменения парциального давления кислорода, углекислого газа, pH, температуры, а также демонстрируют способность реагировать в ответ на бактериальную инфекцию [49] и воздействие аллергенов [3]. N.G. Jendzjowsky и соавт. показали, что увеличение LPA в крови, вызванное воздействием аллергена, активирует каротидные тельца и вызывает бронхообструкцию через LPAR и TRPV1 [3]. Этот сигнальный путь включает PKCε (protein kinase C epsilon), связывающий LPAR1 и TRPV1 между собой. В своих последних работах N.G. Jendzjowsky и соавт. также показали, что повторные воздействия аллергена повышают чувствительность каротидных тельцев к LPA из-за гиперэкспрессии LPAR в каротидных тельцах. Эти экспериментальные данные демонстрируют способность аллергенов сенсibilизировать каротидные тельца, подчёркивая их роль в развитии БА и вовлечённость пути LPAR1 – PKCε – TRPV1 в патогенез астматических реакций [3]. Стоит отметить, что этот механизм ещё не подтверждён в организме человека.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о терапевтическом потенциале LPA, TRP-каналов и LPAR, которые играют определённую роль в развитии воспаления дыхательных путей и бронхоспазма при БА.

4. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ LPA

Антагонисты LPAR

LPA как мощная сигнальная молекула влияет на многочисленные физиологические и патологические процессы, поэтому управление передачей сигналов LPA вызывает растущий фармакотерапевтический интерес в мире [20]. Действие LPA опосредовано активацией нескольких типов молекулярных мишеней, включая LPAR1–6, на которые сегодня направлено большинство методов разработки лекарственных препаратов при широком спектре патологий [20]. Однако передача сигналов LPA через её рецепторы также связана с развитием патологических реакций, которые включают, например, стимуляцию фиброза или развитие атерогенеза, что необходимо учитывать при разработке лекарственных препаратов [20, 21].

В блестящем обзоре S. Llona-Minguez и соавт. обобщены результаты 30-летних исследований, проведённых

в фармацевтической промышленности в отношении LPA и её рецепторов [50]. Авторы обзора отмечают, что антагонисты LPAR1 и LPAR1/LPAR3 привлекли наибольшее внимание для разработок фармацевтической промышленности (компания Kirin Ki16425). Из двух потенциальных молекул-антагонистов LPAR (BMS-986020 для лечения идиопатического лёгочного фиброза и SAR-100842 для лечения системного склероза) изучение SAR-100842 было прекращено [6]. S. Llona-Minguez и соавт. также анализируют ряд проблем, касающихся разработок: например, отсутствие сильнейших и селективных низкомолекулярных агонистов LPAR3 и LPAR5, антагонистов LPAR4 и отсутствие модуляторов LPAR6 [50]. Авторы также выделили широкий спектр состояний, при которых могут быть эффективны селективные модуляторы LPA (фиброз, тромбоз, метастазирование рака, заболевания мочевыводящих путей и ряд других), в то же время подчёркивая существование неотъемлемого риска побочных эффектов и необходимости разработки новых модуляторов LPA с учётом их селективности. Также S. Llona-Minguez и соавт. подчёркивают необходимость детализации структуры рецепторов LPA и разработки дизайна новых лекарств на этой основе [50].

Y.J. Lee и соавт. указывают на перспективность разработки антагонистов LPAR2 для лечения БА [51]. Авторы данного исследования сравнивали эффекты антагониста (H2L5186303) и агониста (GRI977143) LPAR2 в экспериментальном протоколе аллергической БА, вызванной овальбумином (OVA). H2L5186303 продемонстрировал снижение гиперреактивности дыхательных путей, снижение уровней воспалительных цитокинов, продукции муцина и количества эозинофилов. Авторы данного исследования предполагают, что разработка антагонистов LPAR2 позволит достичь большей терапевтической эффективности при БА в сравнении с действием агонистов при данной патологии [51].

M. Kondo и соавт. на модели аллергической БА также продемонстрировали, что введение антагониста LPAR2 (H2L5186303) эффективно подавляло аллергическое воспаление [5]. Авторы показали, что увеличение продукции IL-13 за счёт стимуляции LPA ингибировалось лечением антагонистами LPAR2. Авторы данного исследования также продемонстрировали, что LPA усугубляет аллергическое воспаление бронхов, способствуя дифференцировке Th2 и продукции IL-33, в то время как антагонист LPAR2 контролирует выработку IL-33. Согласно заключению M. Kondo и соавт., блокада LPAR2 может быть эффективной терапевтической стратегией при БА [5].

N.G. Jendzjowsky и соавт. продемонстрировали, что введение антагониста рецепторов LPA (BrP-LPA) эффективно блокирует бронхоконстрикцию в эксперименте [3].

Лекарственные препараты, ингибирующие синтез или усиливающие деградацию LPA

В настоящее время существует множество терапевтических препаратов, которые ингибируют синтез LPA влияя на снижение активности аутоксина или усиление деградации LPA [43, 51–53].

На сегодняшний день достаточно данных, подтверждающих, что ось ATX-LPA вовлечена в процессы иницирования и метастазирования рака, развитие атеросклероза, ожирения, артрита, глаукомы, острой и хронической печёночной недостаточности, фиброза печени, почек и лёгких и многих других заболеваний и патологических состояний [21, 23, 44, 54, 55]. Некоторые исследователи продолжают поддерживать и развивать идею о том, что данная ось играет важную роль в развитии воспаления дыхательных путей [21], в частности при БА [5, 45]. Например, роль оси ATX-LPA в развитии лёгких, их функционировании в норме и патологии блестяще обобщена в недавней работе S. Zulfikar и соавт. [21].

Одним из возможных методов воздействия на сигнальный путь LPA является ингибирование ATX [45, 52, 56, 57]. Ингибиторы ATX могут быть эффективны для лечения хронического воспаления [44, 52, 58]. Новые производные имидазо[1,2-а]пиридина рассматриваются в качестве мощных аллостерических ингибиторов ATX. Их многообещающая антифибротическая эффективность была продемонстрирована на модели лёгких мышей [59]. J.W. Cuozzo и соавт. в экспериментальных условиях установлено ингибирование продукции LPA посредством взаимодействия compound 1 (X-165) с аутоаксином. Данное соединение также продемонстрировало эффективность на мышинной модели фиброза [53].

Можно предположить, что ATX является относительно безопасной терапевтической мишенью, однако на сегодняшний день сведений о его безопасности для человека недостаточно [45]. В настоящее время нет ингибиторов ATX, одобренных Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA, Food and Drug Administration), при этом только два препарата проходят клинические испытания – BBT-877 и BLD-0409 [52]. Исследователи ингибиторов ATX сходятся во мнении, что необходима оптимизация их кинетических свойств, а также разработка ингибиторов, имеющих множественные мишени. Например, при заболеваниях, опосредованных LPA, мишенями могут служить ATX, PLA и PPAR [52].

Антагонисты рецепторов TRPV

Как упоминалось выше, LPA способна активировать TRP-каналы (TRPA1, TRPM2 и TRPV1), некоторые из них вовлечены в патогенез бронхообструкции [3]. Эти экспериментальные данные демонстрируют способность аллергенов сенсibilизировать каротидные тельца и активировать путь LPAR1 – PKCε – TRPV1, играющий важную роль в патогенезе астматических реакций. Учитывая, что введение антагониста рецепторов TRPV1 (AMG9810) блокирует развитие бронхообструкции, ваннилоидные рецепторы могут являться важной мишенью для терапии БА [3].

Таким образом, в настоящее время существует ряд антагонистов LPAR, ингибиторов синтеза LPA и препаратов, усиливающих деградацию LPA, которые эффективны при БА. Кроме того, появились данные, свидетельствующие о перспективности применения антагонистов рецепторов TRPV1 для купирования бронхообструкции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

LPA контролирует многие физиологические процессы в клетке и является одним из медиаторов, экспрессия которых усиливается при воспалении, локализованном в бронхолегочной системе. Установлено, что рецепторы LPA активируются рядом нижестоящих сигнальных путей посредством взаимодействия с LPARs, ядерными рецепторами и TRP-каналами. Несмотря на то, что LPARs являются мощными активаторами сигнальных путей, изучение TRP-каналов также заслуживает пристального внимания, так как они вовлечены в патогенез бронхиальной обструкции.

Как видно из представленных литературных данных, некоторые антагонисты ATX и LPA снижают воспаление и гиперреактивность дыхательных путей, лежащие в основе патогенеза БА. Ряд исследований также указывают на перспективность разработки антагонистов рецепторов LPA (в частности LPAR2) для лечения БА. Кроме того, появились данные, свидетельствующие о перспективности антагонистов рецепторов TRPV1 для купирования бронхообструкции. Недавние результаты исследований также указывают, что LPA вовлечена в патогенез бронхообструкции через взаимодействие с LPAR и TRPV1, что открывает интересные перспективы для разработки ингибиторов, имеющих множественные мишени. Действительно, ряд исследователей подчёркивают необходимость не только оптимизации кинетических свойств ингибиторов ATX, но и разработки ингибиторов с множественными мишенями их действия. Например, при заболеваниях, опосредованных LPA, множественными мишенями могут служить ATX, PLA и PPAR. Базируясь на проанализированных нами литературных источниках, также можно предположить, что такими множественными мишенями для разработки ингибиторов LPA могут служить LPAR и TRP-каналы, что позволит эффективно влиять на основные звенья патогенеза бронхообструкции. Целью настоящего обзора было привлечение исследовательского внимания к данному направлению, которое, несомненно, требует дальнейшего изучения.

Финансирование

Исследование проводилось за счёт средств федерального бюджета в рамках государственного задания Фонда научных исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kano K, Aoki J, Hla T. Lysophospholipid mediators in health and disease. *Annu Rev Pathol.* 2022; 17: 459-483. doi: 10.1146/annurev-pathol-050420-025929
2. Xiang H, Lu Y, Shao M, Wu T. Lysophosphatidic acid receptors: Biochemical and clinical implications in different diseases. *J Cancer.* 2020; 11(12): 3519-3535. doi: 10.7150/jca.41841

3. Jendzjowsky NG, Roy A, Wilson RJA. Asthmatic allergen inhalation sensitises carotid bodies to lysophosphatidic acid. *J Neuroinflammation.* 2021; 18(1): 191. doi: 10.1186/s12974-021-02241-9
4. Jendzjowsky NG, Roy A, Iftinca M, Barioni NO, Kelly MM, Herrington BA, et al. PKC ϵ stimulation of TRPV1 orchestrates carotid body responses to asthmakines. *J Physiol.* 2021; 599(4): 1335-1354. doi: 10.1113/JP280749
5. Kondo M, Tezuka T, Ogawa H, Koyama K, Bando H, Azuma M, et al. Lysophosphatidic acid regulates the differentiation of Th2 cells and its antagonist suppresses allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2021; 182: 1-13. doi: 10.1159/000509804
6. Meduri B, Pujar GV, Durai Ananda Kumar T, Akshatha HS, Sethu AK, Singh M, et al. Lysophosphatidic acid (LPA) receptor modulators: Structural features and recent development. *Eur J Med Chem.* 2021; 222: 113574. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113574
7. Zhao J, Zhao Y. Lysophospholipids in lung inflammatory diseases. *Adv Exp Med Biol.* 2021; 1303: 373-391. doi: 10.1007/978-3-030-63046-1_20
8. Hernández-Araiza I, Morales-Lázaro SL, Canul-Sánchez JA, Islas LD, Rosenbaum T. Role of lysophosphatidic acid in ion channel function and disease. *J Neurophysiol.* 2018; 120(3): 1198-1211. doi: 10.1152/jn.00226.2018
9. Langedijk J, Araya EI, Barroso AR, Tolenaars D, Nazaré M, Belabed H, et al. An LPAR5 –antagonist that reduces nociception and increases pruriception. *Front Pain Res (Lausanne).* 2022; 3: 963174. doi: 10.3389/fpain.2022.963174
10. Kytikova OY, Novgorodtseva TP, Denisenko YK, Naumov DE, Gvozdenko TA, Perelman JM. Thermosensory transient receptor potential ion channels and asthma. *Biomedicines.* 2021; 9(7): 816. doi: 10.3390/biomedicines9070816
11. Jordt SE. TRPA1: An asthma target with a zing. *J Exp Med.* 2021; 218(4): e20202507. doi: 10.1084/jem.20202507
12. Deng L, Ma P, Wu Y, Ma Y, Yang X, Li Y, et al. High and low temperatures aggravate airway inflammation of asthma: Evidence in a mouse model. *Environ Pollut.* 2020; 256: 113433. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113433
13. Long L, Yao H, Tian J, Luo W, Yu X, Yi F, et al. Heterogeneity of cough hypersensitivity mediated by TRPV1 and TRPA1 in patients with chronic refractory cough. *Respir Res.* 2020; 20: 112. doi: 10.1186/s12931-019-1077-z
14. Müller I, Alt P, Rajan S, Schaller L, Geiger F, Dietrich A. Transient receptor potential (TRP) channels in airway toxicity and disease: An update. *Cells.* 2022; 11(18): 2907. doi: 10.3390/cells11182907
15. Li M, Fan X, Ji L, Fan Y, Xu L. Exacerbating effects of trimellitic anhydride in ovalbumin-induced asthmatic mice and the gene and protein expressions of TRPA1, TRPV1, TRPV2 in lung tissue. *Int Immunopharmacol.* 2019; 69: 159-168. doi: 10.1016/j.intimp.2019.01.038
16. Wang C, Meng X, Meng M, Shi M, Sun W, Li X, et al. Oxidative stress activates the TRPM2-Ca²⁺-NLRP3 axis to promote PM2.5-induced lung injury of mice. *Biomed Pharmacother.* 2020; 130: 110481. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110481
17. Rouadi PW, Idriss SA, Bousquet J, Laidlaw TM, Azar CR, Sulaiman Al-Ahmad M, et al. WAO-ARIA consensus on chronic cough – Part 1: Role of TRP channels in neurogenic inflammation of cough neuronal pathways. *World Allergy Organ J.* 2021; 14(12): 100617. doi: 10.1016/j.waojou.2021.100617
18. Reyes-García J, Carbajal-García A, Montaña LM. Transient receptor potential cation channel subfamily V (TRPV) and its impor-

tance in asthma. *Eur J Pharmacol.* 2022; 915: 174692. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174692

19. Benítez-Angeles M, Morales-Lázaro SL, Juárez-González E, Rosenbaum T. TRPV1: Structure, endogenous agonists, and mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(10): 3421. doi: 10.3390/ijms21103421

20. Tigyi GL, Johnson LR, Lee SC, Norman DD, Szabo E, Balogh A, et al. Lysophosphatidic acid type 2 receptor agonists in targeted drug development offer broad therapeutic potential. *J Lipid Res.* 2019; 60(3): 464-474. doi: 10.1194/jlr.S091744

21. Zulfikar S, Mulholland S, Adamali H, Barratt SL. Inhibitors of the autotaxin-lysophosphatidic acid axis and their potential in the treatment of interstitial lung disease: Current perspectives. *Clin Pharmacol.* 2020; 12: 97-108. doi: 10.2147/CPAA.S228362

22. Yaginuma S, Kawana H, Aoki J. Current knowledge on mammalian phospholipase A1, brief history, structures, biochemical and pathophysiological roles. *Molecules.* 2022; 27(8): 2487. doi: 10.3390/molecules27082487

23. Panagopoulou M, Fanidis D, Aidinis V, Chatzaki E. ENPP2 methylation in health and cancer. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(21): 11958. doi: 10.3390/ijms222111958

24. Joshi L, Plastira I, Bernhart E, Reicher H, Triebl A, Köfeler HC, et al. Inhibition of autotaxin and lysophosphatidic acid receptor 5 attenuates neuroinflammation in LPS-activated BV-2 microglia and a mouse endotoxemia model. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(16): 8519. doi: 10.3390/ijms22168519

25. Liu S, Paknejad N, Zhu L, Kihara Y, Ray M, Chun J, et al. Differential activation mechanisms of lipid GPCRs by lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate. *Nat Commun.* 2022; 13(1): 731. doi: 10.1038/s41467-022-28417-2

26. Tran KC, Zhao J. Lysophosphatidic acid regulates Rho family of GTPases in lungs. *Cell Biochem Biophys.* 2021; 79(3): 493-496. doi: 10.1007/s12013-021-00993-y

27. Gu Q, Lee LY. TRP channels in airway sensory nerves. *Neurosci Lett.* 2021; 748: 135719. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135719

28. Yelshanskaya MV, Sobolevsky AI. Ligand-binding sites in vanilloid-subtype TRP channels. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 900623. doi: 10.3389/fphar.2022.900623

29. Wang H, Cheng X, Tian J, Xiao Y, Tian T, Xu F, et al. TRPC channels: Structure, function, regulation and recent advances in small molecular probes. *Pharmacol Ther.* 2020; 209: 107497. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107497

30. Nam JH, Kim WK. The role of TRP channels in allergic inflammation and its clinical relevance. *Curr Med Chem.* 2020; 27(9): 1446-1468. doi: 10.2174/0929867326666181126113015

31. Fine M, Li X. A structural overview of TRPML1 and the TRPML family. *Handb Exp Pharmacol.* 2023; 278: 181-198. doi: 10.1007/164_2022_602

32. Nadezhdin KD, Neuberger A, Trofimov YA, Krylov NA, Sinica V, Kupko N, et al. Structural mechanism of heat-induced opening of a temperature-sensitive TRP channel. *Nat Struct Mol Biol.* 2021; 28(7): 564-572. doi: 10.1038/s41594-021-00615-4

33. Thapa D, Valente JS, Barrett B, Smith MJ, Argunhan F, Lee SY, et al. Dysfunctional TRPM8 signalling in the vascular response to environmental cold in ageing. *Elife.* 2021; 10: e70153. doi: 10.7554/eLife.70153

34. Islas LD. Closing in on the heat-activation mechanisms of TRPV channels. *J Physiol.* 2021; 599(21): 4733-4734. doi: 10.1113/JP282347

35. Phan TX, Ton HT, Gulyás H, Pórszász R, Tóth A, Russo R, et al. TRPV1 expressed throughout the arterial circulation regulates vasoconstriction and blood pressure. *J Physiol.* 2020; 598(24): 5639-5659. doi: 10.1113/JP279909

36. Balestrini A, Joseph V, Dourado M, Reese RM, Shields SD, Rougé L, et al. A TRPA1 inhibitor suppresses neurogenic inflammation and airway contraction for asthma treatment. *J Exp Med.* 2021; 218: e20201637. doi: 10.1084/jem.20201637

37. Rapp E, Lu Z, Sun L, Serna SN, Almestica-Roberts M, Burrell KL, et al. Mechanisms and consequences of variable TRPA1 expression by airway epithelial cells: Effects of TRPV1 genotype and environmental agonists on cellular responses to pollutants *in vitro* and asthma. *Environ Health Perspect.* 2023; 131(2): 27009. doi: 10.1289/EHP11076

38. Talavera K, Startek JB, Alvarez-Collazo J, Boonen B, Alpizar YA, Sanchez A, et al. Mammalian transient receptor potential TRPA1 channels: From structure to disease. *Physiol Rev.* 2020; 100(2): 725-803. doi: 10.1152/physrev.00005.2019

39. Reese RM, Dourado M, Anderson K, Warming S, Stark KL, Balestrini A, et al. Behavioral characterization of a CRISPR-generated TRPA1 knockout rat in models of pain; itch; and asthma. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 979. doi: 10.1038/s41598-020-57936-5

40. Jentsch Matias de Oliveira JR, Amorim MA, André E. The role of TRPA1 and TRPV4 channels in bronchoconstriction and plasma extravasation in airways of rats treated with captopril. *Pulm Pharmacol Ther.* 2020; 65: 102004. doi: 10.1016/j.pupt.2021.102004

41. Lee LY, Hsu CC, Lin YJ, Lin RL, Khosravi M. Interaction between TRPA1 and TRPV1: synergy on pulmonary sensory nerves. *Pulm Pharmacol Ther.* 2015; 35: 87-93. doi: 10.1016/j.pupt.2015.08.003

42. Riemma MA, Cerqua I, Romano B, Irollo E, Bertolino A, Camerlingo R, et al. Sphingosine-1-phosphate/TGF- β axis drives epithelial mesenchymal transition in asthma-like disease. *Br J Pharmacol.* 2022; 179(8): 1753-1768. doi: 10.1111/bph.15754

43. Corte TJ, Lancaster L, Swigris JJ, Maher TM, Goldin JG, Palmer SM, et al. Phase 2 trial design of BMS-986278, a lysophosphatidic acid receptor 1 (LPA1) antagonist, in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) or progressive fibrotic interstitial lung disease (PF-ILD). *BMJ Open Respir Res.* 2021; 8(1): e001026. doi: 10.1136/bmjresp-2021-001026

44. Kim SJ, Moon HG, Park GY. The roles of autotaxin/lysophosphatidic acid in immune regulation and asthma. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2020; 1865(5): 158641. doi: 10.1016/j.bbalip.2020.158641

45. Georas SN. LPA and autotaxin: Potential drug targets in asthma? *Cell Biochem Biophys.* 2021; 79(3): 445-448. doi: 10.1007/s12013-021-01023-7

46. Zhao Y, Hasse S, Vaillancourt M, Zhao C, Davis L, Boilard E, et al. Phospholipase A1 member A activates fibroblast-like synoviocytes through the autotaxin-lysophosphatidic acid receptor axis. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(23): 12685. doi: 10.3390/ijms222312685

47. Di Lollo V, Cenciello A, Orsini M, Bernabò N, Ancora M, Di Federico M et al. Transcriptomic and computational analysis identified LPA metabolism, KLHL14 and KCNE3 as novel regulators of epithelial-mesenchymal transition. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 4180. doi: 10.1038/s41598-020-61017-y

48. Wang L, Chitano P, Seow CY. Mechanopharmacology of Rho-kinase antagonism in airway smooth muscle and poten-

tial new therapy for asthma. *Pharmacol Res.* 2020; 159: 104995. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104995

49. Falvey A, Duprat F, Simon T, Hugues-Ascery S, Conde SV, Glaichenhaus N, et al. Electrostimulation of the carotid sinus nerve in mice attenuates inflammation via glucocorticoid receptor on myeloid immune cells. *J Neuroinflammation.* 2020; 17(1): 368. doi: 10.1186/s12974-020-02016-8

50. Llona-Minguez S, Ghassemian A, Helleday T. Lysophosphatidic acid receptor (LPA2) modulators: The current pharmacological toolbox. *Prog Lipid Res.* 2015; 58: 51-75. doi: 10.1016/j.plipres.2015.01.004

51. Lee YJ, Im DS. Efficacy comparison of LPA2 antagonist H2L5186303 and agonist GRI977143 on ovalbumin-induced allergic asthma in BALB/c mice. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(17): 9745. doi: 10.3390/ijms23179745

52. Jia Y, Li Y, Xu XD, Tian Y, Shang H. Design and development of autotaxin inhibitors. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021; 14(11): 1203. doi: 10.3390/ph14111203

53. Cuozzo JW, Clark MA, Keefe AD, Kohlmann A, Mulvihill M, Ni H, et al. Novel autotaxin inhibitor for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: A clinical candidate discovered using DNA-encoded chemistry. *J Med Chem.* 2020; 63(14): 7840-7856. doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c00688

54. Nie C, Zhang L, Chen X, Li Y, Ha F, Li H. Autotaxin: An early warning biomarker for acute-on-chronic liver failure. *J Clin Transl Hepatol.* 2020; 8: 240. doi: 10.14218/JCTH.2020.00045

55. Alioli C, Demesmay L, Peyruchaud O, Machuca-Gayet I. Autotaxin/lysophosphatidic acid axis: From bone biology to bone disorders. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(7): 3427. doi: 10.3390/ijms23073427

56. Fukui M, Tsutsumi T, Yamamoto-Mikami A, Morito K, Takahashi N, Tanaka T, et al. Distinct contributions of two choline-producing enzymatic activities to lysophosphatidic acid production in human amniotic fluid from pregnant women in the second trimester and after parturition. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2020; 150: 106471.

57. Isshiki T, Shimizu H, Sakamoto S, Yamasaki A, Miyoshi S, Nakamura Y, et al. Serum autotaxin levels in chronic disease and acute exacerbation of fibrosing interstitial lung disease. *ERJ Open Res.* 2022; 8(2): 00683-2021. doi: 10.1183/23120541.00683-2021

58. Abdel-Magid AF. Therapeutic potential of autotaxin inhibitors in treatment of interstitial lung diseases. *ACS Med Chem Lett.* 2020; 11(11): 2075-2076. doi: 10.1021/acsmchemlett

59. Lei H, Li Z, Li T, Wu H, Yang J, Yang X, et al. Novel imidazo[1,2-a]pyridine derivatives as potent ATX allosteric inhibitors: Design, synthesis and promising *in vivo* anti-fibrotic efficacy in mice lung model. *Bioorg Chem.* 2022; 120: 105590. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.105590

Сведения об авторах

Кыткова Оксана Юрьевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, e-mail: kytikova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5018-0271>

Новгородцева Татьяна Павловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, e-mail: nauka@niivl.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6058-201X>

Денисенко Юлия Константиновна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией биомедицинских исследований, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, e-mail: karaman@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4130-8899>

Information about the authors

Oxana Yu. Kytikova – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the laboratory of Rehabilitation Treatment, Vladivostok Branch, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, e-mail: kytikova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5018-0271>

Tatyana P. Novgorodtseva – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Deputy Director for Science, Chief Research Officer at the Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, e-mail: nauka@niivl.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6058-201X>

Yulia K. Denisenko – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, e-mail: karaman@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4130-8899>

ДЕМОГРАФИЯ DEMOGRAPHY

СОЦИАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ РАССТРОЙСТВ: ОПЫТ СОЦИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Антонова Н.Л.,
Нагноенко Д.В.

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

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

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Усложняющаяся структура современного общества и системные изменения, связанные с процессами цифровизации и медиатизации, актуализируют вопрос о здоровьесбережении молодого поколения, которое является наиболее восприимчивой и уязвимой к воздействиям внешней среды группой.

Цель исследования. На основе опросных данных осуществить анализ социальных факторов, влияющих на формирование у девушек расстройств пищевого поведения.

Материалы и методы. Методом сбора информации стал онлайн-опрос девушек от 18 до 25 лет, проведённый в Екатеринбурге весной 2023 г. ($n = 205$). С использованием глубинных интервью было опрошено 8 девушек для уточнения социальных факторов формирования отклонений в пищевом поведении.

Результаты. В оценках девушек искажённое восприятие тела, страх набора веса, а также орторексия являются признаками пищевых расстройств. Социальными факторами, влияющими на формирование идеального образа тела и расстройств пищевого поведения, выступают социальные медиа, контактный круг, а также внешняя среда, которая вызывает психологическое и физическое напряжение. Несмотря на негативное восприятие контента сообществ, пропагандирующих анорексичное тело, девушки прекрасно осведомлены о публикуемых материалах. Основным инструментом достижения эталонного образца телесности девушки выступают диетарные практики, ограничения в еде и подсчёт калорий, несмотря на признание негативных последствий их использования.

Заключение. Пищевое поведение для девушек выступает одним из ведущих инструментов достижения идеального тела, представления о котором формируют сегодня социальные медиа, а также ближайшее социальное окружение, в том числе противоположного пола. Сообщества в социальных сетях могут служить источником становления девиантных пищевых установок, с одной стороны, и реальной движущей силой в оказании помощи и поддержки молодёжи с признаками расстройства пищевого поведения – с другой. Полагаем, что онлайн-консультации специалистов и развитие родительской культуры здоровьесбережения могут оказать значительное влияние на становление гармоничных здоровьеразвивающих пищевых привычек.

Ключевые слова: пищевое поведение, расстройства пищевого поведения, социальные факторы, социальные медиа, контактный круг, идеальное женское тело, молодёжь

Статья поступила: 21.11.2023
Статья принята: 28.02.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Антонова Н.Л., Нагноенко Д.В. Социальные факторы формирования пищевых расстройств: опыт социологического исследования. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 23-31. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.3

SOCIAL FACTORS IN THE FORMATION OF EATING DISORDERS: EXPERIENCE OF SOCIOLOGICAL RESEARCH

Antonova N.L.,
Nagnoenko D.V.

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. The increasingly complex structure of modern society and systemic changes associated with the processes of digitalization and mediatization are raising the issue of preserving the health of the younger generation, which is the most receptive and vulnerable group to external impact.

The aim of the study. Based on survey data, to carry out an analysis of social factors influencing the development of eating disorders in girls.

Materials and methods. The method of collecting information was an online survey of girls aged 18 to 25 years old, conducted in Yekaterinburg in the spring of 2023 (n = 205). Using in-depth interviews, 8 girls were interviewed to clarify the social factors in the formation of eating disorders.

Results. In girls' assessments, distorted body image, fear of weight gain, and orthorexia are the signs of eating disorders. Social factors influencing the formation of an ideal body image and eating disorders are social media, circle of contacts, as well as the external environment, which causes psychological and physical stress. Despite the negative perception of the content of communities promoting anorexic bodies, girls are well aware of the published materials. The main tool for achieving the standard model of a girl's physicality is dietary practices, food restrictions and calorie counting, despite the recognition of the negative consequences of their use.

Conclusion. Eating behavior for girls is one of the leading tools for achieving an ideal body, ideas about which are formed today by social media, as well as the immediate social environment, including the opposite sex. Communities on social networks can serve as a source for development of deviant eating attitudes, on the one hand, and a real driving force in providing assistance and support to young people with signs of eating disorders, on the other hand. We believe that online consultations with specialists and the development of a parental culture of health protection can have a significant impact on the development of harmonious, health-protecting eating habits.

Key words: eating behavior, eating disorders, social factors, social media, circle of contacts, ideal female body, youth

Received: 21.11.2023
Accepted: 28.02.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Antonova N.L., Nagnoenko D.V. Social factors in the formation of eating disorders: Experience of sociological research. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 23-31. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.3

ВВЕДЕНИЕ

Расстройства пищевого поведения являются серьёзной и трудноразрешимой проблемой в современных системах здоровьесбережения. По данным J.F. López-Gil и соавт., общая доля детей и подростков с расстройствами пищевого поведения составляет 22,36 %, при этом девушки значительно чаще сообщают о расстройствах пищевого поведения, чем юноши [1].

Под расстройствами пищевого поведения (РПП) понимается нарушение процесса принятия пищи, выражающееся в отсутствии способности контролировать своевременный и правильный приём [2]. К основным типам расстройств пищевого поведения относят нервную анорексию, булимию, компульсивное переедание [3], которые зачастую ведут к возникновению вторичных сопутствующих заболеваний. Основными факторами формирования нервной анорексии являются искажённое восприятие своего тела и ложная интерпретация отношения окружающих – дисморфобия [4], которая развивается в подростковом возрасте, причём чаще всего у девушек [5]. У больных анорексией и булимией наблюдаются депрессивные эпизоды [6], при этом течение заболеваний – многолетнее/хроническое с возможными ремиссиями [7]. Что касается компульсивного переедания, то избыточное потребление пищи связано с желанием снизить эмоциональное напряжение [8].

Выступая одним из сложных биопсихосоциальных феноменов человеческой жизни, становление рутинизированных повседневных практик пищевого поведения начинается с раннего возраста и происходит под влиянием широкого круга институтов и агентов. Так, родители – агенты первичной социализации – оказывают большое влияние на формирование пищевых привычек детей как через собственные пищевые установки, так и посредством контроля над питанием ребёнка, который реализуется с позиций ограничения «вредной пищи» в целом и принуждения употреблять исключительно здоровые продукты [9]. Это может сформировать установку принимать пищу «про запас» при отсутствии чувства голода. Сверстники, включённые в контактный круг, также оказывают давление: насмешки со стороны ровесников становятся причиной неудовлетворённости телом и желания его изменить посредством ограничения потребления пищи [10].

В процессе социализации пищевое поведение становится инструментом реализации разнообразных функций, приобретая знаково-символические свойства. По сути пищевое поведение маркирует социальное положение индивида и становится отражением его стиля и образа жизни, в котором ориентация на стандартизированные эталоны красоты занимает не последнее место. Немецкий исследователь Т. Fuchs утверждает, что человек, который пытается привести себя в форму, соответствующую современным стандартам, имеет нарушенный образ тела, испытывает повышенную тревожность и чувство стыда [11].

Современные медиа активно транслируют идеальные телесные образцы. Исследователи выявили, что рост расстройств пищевого поведения связан со снижением массы тела женщин в кинофильмах и журналах [12]: женщины в телепередачах и фильмах в возрасте от 21 до 39 лет чаще изображаются худыми и носят откровенную одежду, чем женщины других возрастов, а в семейных фильмах, которые идут в прайм-тайм на телевидении, женские персонажи с более крупными и тяжёлыми формами практически не представлены на экране [13]. Для молодого поколения возрастает значимость цифровых инфлюенсеров [14], которые устанавливают модели идеального тела (при этом используя специальные инструменты (ретушь, фильтры и пр.)), создавая стандарты и предлагая механизмы его конструирования, в том числе через диетарные практики.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основе опросных материалов раскрыть социальные факторы, влияющие на формирование у девушек расстройств пищевого поведения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Социологическое исследование было проведено весной 2023 г. в городе Екатеринбурге. Используя онлайн-опрос, было проведено анкетирование, в котором приняли участие 205 девушек в возрасте от 18 до 25 лет: 49,8 % опрошенных имеют высшее образование; 2/3 девушек отметили, что на момент опроса состоят в романтических отношениях с противоположным полом, а 8 % уже заключили брачный союз. Подчеркнём, что в опросе участвовали 39 респонденток с подтверждённым диагнозом из спектра расстройств пищевого поведения. Остальные девушки на скрининговый вопрос анкеты подтвердили наличие некоторых затруднений в практиках реализации здорового/гармоничного/адекватного пищевого поведения. Авторская анкета содержала 45 вопросов (закрытые, открытые, полужакрытые). Полученные материалы были обработаны с использованием программы IBM SPSS, версия 20 (IBM Corp., США). Для углубления полученных данных мы также провели 8 глубинных интервью с девушками (табл. 1), материалы которых были транскрибированы и обобщены в соответствии с целевыми установками исследования.

Исследование имело пилотный характер, и его результаты не могут быть распространены на всю совокупность российских девушек, однако демонстрируют проблемные зоны в становлении пищевого поведения молодых женщин и раскрывают социальные факторы, которые оказывают влияние на формирование отклонений в пищевом поведении. Авторы стремятся привлечь внимание специалистов-практиков и управленцев к актуальным вопросам в области охраны здоровья молодого поколения в целом и репродуктивного здоровья женской общности в частности.

ТАБЛИЦА 1
ТРАНСКРИБИРОВАННЫЕ И ОБОБЩЁННЫЕ ДАННЫЕ
ГЛУБИННЫХ ИНТЕРВЬЮ С ДЕВУШКАМИ

Код информанта	Возраст	Категория
И1	23	Работающая
И2	22	Студентка
И3	22	Студентка
И4	23	Работающая
И5	23	Работающая
И6	24	Работающая, в отпуске по беременности и родам
И7	24	Работающая
И8	23	Работающая

TABLE 1
TRANSCRIBED AND SUMMARIZED DATA FROM IN-DEPTH
INTERVIEWS WITH GIRLS

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования демонстрируют, что признаками расстройства пищевого поведения, по оценкам девушек, выступают прежде всего искажённое восприятие своего тела, страх набора веса и орторексия, то есть деление продуктов на «полезные» и «вредные» (табл. 2).

Идеальная модель тела трактуется респондентками предельно широко: от «песочных часов» (25,7 %) до анорексичного телосложения (24,9 %), при этом последнему эталону стремятся соответствовать 68,3 % опрошенных девушек. О расширении границ стандартов телесности свидетельствуют и результаты глубинных интервью: «На самом деле, сейчас, как мне кажется, стандарты всё больше «размываются» [И2]; «Сейчас скинни, героиновый шик, худоба, снова это всё возвращается в моду» [И5]; «К девушкам всегда очень много претензий. То, что, наверное, никогда не выйдет из моды, – худоба. Худое тело всегда эстетичнее смотрится» [И7]; «Ну, худышки всегда в моде. Спортивное тело тоже. То, что всегда будет в моде, – это тонкая талия, длинные ноги, эти золотые 90-60-90» [И8].

Согласно исследованиям, нарушение представлений о теле повышает риск развития расстройств пищевого поведения [15]. Среди основных повседневных практик, нацеленных на соответствие собственного тела идеальным стандартам, лидирующее положение занимает пищевое поведение. Так, 29,2 % опрошенных планируют ограничить потребление пищи, а 40,7 % из них использовали диеты и подсчёт калорий. М. Фуко считал, что в любом обществе человеческое тело подвергается дисциплине послушания и определённым манипуляциям [16]. Вместе с этим, по мнению опрошенных девушек, пищевые ограничительные дисциплинарные практики, нацеленные на формирование идеального телесного образца, ведут к негативным последствиям как для физического, так и для психического здоровья (84,1 %). Наиболее частыми являются срывы после диет, страх перед набором веса, навязчивые мысли о еде, ухудшение психического здоровья (рис. 1).

В нашем опросе мы обратились к респонденткам с просьбой оценить факторы, которые оказывают влияние на представления об идеальном теле и моделях пищевого поведения как инструмента достижения соответствия эталонным образцам телесности. Источниками формирования стереотипов об идеальном женском теле, по мнению опрошенных, выступают прежде всего социальные медиа: аккаунты медийных персон в социальных сетях (24,3 %), а также визуальные материалы (фото/видео), размещённые в сообществах (19,8 %). Согласно данным, полученным в ходе интервью, в интернет-пространстве циркулируют различные телесные образцы, которые для молодёжи становятся эталонами: «Это точно социальные сети в первую очередь» [И1]; «...группы во ВКонтакте...» [И5]; «...интернет, ...фитоняшки, модели, блогеры» [И7]. Социальные медиа сегодня являются самым мощным конвейером производства и воспроизводства культуры внешнего вида, включая тиранию стройности (в риторике И.В. Сохань [17]), восприятие тела как проекта и гендерные стереотипные идеалы тела. По оценкам информантов, «полные девушки не котируются, уже не говоря про девушек и женщин, например, с размером 50+» [И4], поскольку «в интернете есть какой-то идеал, и если ты ему не соответствуешь, то ты какая-то «не такая», т. е. сразу идёт осуждение, и приходится себя «подогнать» под стандарты» [И3], так как «возникает чувство недостойности, мы становимся недовольны своим телом и лицом, что и вызывает РПП» [И5].

Специфика современных медиа заключается в том, что индивиды не только выступают потребителями контента, но и производят социальную реальность, участвуя в обсуждениях, репостах, копирайтах. 89,8 % опрошенных девушек подтвердили, что подписаны/были подписаны на сообщества в социальной сети ВКонтакте, основная тематика которых – нездоровое похудение («40 кг», «Типичная анорексичка», «Жирная логика», «Психология анорексии», «Жирная анорексичка»). При этом 78,8 % респонденток ответили, что относятся к ним негативно.

ТАБЛИЦА 2
ПРИЗНАКИ РАССТРОЙСТВ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ,
С КОТОРЫМИ СТАЛКИВАЛИСЬ РЕСПОНДЕНТКИ
(% К ЧИСЛУ ОПРОШЕННЫХ)*

TABLE 2
SIGNS OF EATING DISORDERS EXPERIENCED BY FEMALE
RESPONDENTS (% OF RESPONDENTS)*

Признаки	%
Искажённое восприятие тела (например, чувствуете/чувствовали какую-то часть своего тела слишком толстой, думаете/думали, что похудение избавит вас от проблем)	92,7
Страх набора веса	81,0
Деление продуктов на «полезные» и «вредные» (орторекия)	80,5
Приступы заедания стресса	52,2
Прибегание к диетам, голодовкам, тренировкам, чтобы сжечь калории	47,3
Навязчивые мысли о еде, диетах, калориях, тренировках	42,4
Подсчёт калорий, жёсткие ограничения в еде	41,5
Чувство вины за съеденное, наказание себя	41,5
Постоянное взвешивание	28,8
Отсутствие контроля (за короткий промежуток времени съедаете большое количество еды)	27,3
Прибегание к очищению желудка после еды с помощью рвоты или таблеток	25,4
Стыд есть на людях	24,4
Соблюдение определённых ритуалов приёма пищи (едите/ели стоя, планируете/планировали свой срыв или переедание, сортируете/сортировали пищу по цветам, не едите/не ели определённый продукт, если не знаете/не знали сколько в нём калорий)	17,6
Постоянные срывы на определённую еду, например, шоколад, фастфуд и т. п.	17,1
Проблемы с весом (Ваш вес колеблется/колебался из-за диет; вес ниже нормы, но Вы продолжаете/продолжали худеть)	15,1
Страх или отказ от встреч, т. к. там может быть «вредная» еда и др.	13,2
Отсутствие чувства насыщения или чувства голода	7,8

Примечание. * – сумма ответов превышает 100 %, поскольку респонденткам была предоставлена возможность выбора нескольких вариантов ответа.

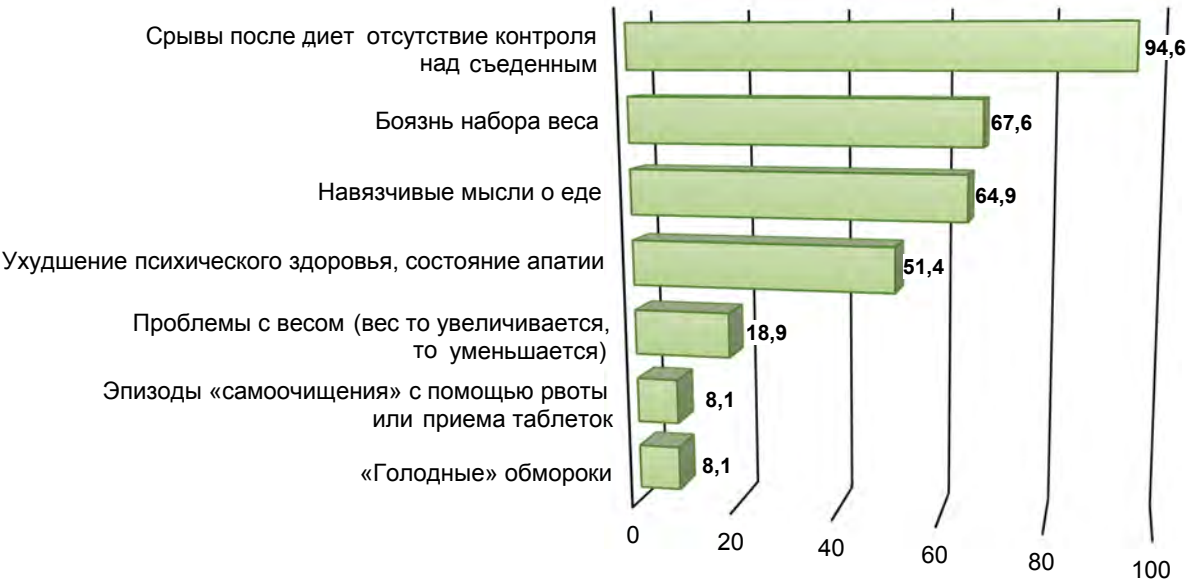


РИС. 1.
Последствия ограничений в пищевом поведении ради достижения идеальной модели тела (% к числу ответивших): сумма ответов превышает 100 %, поскольку респондентам была предоставлена возможность выбора нескольких вариантов ответа

FIG. 1.
Consequences of restricting eating behavior to achieve an ideal body model (% of respondents): the sum of the answers exceeds 100 %, since respondents were given the opportunity to choose several answers

В текстах интервью также присутствует узнавание контента, предлагаемого участниками сообществ, и негативное отношение к ним: «Мне знакомо сообщество «40 кг», все мои подруги были раньше на него подписаны. Я иногда заходила туда, просто посмотреть, но подписана не была» [И2]; «сама никогда там не состояла, но и у меня куча знакомых девочек, которые «сидели» там и от которых я слышала рассказы про эти группы. Ну, может быть, пару раз интереса ради я туда заходила» [И6]; «отношусь негативно к таким сообществам, потому что они пропагандируют нездоровую худобу, которая может нанести сильнейший вред организму. ... Особенно сейчас очень популярно же РПП среди подростков» [И4]; «они формируют неправильный типаж фигуры. ..., ..., амбассадоры худобы. ..., ..., конечно же, это заседает в голове у ребёнка или подростка. И если ты так не выглядишь, то всю оставшуюся жизнь думаешь, что с тобой что-то не так» [И5]; «мне кажется, это только делает хуже и ещё больше провоцирует болезнь; тем более, что там как будто романтизируют это все, преподносят как что-то хорошее, хотя там идёт тотальная пропаганда РПП» [И8]; «ужасные сообщества, которые нужно запрещать, несут колоссальный вред девочкам-подросткам и молодым девушкам» [И3]; «такие сообщества только усугубляют проблему... как эффект крабов в ведре, когда один хочет выбраться, на него другие залезают, а по итогу никто и не выберется. ... вообще такие группы надо запретить, потому что это ведь затягивает сильно» [И6].

В подобных сообществах часто публикуются фотографии девушек истощённых, экстремально худых, с дисбалансом пропорций. Каждая третья девушка отметила, что довольно часто видела такие фото, а 30,2 % ответили, что наблюдали данные фотографии при каждом посещении страницы сообщества.

Мы обратились к эмоциям, которые появляются у опрошенных при просмотрении подобных фотографий (табл. 3). J. Berger и K. L. Milkman выяснили, что люди более склонны к передаче эмоционально заряженной информации, которая вызвала у них либо очень позитивный отклик, либо очень негативный [18]. Наиболее часто испытываемыми эмоциями при просмотре подобного контента являются грусть, возмущение, агрессия и нервозность.

ТАБЛИЦА 3
ЭМОЦИИ, ИСПЫТЫВАЕМЫЕ ПРИ ВИДЕ ФОТОГРАФИЙ ДЕВУШЕК С НЕЗДОРОВОЙ ХУДОБОЙ*

TABLE 3

EMOTIONS EXPERIENCED WHEN SEEING PICTURES OF GIRLS WITH UNHEALTHY THINNESS*

Эмоции	Индекс	Ранг
Грусть	2,9945	I
Возмущение	2,6593	II
Агрессия	2,2418	III
Нервозность	2,1703	IV
Отвращение	1,8791	V
Вдохновение	1,5549	VI
Чувство собственного превосходства	1,5495	VII
Зависть	1,4121	VIII
Восторг	1,3297	IX

Примечание. * – оценки респондентами ставились по 5-балльной шкале, где 1 – никогда не испытывала эмоцию; 5 – всегда испытывала эмоцию. Индекс рассчитан в диапазоне от 1 до 5. Чем выше значение индекса, тем чаще девушка испытывала эмоцию.

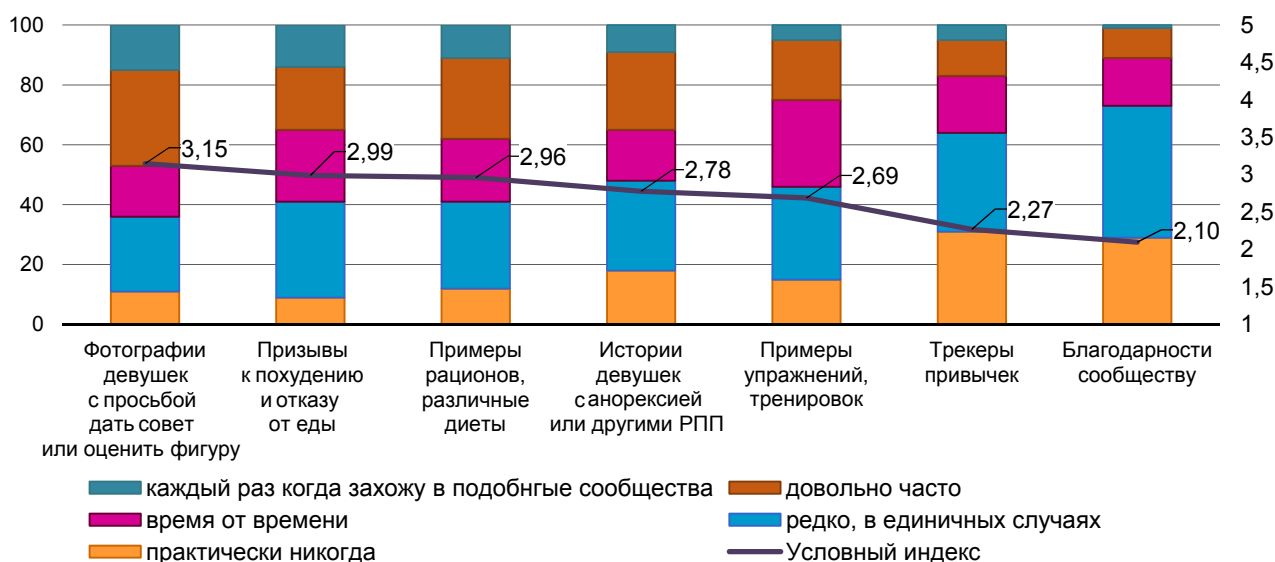


РИС. 2.

Частота и направленность просмотренного контента в сообществах с тематикой нездорового похудения: индекс рассчитан в диапазоне от 1 до 5; чем выше значение индекса, тем чаще девушка встречалась с соответствующим содержанием контента в сообществе

FIG. 2.

Frequency and focus of content viewed in communities concerning unhealthy weight loss: the index is calculated in the range from 1 to 5; the higher the index value, the more often the girl encountered the corresponding content in the community

Обращаясь к контенту, публикуемому в сообществах об РПП, опрошенные девушки отметили, что чаще всего встречали фотографии девушек, которые просят дать оценку их фигуре, призывают к похудению и отказу от еды, а также предлагают рационы питания (рис. 2).

Влияние материалов, публикуемых в сообществах, подтверждают и участницы интервью: *«там очень романтизируются болезни: все, кто там «сидит», только подливают масло в огонь. Ты видишь этих дохлых девочек с тонкими ножками и ручками каждый день, тебе плохо от этого, потому что ты хочешь так же, но у тебя не получается. И от этого ещё больше себя ненавидишь»* [И1]; *«полная романтизация болезней, какие-то шутки про РПП, хотя вообще не смешная тема. Постят фотки анорексичек и воспринимают это как идеал фигуры, ужасно же»* [И3]; *«трансляция заведомо ложного образа «правильности» фигуры или питания, это же вообще может разрушить психику человека»* [И7]; *«люди сами выбирают «сидеть» там или нет. Но лично я такое не понимаю. Мне кажется, это только делает хуже и ещё больше провоцирует болезнь»* [И8]. Считаем важным подчеркнуть, что несмотря на негативное отношение в целом к сообществам, продвигающим нездоровую худобу, опрошенные девушки, тем не менее, прекрасно осведомлены о размещаемых материалах, формирующих установку на анорексичное тело как идеальную модель и практики ограничения питания/отказа от питания как действенного инструмента достижения эталона.

Ещё одним фактором, оказывающим значительное влияние на формирование представлений девушек об идеальном образе тела и соответствующее ему пищевое поведение, выступает ближайшее окружение: одноклассники/одногоруппники (29,6 %), подруги/друзья (12,7 %) и родительская семья (12,5 %). Участницы интервью подтвердили значимую роль контактных групп в процессе становления представлений об эталоне телесности: *«...не навязывали, но как будто это неосознанно усваивается мозгом. Из каких-то разговоров в окружении, то есть напрямую никто ведь не говорит, что женщина должна быть такой/сякой, но постоянно обсуждают полных девочек»* [И4]. Особое влияние информанты отвели оценке мальчиками/юношами/мужчинами идеальных женских тел: *«В школе смеялись над полными девочками, друзья, особенно мальчики...»* [И4], *«...буллинг в школе, стереотипы общества, мнение каких-то левых парней, которые говорят, что, мол, «женщина должна быть такой-то»...»* [И1]; *«... вот некоторые мужчины считают своим долгом написать какой-нибудь девушке гадость про её фигуру»* [И3]; *«люди могут забуллить за лишний вес, особенно мужчины, ведь женщина всегда должна быть идеальной, а мужик чуть красивее обезьяны»* [И7]. Мужской шовинизм становится значимым фактором формирования девиаций в пищевом поведении. Согласно нашему онлайн-опросу, 18,5 % девушек считают, что в общественном мнении циркулирует стереотип о том, что при приёме пищи порции девушек должны быть небольшими (*«девушка должна мало есть»*), а каждая третья разделя-

ет стереотип о необходимости отказаться от питания в пользу снижения веса (*«чтобы похудеть, достаточно перестать есть»*).

Родительская семья также выступает важным агентом формирования пищевых привычек молодого поколения. В гастрономической культуре некоторых семей, например, можно наблюдать увлечение женщинами-матерями диетарными практиками, которые осуществляются без контроля со стороны врачей. Заставляя ребёнка доедать, родители побуждают его ориентироваться не на свои ощущения, а на такие факторы, как одобрение или разрешение закончить приём пищи/выйти из-за стола. В нашем исследовании мы предложили девушкам определить пищевые установки, сформированные в детском возрасте и оказывающие негативное влияние на состояние здоровья в целом. Материалы онлайн-опроса свидетельствуют, что наибольшее распространение получили такие установки, как вознаграждение сладким десертом после полного приёма пищи (*«получишь шоколадку только после того, как съешь кашу»*) (65,9 %); просмотр телевизора или контента на ноутбуке/планшете/телефоне во время приёма пищи (51,7 %); отсрочка приёма пищи, если кто-то из членов семьи задерживается (20 %); окончание трапезы только после того, как все члены семьи покушают (18,5 %).

Материалы глубинных интервью также свидетельствуют о значимой роли родительской семьи: *«лично на меня очень повлияли мама с бабушкой: меня заставляли всегда доедать, даже если я уже наелась, вот сейчас у меня как будто нет чувства насыщения, я могу есть бесконечно»* [И4]; *«...семейные установки: когда, например, запрещают сладости их же ещё сильнее хочется есть...»* [И3]; *«ну и «совковые» [«совковый» – связанный, соотносящийся с совком (в значениях «советский человек», «советская власть», «советский строй»)] установки, которые могут вбить родители: «пока всё не съешь – из-за стола не выйдешь», «конфету только после супа дам», и так далее. А ещё бабушка всегда говорила: «ты чего такая худая, ну-ка ешь давай!»* [И7].

В ходе глубинных интервью девушки обратили внимание, что внешнее воздействие может стать причиной психологического и физического напряжения (стресс/тревожность), выходом из которого становится нарушение пищевого поведения: *«...постоянные стрессы, на фоне которых происходит заедание эмоций... Из-за школы, каких-то неудач в учёбе, из-за неудавшихся отношений, из-за семейных ссор... Еда для РПП-шницы – это как лекарство от всех болезней»* [И1]; *«еда воспринимается как успокоительное»* [И3]; *«это может быть связано с хроническим стрессом, когда человек не может с ним справиться, и начинает развиваться РПП. Ведь еда – дофамин, и человек пытается заглушить стресс этим дофамином»* [И4]; *«...стресс в различных ситуациях, который побуждает заедать эмоции, или наоборот – отказываться от еды»* [И6]; *«я думаю, это заболевание (РПП) на фоне стресса «вылезает». Я слышала такую теорию на этот счёт, что когда человек не может контролировать что-то в своей жизни,*

то он начинает контролировать себя, свою еду, своё тело... фокус смещается» [И8]. Опрос также выявил, что «выходом» из стресса для 46,8 % девушек становится употребление пищи в большем объёме, а 44,4 %, наоборот, едят меньше, вплоть до полного отказа от еды. Кроме того, полученные данные показали, что девушки, которые испытывают стресс почти каждый день имеют подтверждённый диагноз из спектра расстройств пищевого поведения (31 %). Данные демонстрируют, что внешняя среда влияет на психическое и физическое состояние организма, формируя девиации в практиках потребления пищи и создавая условия для рискованного пищевого поведения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведённого исследования позволили прийти к следующим выводам. Искажённое восприятие тела, страх набора веса, а также орторексия, по оценкам девушек, выступают наиболее распространёнными признаками пищевых расстройств. При этом ключевыми социальными факторами, влияющими на их формирование, выступают стереотипы об идеальной модели женского тела, а также ближний контактный круг, включающий родственников и друзей/знакомых. Особое влияние в эпоху цифровизации на представления об эталоне красоты и способах её достижения оказывают социальные медиа, в том числе социальные сети, к которым, как показывают результаты исследования, девушки негативно относятся, но, тем не менее, вовлечены в потребление и производство контента. Чтобы соответствовать стандарту, опрошенные девушки используют диетарные практики, ограничения в еде и подсчёт калорий; при этом значительная доля опрошенных признаёт их негативные последствия (срывы после диет, боязнь снова набрать вес, навязчивые мысли о еде, ухудшение психического здоровья).

Тело сегодня становится конструкцией, встраиваемой в социокультурное пространство [19], что приводит к возникновению определённого дискурса: идеальное тело – пищевое поведение. Социальные медиа могут стать существенным ресурсом в репрезентации здорового тела и демонстрации здоровьесберегающего пищевого поведения. Полагаем, что положительные эффекты можно будет наблюдать при широком тиражировании сообществ и групп в социальных сетях по восстановлению от последствий расстройств пищевого поведения, в которых реальные люди делятся своими историями «битвы» с расстройствами пищевого поведения. Немаловажное значение имеет и экспертное мнение специалистов в области лечения подобного рода расстройств, которые в диалоговом режиме с использованием социальных медиа окажут консультативную помощь и поддержку. Особого внимания заслуживает и институт семьи, которому также необходимы профессиональные консультации, нацеленные на становление и развитие культуры пищевого поведения как взрослых членов семьи, так и подрастающего поколения.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда и 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 / REFERENCES

1. López-Gil JF, García-Hermoso A, Smith L, Firth J, Trott M, Mesas AE, et al. Global proportion of disordered eating in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2023; 177(4): 363-372. doi: 10.1001/jamapediatrics.2022.5848
2. Колесникова А.А., Семёнова А.В. Психологические причины и особенности проявления расстройств пищевого поведения в подростковом возрасте. *Педагогика: история, перспективы.* 2021; 4(4): 54-61. [Kolesnikova AA, Semyonova AV. Psychological causes and features of eating disorders in adolescents. *Pedagogy: History, Prospects.* 2021; 4(4): 54-61. (In Russ.)]. doi: 10.17748/2686-9969-2021-4-4-54-61
3. Орлова О.В. Расстройства пищевого поведения как интегративная научная проблема. *Акмеология.* 2015; 3: 214-215. [Orlova OV. Food behavior disorders as an integrative scientific problem. *Akmeologiya.* 2015; 3: 214-215. (In Russ.)].
4. Храмова Н.И., Заякин Ю.Ю., Плаксин С.А., Куркина В.А. Синдром дисморфобии/дисморфомании: литературный обзор. *Пермский медицинский журнал.* 2020; 2: 15-23. [Khramtsova NI, Zayakin YuYu, Plaksin SA, Kurkina VA. Body dysmorphic disorder (dysmorphophobia/dysmorphomania): Literature review. *Perm Medical Journal.* 2020; 2: 15-23. (In Russ.)].
5. Медведев В.П., Лоскучеряева Т.Д. Нервная анорексия и нервная булимия у детей и подростков: диагностика и лечение. *Российский семейный врач.* 2013; 17(1): 4-15. [Medvedev VP, Loskucheryavaya TD. Anorexia nervosa and bulimia nervosa in children and adolescents: Diagnostic and treatment. *Russian Family Doctor.* 2013; 17(1): 4-15. (In Russ.)].
6. Брюхин А.Е., Онегина Е.Ю. Аффективные нарушения у пациентов с нервной анорексией и нервной булимией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2011; 111(1): 21-26. [Briukhin AE, Onegina Elu. Affective disorders in patients with anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova.* 2011; 111(1): 21-26. (In Russ.)].
7. Барыльник Ю.Б., Филиппова Н.В., Деева М.А., Гусева М.А. Нервная анорексия и нервная булимия: от истории к современности. *Российский психиатрический журнал.* 2016; (3): 36-54. [Baryl'nik YuB, Filippova NV, Deeva MA, Guseva MA. Anorexia nervosa and bulimia nervosa: From history to the present. *Russian Journal of Psychiatry.* 2016; (3): 36-45. (In Russ.)].
8. Свиткевич Ю.В. Переедание как способ регуляции эмоциональной сферы людей с синдромом нервной булимии

очистительного типа. *Северо-Кавказский психологический вестник*. 2021; 9(1): 5-20. [Svitkevich JuV. Overeating as a method of emotional regulation among people with purging bulimia nervosa. *North-Caucasian Psychological Bulletin*. 2021; 9(1): 5-20. (In Russ.)]. doi: 10.21702/ncpb.2021.1

9. Дурнева М.Ю. Формирование пищевого поведения: путь от младенчества до подростка. Обзор зарубежных исследований. *Клиническая и специальная психология*. 2015; 4(3): 1-19. [Durneva MU. Development of eating behavior: The way from infancy to adolescence. Review of foreign studies. *Clinical Psychology and Special Education*. 2015; 4(3): 1-19. (In Russ.)]. doi: 10.17759/psyclin.2015040301

10. van den Berg P, Thompson JK, Obremski-Brandon K, Coover M. The tripartite influence model of body image and eating disturbance: A covariance structure modeling investigation testing the mediational role of appearance comparison. *J Psychosom Res*. 2002; 53(5): 1007-1020. doi: 10.1016/s0022-3999(02)00499-3

11. Fuchs T. The phenomenology of shame, guilt and the body in body dysmorphic disorder and depression. *J Phenomenol Psychol*. 2002; 33(2): 223-243. doi: 10.1163/15691620260622903

12. Stice E, Schupak-Neuberg E, Shaw HE, Stein RI. Relation of media exposure to eating disorder symptomatology: An examination of mediating mechanisms. *J Abnorm Psychol*. 1994; 103(4): 836-840. doi: 10.1037//0021-843x.103.4.836

13. Grabe S, Ward LM, Hyde JS. The role of the media in body image concerns among women: A meta-analysis of experimental and correlational studies. *Psychol Bull*. 2008; 134(3): 460-476. doi: 10.1037/0033-2909.134.3.460

14. Захаркин Р.А., Аргылов И.А. Инфлюенсеры как ме-
диазначимые другие: современные тренды вторичной социализации. *Власть*. 2021; 6: 27-37. [Zakharkin RA, Argylov NA. Influencers as media significant others: Modern trends of secondary socialization. *Vlast'*. 2021; 6: 27-37. (In Russ.)]. doi: 10.31171/vlast.v29i6.8674.

15. Иванов Д.В., Хохрина А.А. Образ тела у подростков с нарушениями пищевого поведения. *Вестник университета*. 2019; 6: 198-204. [Ivanov DV, Khokhrina AA. Body image among adolescents with eating disorders. *Vestnik Universiteta*. 2019; (6): 198-204. (In Russ.)]. doi: 10.26425/1816-4277-2019-6-198-204

16. Foucault M. *Discipline and punish: The birth of the prison*. London: Penguin Books; 1977.

17. Сохань И.В. Производство женской телесности в современном массовом обществе – культ худобы и тирания стройности. *Женщина в российском обществе*. 2014; 2: 68-77. [Sokhan IV. Production of female corporeality in modern mass society – the cult of thinness and the tyranny of slimness. *Woman in Russian Society*. 2014; 2: 68-77. (In Russ.)].

18. Berger J, Milkman KL. What makes online content viral? *J Market Res*. 2012. 49(2): 192-205. doi: 10.1509/jmr.10.0353

19. Антонова НЛ, Меренков АВ. Тело как проект: практики конструирования. *Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Социально-экономические науки*. 2019; 2: 8-20. [Antonova NL, Merenkov AV. Body as a project: Design practices. *PNRPU Sociology and Economics Bulletin*. 2019; 2: 8-20. (In Russ.)]. doi: 10.15593/2224-9354/2019.2.1

Сведения об авторах

Антонова Наталья Леонидовна – доктор социологических наук, профессор, профессор кафедры социологии и технологий государственного и муниципального управления, ФГАУ 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>

Нагноенко Дарья Вячеславовна – магистр социологии кафедры прикладной социологии, ФГАУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», e-mail: d.nagnoenko@mail.ru

Information about the authors

Natalya L. Antonova – Dr. Sc. (Sociol.), Professor at the Department of Sociology and Technologies of Public and Municipal Administration, 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>

Darya V. Nagnoenko – Master of Sociology at the Department of Applied Sociology, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: d.nagnoenko@mail.ru

КАРДИОЛОГИЯ CARDIOLOGY

L-АРГИНИН И АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ: КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ И КОМОРБИДНОСТЬ

Щербак В.А.,
Медведева А.С.,
Аксенова Т.А.,
Щербак Н.М.,
Аксенов К.О.

ФГБОУ ВО «Читинская
государственная медицинская академия»
Минздрава России (672000, г. Чита,
ул. Горького, 39а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Щербак Владимир Александрович,
e-mail: shcherbak2001@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Роль аргинина в развитии первичной артериальной гипертензии до настоящего времени продолжает уточняться. Во время естественных обменных процессов в клетках образуются метилированные формы аргинина – симметричный (SDMA, symmetric dimethylarginine) и асимметричный (ADMA, asymmetric dimethylarginine) диметиларгинин. ADMA является ингибитором синтазы окиси азота и в настоящее время рассматривается в качестве общепризнанного маркера эндотелиальной дисфункции. SDMA не является ингибитором синтазы окиси азота, однако может косвенно снижать продукцию окиси азота посредством конкурентного взаимодействия с клеточным L-аргином.

В настоящее время препараты аргинина практически не используются для лечения первичной артериальной гипертензии. Это явилось обоснованием данного научного обзора. Статья обобщает имеющуюся в литературе информацию (2018–2022 гг.), посвященную патогенетическим механизмам взаимосвязи аргинина с развитием нарушения сосудистого тонуса. Использованы базы данных PubMed, РИНЦ. По ключевым словам найдены 1784 публикации за последние 5 лет. Критериями окончательного отбора были временные рамки и совпадение ключевых слов. В обзоре приведены данные о повышении концентрации ADMA у экспериментальных гипертензивных животных и лиц с эссенциальной гипертензией; обсуждена роль метаболитов аргинина в генезе эндотелиальной дисфункции и артериальной гипертензии и перспективы терапевтического использования данного соединения.

Ключевые слова: первичная артериальная гипертензия, аргинин, симметричный диметиларгинин, асимметричный диметиларгинин, цитруллин, оксид азота, синтаза оксида азота, коморбидность

Статья поступила: 01.03.2023
Статья принята: 17.01.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Щербак В.А., Медведева А.С., Аксенова Т.А., Щербак Н.М., Аксенов К.О. L-аргинин и артериальная гипертензия: клинико-патогенетические взаимосвязи и коморбидность. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 32-41. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.4

THE ROLE OF L-ARGININE IN THE PATHOGENESIS OF ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION

**Shcherbak V.A.,
Medvedeva A.S.,
Aksenova T.A.,
Shcherbak N.M.,
Aksenov K.O.**

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39A, Chita 672000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Vladimir A. Shcherbak,
e-mail: shcherbak2001@mail.ru

ABSTRACT

The role of arginine in the development of primary arterial hypertension continues to be clarified up to the present moment. During natural metabolic processes in cells, methylated forms of arginine are produced – symmetric (SDMA) and asymmetric (ADMA) dimethylarginine. ADMA is a nitric oxide synthase inhibitor and is now considered a well-established marker for endothelial dysfunction. SDMA is not a nitric oxide synthase inhibitor, but may indirectly reduce nitric oxide production through competitive interaction with cellular L-arginine.

Currently, arginine preparations are practically not used for the treatment of primary arterial hypertension. This was the rationale for the given scientific review. The article summarizes the information available in the literature (2018–2022) on the pathogenetic mechanisms of the relationship between arginine and the development of impaired vascular tone. We used PubMed and RSCI databases for our review. Using keywords, 1784 publications were found over the past 5 years. The final selection criteria were time frame and matching keywords. The review provides data on the increased ADMA concentrations in experimental hypertensive animals and individuals with essential hypertension. The role of arginine metabolites in the genesis of endothelial dysfunction and arterial hypertension and the prospects for the therapeutic use of this compound are discussed.

Key words: primary arterial hypertension, arginine, symmetrical dimethylarginine, asymmetrical dimethylarginine, citrulline, nitric oxide, nitric oxide synthase, comorbidity

Received: 01.03.2023
Accepted: 17.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Shcherbak V.A., Medvedeva A.S., Aksenova T.A., Shcherbak N.M., Aksenov K.O. The role of L-arginine in the pathogenesis of essential arterial hypertension. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 32-41. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.4

Эссенциальная гипертензия является наиболее распространённым неинфекционным заболеванием, имеющимся более чем у 30–45 % населения в мире и Российской Федерации. Распространённость данной патологии обуславливает риск развития ишемической болезни сердца, инфарктов миокарда, инсультов, деменции, хронической болезни почек [1]. Это определяет неизменное внимание учёных и клиницистов к патогенезу повышения артериального давления (АД). В нашей стране традиционно используется термин «гипертоническая болезнь», предложенный в 1948 г. Г.Ф. Лангом, для определения заболевания, основным симптомом которого является повышение АД, не связанное с патологией, приводящей к вторичной гипертензии. За рубежом синонимами данного диагноза являются термины «эссенциальная гипертензия» и/или «артериальная гипертензия» (АГ).

Основоположениями разработки патогенетических звеньев формирования и прогрессирования гипертензии являются Г.Ф. Ланг и А.Л. Мясников, описавшие нейрогенную теорию возникновения гипертонической болезни. В наши дни это признанный раздел патогенеза, связанный с активацией симпатoadренальной системы. Поскольку данный механизм повышения АД реализуется преимущественно через альфа- и бета-адренорецепторы, в клинике широко применяются блокаторы бета-адренорецепторов [2]. Альфа-блокаторы используются реже, преимущественно при резистентной к терапии гипертензии и у лиц с доброкачественной гиперплазией предстательной железы.

Эссенциальная гипертензия исследуется с различных точек зрения, начиная от генетики [3, 4], физиологии [5], а в последние годы и микробиоты [6–8] как ранее недооценённых областей знаний, способствующих выявлению этиологии заболевания. Важную роль в становлении гипертензии играет дисфункция эндотелия с преобладанием продукции вазоконстрикторных субстанций при одновременном уменьшении выработки брадикинина, оксида азота, простаглицлина и других соединений, снижающих сосудистый тонус.

Каждое направление в отдельности внесло уникальный вклад в понимание различных механизмов регуляции АД. Вместе с тем метаболическая дисфункция как одно из звеньев патогенеза первичной артериальной гипертензии (ПАГ) изучена недостаточно. Аминокислота L-аргинин служит основным субстратом для выработки оксида азота (NO) в сосудах. NO назван «молекулой XX века», поскольку с применением препаратов на его основе значительно улучшался прогноз для пациентов не только с сердечно-сосудистыми заболеваниями, но и с другой патологией. Ранее было показано, что L-аргинин снижает системное артериальное давление при некоторых формах экспериментальной гипертензии, однако коморбидная патология изучена недостаточно. Предыдущие исследования, хотя и не единообразные, показали положительные результаты влияния приёма добавок L-аргинина на функцию эндотелия. Однако широкого применения в клинической практике они пока не нашли. Вышеизложенное явилось обоснованием данного научного обзора.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

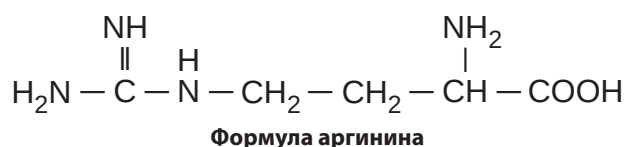
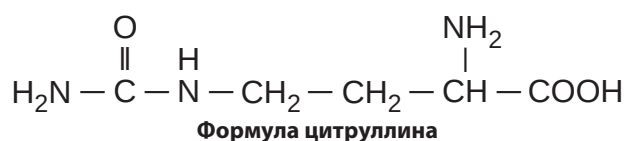
Изучение роли аргинина в регуляции эндотелиальной функции и сосудистого тонуса.

Обзор обобщает имеющуюся в литературе информацию (2018–2022 гг.), посвящённую патогенетическим механизмам взаимосвязи аргинина с развитием нарушения сосудистого тонуса. Используются базы данных PubMed, РИНЦ. Ключевыми словами для поиска являлись: «первичная артериальная гипертензия», «аргинин», «симметричный диметиларгинин», «асимметричный диметиларгинин», «цитруллин», «оксид азота», «синтаза оксида азота». По ключевым словам найдены 1784 публикации, в основном за последние 5 лет. Критериями окончательного отбора были временные рамки и совпадение ключевых слов.

1. РОЛЬ АРГИНИНА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

В 1998 г. американские учёные Луис Игнаро (Louis J. Ignarro), Ферид Мурад (Ferid Murad) и Роберт Фрэнсис Фёрчготт (Robert Francis Furchgott) были награждены Нобелевской премией по физиологии и медицине с формулировкой «За открытие роли оксида азота как сигнальной молекулы в регуляции сердечно-сосудистой системы». С открытием роли NO появились новые возможности для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы.

L-аргинин, в дальнейшем именуемый аргинином, является полузаменимой или условно незаменимой аминокислотой, поскольку может синтезироваться здоровыми людьми [9]. Название происходит от греческого слова ἄργυρος (серебро), типичного цвета кристаллов нитрата аргинина. Его химическая формула – 2-амино-5-гуанидинопентановая кислота. В организме синтез аргинина происходит из L-цитрулина. Молекула L-цитрулина с помощью ферментов аргининсукцинатсинтазы превращается в промежуточный продукт – аргининсукцинат, который расщепляется аргининсукцинатлиазой до аргинина и фумарата. Через фумарат осуществляется связь цикла превращения аргинина и образования NO с циклом трикарбоновых кислот. Аргинин используется в клетках для синтеза не только NO, но и белков, мочевины, креатинина, полиаминов, пролина, глутамата [10]. Аргинин участвует в ряде биологических процессов, является основой многих реакций для синтеза других аминокислот, а также субстратом для двух ферментов: синтазы оксида азота (NOS) и аргиназы, являющихся основными для образования NO и мочевины соответственно.



Под определением «оксид азота» понимается восстановленная форма NO с периодом полураспада от 2 до 30 с [11, 12]. Его стабильными конечными метаболитами являются нитриты (NO_2^-) и нитраты (NO_3^-). Суммарный показатель (нитрит и нитрат) – продукт NO, являющийся косвенным маркером концентрации оксида азота в организме. В биологических жидкостях организма, включая плазму, большинство нитрита конвертируется в нитрат [13].

Семейство синтазы оксида азота включает эндотелиальную NOS (eNOS), нейрональную NOS (nNOS) и индуцируемую NOS (iNOS). Эти изоформы NOS катализируют превращение аргинина и L-гомоаргинина в NO – один из наиболее мощных физиологических сосудорасширяющих средств и ингибиторов агрегации тромбоцитов [14]. Выявлено, что NO и другие эндотелиальные вещества, включая простагландин (вазодилатор) и эндотелин (вазоконстриктор), играют важную роль в физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы [15]. Установлено, что изменение гомеостаза эндотелиального NO из-за дисфункции эндотелия приводит к сердечно-сосудистым заболеваниям [16].

NO синтезируется из аргинина ферментом NOS в реакции, включающей перенос электронов от никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН) – через флавинадениндинуклеотид и флавиномононуклеотид в C-концевом редуктазном домене – к гему в N-концевом оксигеназном домене, где субстрат аргинин окисляется до цитруллина и NO [17]. Образование NO происходит в два этапа. Сначала NOS гидроксилирует аргинин до N ω -гидрокси-аргинина (который остаётся в значительной степени связанным с ферментом). Затем NOS окисляет N ω -гидроксиаргинин до цитруллина и NO [18]. В нормальных условиях NOS катализирует превращение электронов аргинина, O_2 и НАДФН в NO и цитруллин. Однако при наличии патологических состояний, таких как атеросклероз и сахарный диабет, функция NOS изменяется, и фермент катализирует восстановление O_2 до супероксида (O_2^-) – явление, которое обычно называют «разобщением NOS» [19, 20].

2. РОЛЬ АРГИНИНА В ПАТОЛОГИИ

Одним из главных механизмов развития ПАГ является эндотелиальная дисфункция [21–23]. Кроме ПАГ, она играет роль в развитии других заболеваний, в том числе, сахарного диабета, атеросклероз и других. Более того, многие авторы показали, что системные проявления, наблюдаемые при COVID-19, могут быть объяснены дисфункцией эндотелия [24–26]. Действительно, изменения эндотелиальной функции были связаны с гипертензией, сахарным диабетом, тромбоэмболией и почечной недостаточностью, которые в разной степени проявлялись у пациентов с COVID-19 [27–30]. Н.М. Al-Kuraishy и соавт. [31] установили, что благодаря противовирусному и иммуномодулирующему эффектам L-аргинин и высвобожденный NO имеют взаимосвязанные эффекты против инфекции SARS-CoV-2.

В последние годы растёт интерес к потенциальным терапевтическим эффектам добавок аргинина, особенно при сердечно-сосудистых заболеваниях. Нарушение синтеза NO считается основным признаком дисфункции эндотелия [32]. В то же время некоторые авторы показывают, что приём аргинина у здоровых людей не приводит к значительному увеличению выработки NO [33]. Так, ежедневное введение цитруллина либо аргинина в течение 8 дней 15 хорошо тренированным пловцам не влияло на концентрацию в сыворотке NO, а также не улучшало их результаты на дистанциях 100 и 200 м [34].

При этом другие работы показывают положительное влияние добавок аргинина на здоровых людей. Так, добавки с аргинином были протестированы на спортсменах, поскольку расширение сосудов способствует перфузии кислорода во время тренировки, повышая мышечную силу и восстановление [35]. В этих исследованиях получены противоречивые результаты, иногда не обнаруживающие влияния добавок аргинина на физическую работоспособность, а иногда демонстрирующие значительное улучшение переносимости нагрузок [36, 37].

Парадокс аргинина заключается в том, что несмотря на то, что его внутриклеточные физиологические концентрации составляют всего несколько сотен микромолей на литр, тем самым превышая Km eNOS, острое введение экзогенного аргинина ещё больше увеличивает продукцию NO [38]. Один из механизмов, который может помочь объяснить парадокс аргинина, связан с открытием асимметричного диметиларгинина (ADMA, asymmetric dimethylarginine), эндогенного ингибитора NOS [39].

Симметричный диметиларгинин (SDMA, symmetric dimethylarginine) не является ингибитором NOS, однако может косвенно снижать продукцию NO посредством конкурентного взаимодействия с клеточным L-аргинином [40]. SDMA – это метилированная аминокислота аргинин. SDMA вместе со своим биологически активным структурным изомером ADMA образуется в результате внутриядерного метилирования L-аргининовых остатков различных регуляторных белков и после протеолиза выходит в цитоплазму. SDMA экскретируется почками, в то время как ADMA в значительной степени метаболизируется [41].

Повышение концентрации ADMA выявлено при гипертензии у экспериментальных животных [42, 43]. Увеличение концентрации ADMA было зарегистрировано при ПАГ. Так, у детей 12–17 лет установлено возрастание данного показателя до $0,640 \pm 0,017$ мкмоль/л, что статистически значимо ($p < 0,01$) превышало уровень контрольной группы – $0,27 \pm 0,02$ мкмоль/л [44]. При ПАГ у детей уровень ADMA прямо коррелировал с бета-салузином, однако не выявлено взаимосвязи бета-салузина с SDMA [45]. В перекрёстном исследовании с участием школьников в возрасте 6–9 лет из Восточно-Капской провинции ЮАР выявлена прямая корреляционная связь между ожирением, гипертензией и ADMA [46].

В.И. Подзолковым и соавт. выявлено статистически значимое повышение концентрации ADMA у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией по срав-

нению с физиологической нормой. Причём это увеличение было более значительным в группе с неконтролируемой АГ (НАГ) по сравнению с контролируемой АГ (КАГ). При межгрупповом анализе у пациентов с НАГ отмечена выраженная положительная корреляционная связь концентрации ADMA с уровнем креатинина ($r = 0,615; p < 0,05$), а также выявлена статистически значимая отрицательная связь уровня ADMA с фильтрационной функцией почек, оцененной с помощью скорости клубочковой фильтрации ($r = -0,444; p < 0,05$). С нарастанием уровня ADMA в сыворотке регистрировалось статистически значимое уменьшение скорости клубочковой фильтрации ($p < 0,05$). Также в группе пациентов с НАГ выявлена статистически значимая положительная корреляционная связь между содержанием ADMA и прогрессированием стеноза брахиоцефальных артерий ($r = 0,5; p < 0,05$). Авторы считают, что установление статистически значимой корреляционной зависимости уровня ADMA у больных НАГ с параметрами снижения функции почек и прогрессированием стеноза брахиоцефальных артерий свидетельствует о потенциальной возможности использования аргинина в качестве маркера поражения органов-мишеней и прогноза течения заболевания [47].

Учитывая структуру, сходную с аргинином, ADMA является прямым конкурентом за связывание NOS. Более того, и ADMA, и аргинин транспортируются в клетку с помощью высокоаффинного Na^+ -независимого переносчика основных аминокислот [48], и, следовательно, также соревнуются друг с другом на этом уровне. Поскольку ADMA конкурирует с аргинином за NOS и клеточный транспорт, биодоступность NO зависит от баланса между ними.

Введение аргинина может уравновесить соотношение аргинин/ADMA, восстанавливая выработку NO. Другими словами, повышенная доступность аргинина в результате приёма конкурирует с ADMA в связывании eNOS. Этот интересный механизм проливает свет на эффективность повышенной доступности аргинина, предполагая его дальнейшие терапевтические возможности [49].

3. НАРУШЕНИЕ ПРОДУКЦИИ NO КАК МЕХАНИЗМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ВМЕШАТЕЛЬСТВО АРГИНИНА

Способность эндотелия регулировать сосудистый гомеостаз в значительной степени зависит от продукции NO, что делает недостаточность эндотелиальных вазодилататоров основным признаком эндотелиальной дисфункции. Нарушенная эндотелиальная доступность NO в сосудистой сети может быть связана со снижением синтеза NO или, косвенно, с увеличением продукции активных форм кислорода, что инактивирует источник NO [50]. В дополнение к противодействию окислительному стрессу стимуляция синтеза NO представляет собой альтернативный и потенциально эффективный под-

ход, например, путём предоставления дополнительных субстратов NO-синтазы. Теоретически саплементация аргинином удовлетворяет эти потребности, и поэтому они были протестированы при многих сердечно-сосудистых заболеваниях в качестве потенциальной терапевтической стратегии [51]. Тем не менее, исследование применения аргинина на людях часто вызывало споры. Действительно, у здоровых людей, а также у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями уровни аргинина в плазме колеблются от ~45 до ~100 мкмоль/л [52], что значительно выше, чем eNOS Km, равное 2,9 мкмоль/л. Эндокринные механизмы также могут способствовать расширению сосудов, вызванному аргинином. Действительно, аргинин стимулирует высвобождение инсулина и глюкагона островками Лангерганса поджелудочной железы [53].

Многочисленные данные указывают на то, что эндотелиальная дисфункция широко распространена при многих заболеваниях. А.А. Khan и соавт. выявили её при мерцательной аритмии и связали высокий риск развития осложнений именно с эндотелиальной дисфункцией [54]. Эндотелиальная дисфункция и C-реактивный белок предсказывают частоту сердечной недостаточности у больных артериальной гипертензией [55]. Эндотелиальная дисфункция также связана с возрастным снижением когнитивных и физических функций [56], а также с патогенезом инсульта [57], сахарного диабета [58], эректильной дисфункции [59] и сердечной недостаточности [60].

Клинические исследования, проверяющие влияние аргинина на эндотелиальную дисфункцию, вызванную старением, дали противоречивые результаты. Острая внутривенная инфузия аргинина (1 г/мин в течение 30 мин) не влияла на эндотелиально-зависимую вазодилатацию у здоровых пожилых людей [61]. Вместе с тем внутривенное введение аргинина вызывало значительное увеличение почечного плазматического потока, скорости клубочковой фильтрации, натрийуреза и калийуреза у молодых, но не у пожилых гипертоников [62].

4. ПРИЁМ АРГИНИНА ПРИ ГИПЕРТОНИИ

Большинство исследований на животных моделях подтверждают положительное влияние добавок цитруллин и аргинина при повышенном АД. Аргиназный путь отвечает за катаболизм 76–85 % и 81–96 % аргинина во внекишечных тканях свиней и крыс соответственно. Пищевые добавки с аргинином (315 и 630 мг Arg/(кг массы тела в сутки) в течение 91 дня) не оказывали неблагоприятного воздействия на самцов и самок свиней. Точно так же никаких проблем с безопасностью не наблюдалось у самцов или самок крыс, получавших добавки с 1,8 и 3,6 г аргинина/(кг массы тела в день) в течение не менее 91 дня. Внутривенное введение Arg-HCl беременным овцам в дозах 81 и 180 мг Arg/(кг массы тела в день) безопасно в течение как минимум 82 и 40 дней соответственно. Животные, получающие обычный рацион, могут хорошо переносить большие количества

Arg (до 630 мг Arg/(кг массы тела в день) для свиней или 3,6 г Arg/(кг массы тела в день) для крыс) в течение 91 дня, что эквивалентно 573 мг Arg/(кг массы тела в сутки) для человека. В совокупности эти результаты могут помочь в исследованиях по определению безопасности длительного перорального приёма Arg у людей [63].

Бразильские авторы оценивали, нарушена ли эндотелиальная функция позвоночных артерий (ПА) у мужчин с гипертензией. У 13 мужчин с артериальной гипертензией (46 ± 3 года) и 8 мужчин из группы контроля того же возраста (46 ± 4 года) определяли АД (фотоплетизмография), кровоток в вертебральной (VA) и в общей сонной артерии (ОСА) методом дуплексного ультразвукового исследования. Результаты фиксировали в покое и в течение 30 мин после внутривенного введения L-аргинина (30 г) или изотонического раствора. Контрольная группа и пациенты с гипертензией продемонстрировали одинаковый кровоток в покое (601 ± 30 мл/мин против 570 ± 43 мл/мин в контрольной группе; $p = 0,529$) и кровоток в VA (119 ± 11 мл/мин против 112 ± 9 мл/мин в контрольной группе; $p = 0,878$). Во время введения L-аргинина кровоток в ОСА увеличился одинаково между группами (в группе с АГ – на $12 \pm 3\%$, в контрольной группе – на $13 \pm 2\%$; $p = 0,920$). Напротив, увеличение кровотока в VA отсутствовало у субъектов с гипертензией ($0,8 \pm 3\%$ по сравнению с контрольной группой – $16 \pm 4\%$; $p = 0,015$) без значительного изменения АД. Потoki как в ОСА, так и в VA возвращались к значениям, близким к состоянию покоя, в течение 30 минут после инфузии, а у четырёх пациентов с гипертензией и трёх из группы контроля не было значительного влияния на кровоток в VA или ОСА. Результаты демонстрируют эндотелиальную дисфункцию в заднем мозговом кровообращении у мужчин среднего возраста с артериальной гипертензией [64].

Иранские авторы изучили влияние добавок L-аргинина на АД путём проведения систематического обзора и метаанализа зависимости доза-эффект в рандомизированных плацебо-контролируемых клинических испытаниях (РКИ). Они провели поиск в онлайн-базах данных по релевантным ключевым словам до апреля 2021 г., чтобы выявить РКИ с применением перорального приёма L-аргинина для измерения систолического АД (САД) и диастолического АД (ДАД) у взрослых. Критериями включения были взрослые участники и продолжительность вмешательства ≥ 4 дней. Критериями исключения были инфузии L-аргинина и неотложные вмешательства. Модель случайных эффектов использовалась для оценки разности взвешенных средних (WMD, weighted mean difference) и 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). В этот метаанализ были включены 22 РКИ. Объединённый анализ продемонстрировал значительное снижение САД (WMD = $-6,40$ мм рт. ст.; 95% ДИ: $-8,74$; $-4,05$; $p < 0,001$) и ДАД (WMD = $-2,64$ мм рт. ст.; 95% ДИ: $-3,94$; $-1,40$; $p < 0,001$) после приёма L-аргинина. Анализ в подгруппах показал значительное снижение САД и ДАД независимо от исходной категории АД (нормотензивное, гипертензивное), продолжительности исследования (≤ 24 дней, > 24 дней), пола (женщи-

ны, мужчины), состояния здоровья (здоровый, нездоровый) и индекса массы тела (нормальный, избыточный вес, ожирение). Никаких существенных изменений не наблюдалось при дозах > 9 г/сут., продолжительности испытаний > 24 дней или у лиц с ожирением. Добавка L-аргинина также снижает ДАД более эффективно у женщин, чем у мужчин. Более того, мета-регрессионный анализ ДАД продемонстрировал значительную связь между дозой приёма L-аргинина и изменениями ДАД ($p = 0,020$). В нелинейном анализе «доза – реакция» было обнаружено, что эффективная доза L-аргинина составляет ≥ 4 г/день для САД ($p = 0,034$) независимо от продолжительности исследования. В целом авторы считают, что добавка L-аргинина может быть эффективной для снижения АД [65].

Китайские авторы исследовали воздействие загрязнения воздуха, связанного с дорожным движением, на АД, сердечно-сосудистые заболевания и смертность. Они стремились оценить потенциальную эффективность добавок L-аргинина в смягчении неблагоприятных сердечно-сосудистых эффектов у взрослых с повышенным АД при ходьбе на улице в условиях загрязнения воздуха автомобилями с помощью рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования. Было набрано 118 взрослых с повышенным АД, которые были случайным образом распределены либо в группу плацебо, либо в группу вмешательства с добавлением L-аргинина в дозе 9 г/сут. в течение 2 недель. На 14-й день участники из двух групп в паре шли по проезжей части в течение 2 часов. АД в покое, метаболиты L-аргинин-оксида азота и биомаркеры воспаления измерялись до, во время и после 2-часового воздействия, а измерение АД и холтеровское мониторирование выполнялись во время 2-часовой прогулки на свежем воздухе. Участники основной группы имели значительно повышенный уровень L-аргинина в плазме по сравнению с группой плацебо после приёма добавки. Обе группы подвергались одинаковому воздействию загрязнителей воздуха, связанных с дорожным движением. Тем не менее, участники основной группы показали значительное снижение на 5,3 мм рт. ст. (95% ДИ: $-9,9$; $-0,7$) САД в покое, на 4,3 мм рт. ст. – ДАД в покое, на 4,6 мм рт. ст. (95% ДИ: $-7,9$; $-1,3$) – среднего артериального давления (СрАД) в покое через 30 минут после 2-часовой прогулки на свежем воздухе по сравнению с группой плацебо. Также наблюдалось значительное снижение амбулаторных САД, ДАД и СрАД ($7,5$ – $9,9$ мм рт. ст., $5,3$ – $7,6$ мм рт. ст. и $4,7$ – $7,9$ мм рт. ст. соответственно) во время ходьбы в основной группе по сравнению с группой плацебо. Не было обнаружено существенных изменений уровня сегмента ST, метаболитов L-аргинина (NO) и воспалительных биомаркеров, а также не было выявлено статистически значимых ассоциаций между конкретными загрязнителями воздуха, связанными с дорожным движением, и показателями здоровья сердечно-сосудистой системы. Исследование показывает, что пероральный приём L-аргинина был безопасным и хорошо переносимым, а также мог улучшить уровни АД у взрослых с повышенным АД во время прогулок на воздухе, даже при его за-

грязнении вследствие дорожного движения [66]. Другие авторы также показывают благоприятный эффект добавок аргинина на течение ПАГ [67–69].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, аминокислота аргинин – это молекула, участвующая в регуляции АД. Асимметричный диметиларгинин и его структурный изомер – симметричный диметиларгинин – являются предикторами развития осложнённого течения сердечно-сосудистых заболеваний. Ранее проведённые исследования терапевтического применения аргинина являются противоречивыми, что затрудняет внедрение результатов в практику.

В целом данные литературы рекомендуют использование добавок аргинина при сердечно-сосудистых заболеваниях, особенно для предотвращения развития гипертонии и атеросклероза. Одним из ограничений использования добавок с аргинином остаётся выбор оптимальной целевой группы. В этом отношении мы считаем, что уровни ADMA могут быть очень полезными при выборе целевой популяции, а пациенты с повышенным соотношением ADMA/аргинин, вероятно, являются наиболее подходящей группой, для которой добавка аргинина действительно может быть эффективной. Другое ограничение использования аргинина касается его дозы. Действительно, доступные данные предлагают ряд различных доз – иногда эффективных, иногда нет. К сожалению, многие данные о влиянии аргинина на гипертонию получены в результате небольших клинических исследований, и, несмотря на многообещающую эффективность, необходимы дальнейшие, особенно крупные, рандомизированные и контролируемые испытания.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020. Российский кардиологический журнал. 2020; 25(3): 3786. [Arterial hypertension in adults. Clinical guidelines 2020. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(3): 3786. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3-3786
2. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Pharmacological blood pressure lowering for primary and secondary prevention of cardiovascular disease across different levels of blood pressure: An individual participant-level data meta-analysis. *Lancet*. 2021; 397(10285): 1625-1636. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00590-0
3. Большакова О.В., Пушкарёв Б.С., Покоева З.А., Витковский Ю.А. Роль генетического полиморфизма кальциевых ионных каналов RYR2, CACNA1H, CACNA1C в развитии гипертрофии миокарда левого желудочка у больных эссенциальной гипертензией. *Забайкальский медицинский вестник*.

- 2022; 3: 9-17. [Bolshakova OV, Pushkarev BS, Pokoeva ZA, Vitkovsky YuA. The role of genetic polymorphism of calcium ion channels RYR2, CACNA1H, CACNA1C in the development of left ventricular myocardial hypertrophy in patients with essential hypertension. *Transbaikal Medical Bulletin*. 2022; 3: 9-17. (In Russ.)]. doi: 10.52485/19986173_2022_3_9
4. Maaliki D, Itani MM, Itani HA. Pathophysiology and genetics of salt-sensitive hypertension. *Front Physiol*. 2022; 13: 1001434. doi: 10.3389/fphys.2022.1001434
5. Kurtz TW, Pravenec M, DiCarlo SE. Mechanism-based strategies to prevent salt sensitivity and salt-induced hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 2022; 136(8): 599-620. doi: 10.1042/CS20210566
6. Zhong HJ, Zeng HL, Cai YL, Zhuang YP, Liou YL, Wu Q, et al. Washed microbiota transplantation lowers blood pressure in patients with hypertension. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 679624. doi: 10.3389/fcimb.2021.679624
7. Verhaar BJH, Prodan A, Nieuwdorp M, Muller M. Gut microbiota in hypertension and atherosclerosis: A review. *Nutrients*. 2020; 12(10): 2982. doi: 10.3390/nu12102982
8. Tain YL, Hsu CN. Hypertension of developmental origins: Consideration of gut microbiome in animal models. *Biomedicines*. 2022; 10(4): 875. doi: 10.3390/biomedicines10040875
9. Guccione E, Richard S. The regulation, functions and clinical relevance of arginine methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; 20(10): 642-657. doi: 10.1038/s41580-019-0155-x
10. Tilwala R, Thompson PR. Peptidyl arginine deiminases: Detection and functional analysis of protein citrullination. *Curr Opin Struct Biol*. 2019; 59: 205-215. doi: 10.1016/j.sbi.2019.01.024
11. Гончаров Н.П. Оксид азота (NO): физиология и метаболизм (лекция). *Андрология и генитальная хирургия*. 2020; 21(3): 75-79. [Goncharov NP. Nitric oxide (NO): Physiology and metabolism (lecture). *Andrology and Genital Surgery*. 2020; 21(3): 75-79. (In Russ.)]. doi: 10.17650/2070-9781-2020-21-3-75-79
12. Griendling KK, Camargo LL, Rios FJ, Alves-Lopes R, Montezano AC, Touyz RM. Oxidative stress and hypertension. *Circ Res*. 2021; 128(7): 993-1020. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318063
13. Чеботарёва А.А., Комаревцева И.А., Юсуф Р.М.С., Черных Ю.А., Вишницкая И.А., Комаревцева Е.В., и др. Метаболиты оксида азота в тканях, сыворотке крови, мононуклеарных и мезенхимальных стволовых клетках. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2016; 2: 90-95. [Chebotareva AA, Komarevtseva IA, Yusuf RMS, Chernykh YuA, Vishnitskaya IA, Komarevtseva EV, et al. Nitric oxide metabolites in tissues, blood serum, mononuclear and mesenchymal stem cells. *Kursk Scientific and Practical bulletin "Man and His Health"*. 2016; 2: 90-95. (In Russ.)]. doi: 10.21626/vestnik/2016-2/17
14. Burov ON, Kletskii ME, Kurbatov SV, Lisovin AV, Fedik NS. Mechanisms of nitric oxide generation in living systems. *Nitric Oxide*. 2022; 118: 1-16. doi: 10.1016/j.niox.2021.10.003
15. Rajapakse NW, Giam B, Kuruppu S, Head GA, Kaye DM. Impaired L-arginine-nitric oxide pathway contributes to the pathogenesis of resistant hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 2019; 133(20): 2061-2067. doi: 10.1042/CS20190851
16. Gambardella J, Khondkar W, Morelli MB, Wang X, Santulli G, Trimarco V. Arginine and endothelial function. *Biomedicines*. 2020; 8(8): 277. doi: 10.3390/biomedicines8080277
17. Wu G, Meininger CJ, McNeal CJ, Bazer FW, Rhoads JM. Role of L-arginine in nitric oxide synthesis and health in humans. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1332: 167-187. doi: 10.1007/978-3-030-74180-8_10

18. Gawrys J, Gajecki D, Szahidewicz-Krupska E, Doroszko A. Intraplatelet L-arginine-nitric oxide metabolic pathway: From discovery to clinical implications in prevention and treatment of cardiovascular disorders. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 1015908. doi: 10.1155/2020/1015908
19. Куркин Д.В., Абросимова Е.Е., Бакулин Д.А., Ковалев Н.С., Дубровина М.А., Борисов А.В., и др. Модуляция активности различных синтаз оксида азота в качестве подхода к терапии эндотелиальной дисфункции. *Фармация и фармакология*. 2022; 10(2): 130-153. [Kurkin DV, Abrosimova EE, Bakulin DA, Kovalev NS, Dubrovina MA, Borisov AV, et al. Activity modulation of various nitric oxide synthases as an approach to endothelial dysfunction therapy. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022; 10(2): 130-153. (In Russ.)]. doi: 10.19163/2307-9266-2022-10-2-130-153
20. Lundberg JO, Weitzberg E. Nitric oxide signaling in health and disease. *Cell*. 2022; 185(16): 2853-2878. doi: 10.1016/j.cell.2022.06.010
21. Ambrosino P, Bachetti T, D'Anna SE, Galloway B, Bianco A, D'Agnano V. Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in arterial hypertension. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2022; 9(5): 136. doi: 10.3390/jcdd9050136
22. Poredos P, Poredos AV, Gregoric I. Endothelial dysfunction and its clinical implications. *Angiology*. 2021; 72(7): 604-615. doi: 10.1177/0003319720987752
23. Xu S, Ilyas I, Little PJ, Li H, Kamato D, Zheng X, et al. Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: From mechanism to pharmacotherapies. *Pharmacol Rev*. 2021; 73(3): 924-967. doi: 10.1124/pharmrev.120.000096
24. Sardu C, Gambardella J, Morelli MB, Wang X, Marfella R, Santulli G. Hypertension, thrombosis, kidney failure, and diabetes: Is COVID-19 an endothelial disease? A comprehensive evaluation of clinical and basic evidence. *J Clin Med*. 2020; 9: 1417. doi: 10.3390/jcm9051417
25. Mosleh W, Chen K, Pfau SE, Vashist A. Endotheliitis and endothelial dysfunction in patients with COVID-19: It's role in thrombosis and adverse outcomes. *J Clin Med*. 2020; 9: 1862. doi: 10.3390/jcm9061862
26. Pons S, Fodil S, Azoulay E, Zafrani L. The vascular endothelium: The cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection. *Crit Care*. 2020; 24: 353. doi: 10.1186/s13054-020-03062-7
27. Adebayo A, Varzideh F, Wilson S, Gambardella J, Eacobacci M, Jankauskas SS, et al. L-arginine and COVID-19: An update. *Nutrients*. 2021; 13(11): 3951. doi: 10.3390/nu13113951
28. Lamers MM, Haagmans BL. SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2022; 20(5): 270-284. doi: 10.1038/s41579-022-00713-0
29. Andrianto, Al-Farabi MJ, Nugraha RA, Marsudi BA, Azmi Y. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis. *Microvasc Res*. 2021; 138: 104224. doi: 10.1016/j.mvr.2021.104224
30. Ergül E, Yılmaz AS, Öğütveren MM, Emlek N, Kostakoğlu U, Çetin M. COVID 19 disease independently predicted endothelial dysfunction measured by flow-mediated dilatation. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2022; 38(1): 25-32. doi: 10.1007/s10554-021-02356-3
31. Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Alexiou A, Batiha GE. COVID-19 and L-arginine supplementations: Yet to find the missed key. *Curr Protein Pept Sci*. 2022; 23(3): 166-169. doi: 10.2174/1389203723666220512104039
32. Kakabadze K, Megreladze I, Khvichia N, Mitagvaria N, Kipiani N, Dumbadze M, et al. Some aspects of role of nitric oxide in the mechanisms of hypertension (experimental study). *Cardiol Res*. 2021; 12(1): 16-24. doi: 10.14740/cr1172
33. Meirelles CM, Matsuura C, Silva RS Jr, Guimaraes FF, Gomes PSC. Acute effects of L-arginine supplementation on oxygen consumption kinetics and muscle oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin during treadmill running in male adults. *Int J Exerc Sci*. 2019; 12: 444-455.
34. Esen O, Eser MC, Abdioglu M, Benesova D, Gabrys T, Karayigit R. Eight days of L-citrulline or L-arginine supplementation did not improve 200-m and 100-m swimming time trials. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19(8): 4462. doi: 10.3390/ijerph19084462
35. Macuh M, Knap B. Effects of nitrate supplementation on exercise performance in humans: A narrative review. *Nutrients*. 2021; 13(9): 3183. doi: 10.3390/nu13093183
36. Hlinský T, Gonzalez AM, Trexler ET. Effects of citrulline supplementation on exercise performance in humans: A review of the current literature. *J Strength Cond Res*. 2020; 34(5): 1480-1495. doi: 10.1519/JSC.0000000000003426
37. San Juan AF, Dominguez R, Lago-Rodríguez Á, Montoya JJ, Tan R, Bailey SJ. Effects of dietary nitrate supplementation on weightlifting exercise performance in healthy adults: A systematic review. *Nutrients*. 2020; 12(8): 2227. doi: 10.3390/nu12082227
38. Tsikas D, Bollenbach A, Hanff E, Kayacelebi AA. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA) and homoarginine (hArg): The ADMA, SDMA and hArg paradoxes. *Cardiovasc Diabetol*. 2018; 17(1): 1. doi: 10.1186/s12933-017-0656-x
39. Keller A, Becker C, Nienhaus K, Beck K, Vincent A, Sutter R, et al. Arginine and arginine/ADMA ratio predict 90-day mortality in patients with out-of-hospital cardiac arrest-results from the prospective, observational COMMUNICATE trial. *J Clin Med*. 2020; 9(12): 3815. doi: 10.3390/jcm9123815
40. Tain YL, Hsu CN. Toxic dimethylarginines: Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel)*. 2017; 9(3): 92. doi: 10.3390/toxins9030092
41. Стафеев А.Н., Логвиненко Н.И., Терешков П.П., Мельник А.В., Астраков С.В. Бронхиальная астма и артериальная гипертензия. Совместный вклад в развитие эндотелиальной дисфункции, связанной с дефицитом синтеза оксида азота. *Сибирский медицинский вестник*. 2020; (1): 3-7. [Stafeev AN, Logvinenko NI, Tereshkov PP, Melnik AV, Astrakov SV. Bronchial asthma and arterial hypertension. Combined contribution to the development of endothelial dysfunction related to the nitric oxide synthesis deficiency. *Siberian Medical Bulletin*. 2020; (1): 3-7. (In Russ.)].
42. Ibrahim MA, Eraqi MM, Alfaiz FA. Therapeutic role of taurine as antioxidant in reducing hypertension risks in rats. *Heliyon*. 2020; 6(1): e03209. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03209
43. Dovinová I, Hrabárová E, Jansen E, Kvandová M, Majzúnová M, Berenyiová A, et al. ADMA, homocysteine and redox status improvement affected by 7-nitroindazole in spontaneously hypertensive rats. *Biomed Pharmacother*. 2018; 106: 1478-1483. doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.096
44. Каладзе Н.Н., Янина Т.Ю., Ревенко Н.А. Роль асимметричного диметиларгинина в патогенезе артериальной гипертензии у детей. *Здоровье ребенка*. 2013; (5): 77-80. [Kaladze NN, Yanina TYu, Revenko NA. The role of asymmetric dimethylarginine

in the pathogenesis of hypertension in children. *Child's Health*. 2013; (5): 77-80. (In Russ.).

45. Kołakowska U, Kuroczycka-Saniutycz E, Olański W, Wasilewska A. Correlation of salusin beta with hs-CRP and ADMA in hypertensive children and adolescents. *Curr Pharm Des*. 2018; 24(30): 3551-3557. doi: 10.2174/1381612824666180607124531

46. Matjuda EN, Engwa GA, Letswalo PB, Mungamba MM, Sewani-Rusike CR, Nkeh-Chungag BN. Association of hypertension and obesity with risk factors of cardiovascular diseases in children aged 6–9 years old in the Eastern Cape province of South Africa. *Children (Basel)*. 2020; 7(4): 25. doi: 10.3390/children7040025

47. Подзолков В.И., Сафронова Т.А., Наткина Д.У. Эндотелиальная дисфункция у больных с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией. *Терапевтический архив*. 2019; 91(9): 108-114. [Podzolkov VI, Safronova TA, Natkina DU. Endothelial dysfunction in patients with controlled and uncontrolled arterial hypertension. *Terapevticheskii arkhiv*. 2019; 91(9): 108-114. (In Russ.)]. doi: 10.26442/00403660.2019.09.000344

48. Mangoni AA, Rodionov RN, McEvoy M, Zinellu A, Carru C, Sotgia S. New horizons in arginine metabolism, ageing and chronic disease states. *Age Ageing*. 2019; 48(6): 776-782. doi: 10.1093/ageing/afz083

49. Rodrigues-Krause J, Krause M, Rocha IMGD, Umpierre D, Fayh APT. Association of L-arginine supplementation with markers of endothelial function in patients with cardiovascular or metabolic disorders: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2018; 20; 11(1): 15. doi: 10.3390/nu11010015

50. Maccallini C, Amoroso R. Preface to nitric oxide modulators in health and disease I. *Molecules*. 2022; 12; 27(20): 6820. doi: 10.3390/molecules27206820

51. Khalaf D, Krüger M, Wehland M, Infanger M, Grimm D. The effects of oral L-arginine and L-citrulline supplementation on blood pressure. *Nutrients*. 2019; 11(7): 1679. doi: 10.3390/nu11071679

52. Fender AC, Dobrev D. Nitric oxide as a fragile switch between cardioprotection and cardiac injury. *Int J Cardiol*. 2021; 343: 102-103. doi: 10.1016/j.ijcard.2021.09.001

53. Kim A, Knudsen JG, Madara JC, Benrick A, Hill TG, Abdul Kadir L. Arginine-vasopressin mediates counter-regulatory glucagon release and is diminished in type 1 diabetes. *Elife*. 2021; 7(10): e72919. doi: 10.7554/eLife.72919

54. Khan AA, Thomas GN, Lip GYH, Shantsila A. Endothelial function in patients with atrial fibrillation. *Ann Med*. 2020; 52(1-2): 1-11. doi: 10.1080/07853890.2019.1711158

55. Maio R, Perticone M, Suraci E, Sciacqua A, Sesti G, Perticone F. Endothelial dysfunction and C-reactive protein predict the incidence of heart failure in hypertensive patients. *ESC Heart Fail*. 2021; 8(1): 399-407. doi: 10.1002/ehf2.13088

56. Csipo T, Cassidy BR, Balasubramanian P, Drevets DA, Ungvari ZI, Yabluchanskiy A. Endothelial dysfunction and impaired neurovascular coupling responses precede cognitive impairment in a mouse model of geriatric sepsis. *Front Aging Neurosci*. 2021; 13: 644733. doi: 10.3389/fnagi.2021.644733

57. Tian DS, Qin C, Zhou LQ, Yang S, Chen M, Xiao J, et al. FSAP aggravated endothelial dysfunction and neurological deficits in acute ischemic stroke due to large vessel occlusion. *Signal Transduct Target Ther*. 2022; 7(1): 6. doi: 10.1038/s41392-021-00802-1

58. Yao Y, Song Q, Hu C, Da X, Yu Y, He Z, et al. Endothelial cell metabolic memory causes cardiovascular dysfunction in diabetes. *Cardiovasc Res*. 2022; 118(1): 196-211. doi: 10.1093/cvr/cvab013

59. De Leonardi F, Colalillo G, Finazzi Agrò E, Miano R, et al. Endothelial dysfunction, erectile deficit and cardiovascular disease: An overview of the pathogenetic links. *Biomedicines*. 2022; 10(8): 1848. doi: 10.3390/biomedicines10081848

60. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev Cardiovasc Med*. 2022; 23(2): 73. doi: 10.31083/j.rcm2302073

61. Sandgren JA, Deng G, Lingonegoro DW, Scroggins SM, Perschbacher KJ, Nair AR, et al. Arginine vasopressin infusion is sufficient to model clinical features of preeclampsia in mice. *JCI Insight*. 2018; 3(19): e99403. doi: 10.1172/jci.insight.99403

62. Giani JF, Janjulia T, Kamat N, Seth DM, Blackwell WL, Shah KH, et al. Renal angiotensin-converting enzyme is essential for the hypertension induced by nitric oxide synthesis inhibition. *J Am Soc Nephrol*. 2014; 25(12): 2752-2763. doi: 10.1681/ASN.2013091030

63. Wu Z, Hou Y, Hu S, Bazer FW, Meininger CJ, McNeal CJ, et al. Catabolism and safety of supplemental L-arginine in animals. *Amino Acids*. 2016; 48(7): 1541-52. doi: 10.1007/s00726-016-2245-9

64. Vianna LC, Fernandes IA, Barbosa TC, Amaral TG, Rocha NG, Secher NH, et al. Absent increase in vertebral artery blood flow during L-arginine infusion in hypertensive men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2018; 315(4): R820-R824. doi: 10.1152/ajpregu.00088.2018

65. Shiraseb F, Asbaghi O, Bagheri R, Wong A, Figueroa A, Mirzaei K. Effect of L-arginine Supplementation on blood pressure in adults: A systematic review and dose-response meta-analysis of randomized clinical trials. *Adv Nutr*. 2022; 13(4): 1226-1242. doi: 10.1093/advances/nmab155

66. Li H, Liu Q, Zou Z, Chen Q, Wang W, Baccarelli AA, et al. L-arginine supplementation to mitigate cardiovascular effects of walking outside in the context of traffic-related air pollution in participants with elevated blood pressure: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Environ Int*. 2021; 156: 106631. doi: 10.1016/j.envint.2021.106631

67. Casonatto J, Cavalari JV. A single dosage of L-arginine oral supplementation induced post-aerobic exercise hypotension in hypertensive patients. *J Diet Suppl*. 2022; 29: 1-14. doi: 10.1080/19390211.2022.2106006

68. Khalaf D, Krüger M, Wehland M, Infanger M, Grimm D. The effects of oral L-arginine and L-citrulline supplementation on blood pressure. *Nutrients*. 2019; 11(7): 1679. doi: 10.3390/nu11071679

69. Abukhodair AW, Abukhudair W, Alqarni MS. The effects of L-arginine in hypertensive patients: A literature review. *Cureus*. 2021; 13(12): e20485. doi: 10.7759/cureus.20485

Сведения об авторах

Щербак Владимир Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: shcherbak2001@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2032-7612>

Медведева Анастасия Сергеевна – аспирант кафедры педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: nastena1996.09@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9173-0161>

Аксенова Татьяна Александровна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: tatianaks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4957-5908>

Щербак Наталья Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент, ассистент кафедры педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: natalia.shcherbak@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2472-6952>

Аксенов Константин Олегович – ординатор кафедры факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: aks.kosta2009@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5101-462X>

Information about the authors

Vladimir A. Shcherbak – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Pediatric Department, Faculty of Additional Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: shcherbak2001@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2032-7612>

Anastasiya S. Medvedeva – Postgraduate at the Pediatric Department, Faculty of Additional Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: nastena1996.09@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9173-0161>

Tatiana A. Aksenova – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Propaedeutic of Internal Diseases, Chita State Medical Academy, e-mail: tatianaks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4957-5908>

Natalia M. Shcherbak – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Pediatric Department, Faculty of Additional Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: natalia.shcherbak@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2472-6952>

Konstantin O. Aksenov – Resident at the Department of Intermediate-Level Surgery with the Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: aks.kosta2009@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5101-462X>

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ FоxP3⁺ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ И ТОЛЩИНЫ ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Кологривова И.В.,
Харитонов О.А.,
Дмитрюков А.А.,
Кравченко Е.С.,
Кошельская О.А.,
Суслова Т.Е.

Научно-исследовательский институт
кардиологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр
Российской академии наук
(634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кологривова Ирина Вячеславовна,
e-mail: ikologrivova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Увеличение толщины эпикардиальной жировой ткани (ЭЖТ) ассоциируется с развитием воспаления и сердечно-сосудистых осложнений, однако данные о взаимосвязи между утолщением ЭЖТ и количеством регуляторных Т-лимфоцитов отсутствуют.

Целью исследования являлось изучение содержания циркулирующих Т-регуляторных лимфоцитов и ядерной транслокации фактора FоxP3 у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) в зависимости от толщины эпикардиальной жировой ткани.

Методы. Обследовано 30 пациентов с хронической стабильной ИБС. Толщину ЭЖТ измеряли методом эхокардиографии. Пациенты были разделены на группы в зависимости от отсутствия и наличия утолщения ЭЖТ более 5 мм (группы 1 и 2 соответственно). Методом проточной цитометрии с визуализацией определяли содержание Т-регуляторных лимфоцитов и уровень ядерной транслокации FоxP3. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли содержание цитокинов и высокочувствительного С-реактивного белка (вЧСРБ).

Результаты. В группе 2 выявлено увеличение содержания холестерина липопротеинов низкой плотности ($p = 0,043$), соотношения холестерина липопротеинов низкой плотности к холестеролу липопротеинов высокой плотности ($p = 0,017$) и концентрации вЧСРБ ($p = 0,044$) и IL-1 β ($p = 0,005$) и снижение относительного и абсолютного содержания Т-регуляторных лимфоцитов ($p = 0,020$ и $p = 0,026$ соответственно), а также количества клеток с ядерной транслокацией FоxP3 ($p = 0,018$) по сравнению с группой 1. По данным множественной логистической регрессии концентрации вЧСРБ, IL-1 β и доля Т-регуляторных лимфоцитов в совокупности являлись предикторами наличия утолщения ЭЖТ.

Заключение. Утолщение эпикардиальной жировой ткани у пациентов с ИБС ассоциируется со снижением содержания Т-регуляторных лимфоцитов в крови и ядерной транслокации фактора FоxP3 в них при сопоставимых антропометрических параметрах ожирения и выраженности коронарного атеросклероза.

Ключевые слова: эпикардиальная жировая ткань, Т-регуляторные лимфоциты, FоxP3, интерлейкин-1 β , липиды, проточная цитометрия с визуализацией, атеросклероз

Для цитирования: Кологривова И.В., Харитонов О.А., Дмитрюков А.А., Кравченко Е.С., Кошельская О.А., Суслова Т.Е. Взаимосвязь содержания FоxP3⁺ Т-регуляторных лимфоцитов и толщины эпикардиальной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 42-52. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.5

Статья поступила: 17.03.2023

Статья принята: 10.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

ASSOCIATION OF FoxP3⁺ T REGULATORY LYMPHOCYTES WITH EPICARDIAL ADIPOSE TISSUE THICKNESS IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

Kologrivova I.V.,
Kharitonova O.A.,
Dmitriukov A.A.,
Kravchenko E.S.,
Koshelskaya O.A.,
Suslova T.E.

Cardiology Research Institute,
Tomsk National Research Medical
Center, Russian Academy of Sciences
(Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012,
Russian Federation)

Corresponding author:
Irina V. Kologrivova,
e-mail: ikologrivova@gmail.com

ABSTRACT

Background. Increase of the epicardial adipose tissue (EAT) thickness is associated with development of inflammation and cardiovascular complications, however, there is no data on the relationship between EAT thickening and the number of immunosuppressive regulatory T lymphocytes.

The aim. To study the number of circulating T regulatory lymphocytes and nuclear translocation of the FoxP3 transcription factor in patients with stable coronary heart disease (CHD) depending on the epicardial adipose tissue thickness.

Materials and methods. We examined 30 patients with chronic stable CHD. The EAT thickness was measured by echocardiography. Patients were divided into groups depending on the presence and absence of EAT thickening above 5 mm (groups 1 and 2, respectively). Imaging flow cytometry was used to determine the number of T regulatory lymphocytes and the level of FoxP3 nuclear translocation. The concentration of cytokines and high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) was determined using enzyme-linked immunosorbent assay in blood serum.

Results. Anthropometric indicators of obesity and the severity of atherosclerosis were comparable between groups. In group 2, there was an increase in low-density lipoprotein cholesterol concentration ($p = 0.043$), ratio of low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol ($p = 0.017$) and the concentration of hsCRP ($p = 0.044$) and IL-1 β ($p = 0.005$), a decrease in the number and relative count of T regulatory lymphocytes ($p = 0.020$ and $p = 0.026$, respectively), as well as the number of cells with FoxP3 nuclear translocation ($p = 0.018$) compared to group 1. According to multiple logistic regression, the concentration of hsCRP, IL-1 β and T regulatory lymphocytes relative count in total were the predictors of EAT thickening (accuracy 80 %; sensitivity 75 %; specificity 84,6 %; AUC = 0.89).

Conclusions. Thickening of epicardial adipose tissue in patients with coronary heart disease is associated with a decrease in the number of T regulatory lymphocytes and FoxP3 nuclear translocation in them in presence of comparable anthropometric parameters of obesity and the severity of coronary atherosclerosis.

Key words: epicardial adipose tissue, T regulatory lymphocytes, FoxP3, interleukin 1 β , lipids, imaging flow cytometry, atherosclerosis

Received: 17.03.2022
Accepted: 10.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Kologrivova I.V., Kharitonova O.A., Dmitriukov A.A., Kravchenko E.S., Koshelskaya O.A., Suslova T.E. Association of FoxP3⁺ T regulatory lymphocytes with epicardial adipose tissue thickness in patients with coronary heart disease. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 42-52. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.5

ОБОСНОВАНИЕ

Эпикардальная жировая ткань (ЭЖТ) представляет собой уникальное жировое депо, локализованное между миокардом и висцеральным слоем эпикарда. ЭЖТ тесно связана с тканью сердца как анатомически, так и функционально и вносит вклад в патогенез целого ряда сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца (ИБС), фибрилляция предсердий и сердечная недостаточность [1].

Увеличение толщины ЭЖТ, определяемое методом эхокардиографии, является отражением эктопического отложения жира, что ассоциируется с повышенным кардиоваскулярным риском [2, 3].

Показано, что содержание иммунных клеток в ЭЖТ является наибольшим по сравнению с другими жировыми депо и составляет порядка 20 % от общего количества клеток [4]. ЭЖТ у пациентов с ИБС характеризуется выраженным воспалением, ассоциированным с инфильтрацией макрофагами с преимущественно провоспалительным M1-фенотипом, тучными клетками и цитотоксическими Т-лимфоцитами, причём выраженность воспаления в ЭЖТ, как правило, превышает таковую не только в подкожной жировой ткани (ПЖТ), но и в любом другом висцеральном жировом депо, а толщина ЭЖТ прямо коррелирует с тяжестью воспаления в ней [1].

Регуляторные Т-лимфоциты (Treg) представляют собой отдельную важную субпопуляцию Т-лимфоцитов, которая обеспечивает защиту от развития аутоиммунных реакций и избыточного иммунного ответа. Наиболее охарактеризована субпопуляция $CD4^+CD25^{hi}FoxP3^+$ Treg, которая в норме составляет 5–10 % от всех $CD4^+$ Т-клеток периферической крови и лимфоидных органов. Дефицит Treg-клеток ассоциируется с наличием признаков субклинического воспаления у пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска и увеличением содержания высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) [5]. Treg-лимфоциты осуществляют иммуносупрессорную функцию как контактно, за счёт непосредственного межрецепторного взаимодействия, так и за счёт секреции противовоспалительных цитокинов. Ключевыми цитокинами Treg-лимфоцитов являются интерлейкин (IL) 10 и трансформирующий фактор роста (TGF, transforming growth factor) β [6], в то время как IL-1 β подавляет их активность [7]. Было показано, что состояние липидного обмена, в том числе активность пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9), также является критически важным в поддержании гомеостаза Treg [8, 9]. В процессе активации Treg-лимфоцитов экспрессия молекулы CD25 может снижаться, появляются клетки с фенотипом $CD4^+CD25^{lo}FoxP3^+$. Причём количество этих клеток возрастает при активном аутоиммунном воспалении [10].

Супрессорная активность Treg в значительной степени зависит от стабильной экспрессии и активности транскрипционного фактора FoxP3. При нарушении внутриклеточного сигналинга наблюдается нарушение транслокации FoxP3 в ядро, что сопровождается дисфункцией Treg [11], однако посттрансляционная регу-

ляция активности FoxP3 привлекла внимание исследователей сравнительно недавно, и многие вопросы остаются неизученными.

Показано существование резидентных Treg-лимфоцитов жировой ткани, которые вносят вклад в поддержание чувствительности тканей к инсулину посредством подавления избыточного воспаления. Висцеральная жировая ткань наиболее обогащена Treg-лимфоцитами, содержание которых может достигать 50 % от всех $CD4^+$ Т-клеток [12]. Жировые Treg отличаются особым репертуаром Т-клеточных рецепторов (TCR, T cell receptor), продуцируют больше IL-10 и зависят от регуляции PPAR- γ , в отличие от Treg лимфоидного происхождения [12].

Однако большинство сведений о роли Treg в регуляции функциональных свойств висцеральной жировой ткани были получены на животных моделях, а исследования в человеческой популяции являются противоречивыми. Так, при оценке мРНК FoxP3 оказалось, что висцеральная жировая ткань у пациентов с ожирением содержала меньше FoxP3 мРНК, чем висцеральная жировая ткань у людей с нормальным весом [13]. В то же время в других исследованиях экспрессия FoxP3 при ожирении, напротив, возрастала [14]. Учитывая, что Treg в жировой ткани, наиболее вероятно, имеют тимическое происхождение [15], интерес представляет изучение того, связаны ли изменения, происходящие в ЭЖТ у пациентов с ИБС, с системной дисфункцией иммунорегуляции и взаимосвязаны ли они с содержанием циркулирующих Treg-лимфоцитов.

Целью настоящего исследования стало изучение содержания $CD25^{hi}FoxP3^+CD4^+$ и $CD25^{lo}FoxP3^+CD4^+$ Treg-лимфоцитов, а также субклеточной локализации FoxP3 в них у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца в зависимости от толщины эпикардальной жировой ткани.

МЕТОДЫ

Проведено наблюдательное одноцентровое одномоментное сравнительное исследование. Исследование включало 30 пациентов (22 мужчины и 8 женщин) в возрасте от 44 до 78 лет с хронической стабильной ИБС.

Все процедуры были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками от 2004 г. и «Правилами надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ № 200н от 01.04.2016. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института кардиологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 210 от 18.02.2021). Все лица, включённые в исследование, подписали информированное согласие на участие.

В исследование вошли только те пациенты, у которых предварительно по показаниям были проведе-

ны процедуры коронарной ангиографии и эхокардиографии с определением толщины ЭЖТ. Селективная коронарная ангиография проводилась на ангиографическом комплексе Artis One (Siemens Shenzhen Magnetic Resonance Ltd., Китай) и компьютерной системе Digitron-3NAC (Siemens Shenzhen Magnetic Resonance Ltd., Китай). Тяжесть коронарного атеросклероза оценивали путём расчёта индекса Gensini Score [16].

Измерение толщины ЭЖТ проводилось по свободной стенке правого желудочка в конце диастолы [2, 17] в точке перпендикулярного направления ультразвукового луча по отношению к свободной стенке правого желудочка с использованием аортального кольца в качестве анатомического ориентира. Толщину ЭЖТ определяли, исходя из среднего значения эхокардиографических данных, полученных в трёх последовательных сердечных циклах. Толщину ЭЖТ (тЭЖТ) более 5 мм считали утолщением ЭЖТ [18]. Все пациенты были разделены на две группы: группа 1 – без утолщения ЭЖТ (тЭЖТ ≤ 5 мм); группа 2 – с утолщением ЭЖТ (тЭЖТ > 5 мм).

К критериям исключения относились: острые атеросклеротические осложнения в предшествующие 6 месяцев; любое острое воспалительное заболевание; наличие текущего или рецидивирующего инфекционного заболевания; хроническая болезнь почек выше С3б класса; наличие онкологических, гематологических или аутоиммунных заболеваний; отказ от участия в исследовании.

Всем пациентам были выполнены антропометрические измерения для оценки общей степени ожирения (был рассчитан индекс массы тела (ИМТ)) и абдоминального ожирения (была измерена окружность талии).

Все пациенты находились на регулярной медикаментозной терапии, приближающейся к оптимальной.

Материалом для исследования являлась венозная кровь, взятая утром натощак. Кровь собирали в пробирки с гепарином и пробирки с активатором свёртывания. Пробирки с активатором свёртывания центрифугировали при ускорении 1500 g. После центрифугирования сыворотку крови отбирали в пластиковые микропробирки, замораживали при -40°C и хранили до последующего исследования.

Мононуклеарные лейкоциты получали из крови с гепарином методом центрифугирования на градиенте плотности (Histopaque 1077, Sigma Aldrich, США). Для оценки содержания $\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{hi}}\text{FoxP3}^+$ и $\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{lo}}\text{FoxP3}^+$ Treg-лимфоцитов клетки окрашивали моноклональными антителами к поверхностным антигенам (анти-CD4, конъюгированный с флуорохромом FITC; анти-CD25, конъюгированный с флуорохромом PE) (Becton Dickinson, США), фиксировали и пермеабилizировали клетки с помощью набора буферов для внутриклеточного и внутриядерного окрашивания (Becton Dickinson, США). Затем клетки окрашивали моноклональными антителами к FoxP3, конъюгированными с флуорохромом AF647 (Becton Dickinson, США), фиксировали и добавляли 7-аминоактиномицин D (7-AAD) для окрашивания ядра. Сбор клеток проводили на приборе Amnis FlowSight (Luminex, США) с ла-

зерами 488 нм и 642 нм в программе INSPIRE (Amnis Corporation, США). Для анализа субклеточной локализации FoxP3 применяли программу IDEAS 2.0 (Amnis Corporation, США), включающую мастер для анализа изображений клеток Nuclear Localization Wizard. Результаты выражали в виде % позитивных клеток от исковой популяции. Рассчитывали абсолютное количество клеток в периферической крови по данным общего анализа крови.

С помощью твёрдофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови оценивали концентрацию вЧСПБ, IL-10, IL-1 β (все наборы – Вектор-Бест, Россия), TGF- β (набор Invitrogen, ThermoFisher Scientific, Австрия), PCSK9 (набор R&D Systems, Bio-technique, США).

Исследовали липидный спектр крови (содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП), ХС липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП)) (наборы ЗАО «Диакон-ДС», Россия). Содержание глюкозы и гликированного гемоглобина в крови оценивали на автоматических анализаторах Konelab 60i (ThermoFisher Scientific, США) и Cobas 6000 C501 (Rosche, США) соответственно. Рассчитывали соотношение ХС-ЛНП/ХС-ЛВП.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Результаты представляли в виде медианы и интерквартильного интервала (Me (Q1; Q3)). Критерий Шапиро – Уилка использовали для проверки гипотезы о нормальности распределения количественных показателей. В связи с тем, что распределение количественных показателей отличалось от нормального, оценку статистической значимости различий количественных показателей в независимых группах пациентов проводили с помощью U-критерия Манна – Уитни. Частоты встречаемости в независимых группах пациентов сравнивали по χ^2 -критерию Пирсона или по точному критерию Фишера. Для оценки взаимосвязи признаков использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r_s). Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне $p < 0,05$. Для выявления статистически значимых факторов, влияющих на увеличение толщины эпикардальной жировой ткани, была построена модель множественной логистической регрессии, для оценки качества которой была построена ROC-кривая (Receiver Operator Characteristic) и были рассчитаны площадь под кривой (AUC, area under curve), точность, чувствительность и специфичность модели.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Группы пациентов с толщиной ЭЖТ ≤ 5 мм и > 5 мм были сопоставимы между собой по полу, возрасту, наличию и продолжительности сахарного диабета (СД) 2-го типа и артериальной гипертензии (АГ), статусу курения, антропометрическим показателям ожирения и выраженности атеросклероза. (табл. 1). Частота приёма препаратов статинов и вид принимаемо-

го препарата (аторвастатин/розувастатин) в подгруппах пациентов не различались (табл. 1), однако дозировки принимаемых препаратов были выше в группе пациентов с большей толщиной ЭЖТ: 20 (20; 40) против 40 (40; 60) мг/сут. для аторвастатина ($p = 0,019$) и 20 (10; 20) против 30 (20; 40) мг/сут. для розувастатина ($p = 0,030$)).

При оценке метаболических показателей оказалось, что пациенты с толщиной ЭЖТ > 5 мм характеризовались большими концентрациями ХС-ЛНП и величиной соотношения ХС-ЛНП/ХС-ЛВП (несмотря на более интен-

сивную терапию статинами), а также имели тенденцию к уменьшению содержания ХС-ЛВП и увеличению концентрации PCSK9. Показатели гликемии в обеих группах были сопоставимы (табл. 2).

У пациентов с ЭЖТ > 5 мм мы выявили снижение относительного и абсолютного содержания CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов, а также снижение абсолютного содержания CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов с внутриадерной локализацией FoxP3 (рис. 1). Содержание CD25^{lo}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов в исследуемых группах не различалось (рис. 1).

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ТОЛЩИНЫ ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Показатели	Пациенты с тЭЖТ ≤ 5 мм ($n = 14$)	Пациенты с тЭЖТ > 5 мм ($n = 16$)	p
Пол: муж./жен.	10/4	12/4	0,999
Возраст, лет	67 (59; 69)	61 (58; 67)	0,224
Наличие АГ, n (%)	14 (100)	15 (93,8)	0,998
Продолжительность АГ, лет	19,5 (15,0; 30,0)	15,0 (12,0; 20,0)	0,217
Наличие СД 2-го типа, n (%)	7 (50)	4 (25)	0,477
Продолжительность СД, лет	0,5 (0; 5)	0 (0; 2)	0,652
ИМТ, кг/м ²	29,2 (25,7; 31,9)	27,0 (24,3; 32,1)	0,854
Окружность талии, см	100 (96; 105)	100,6 (93,0; 111,5)	0,697
тЭЖТ, мм	4,8 (3,9; 5,0)	9,1 (7,8; 11,4)	$< 0,001$
Gensini Score, баллы	30,0 (17,5; 77,0)	53,0 (38,8; 68,5)	0,313
Табакокурение, n (%)	3 (21,4)	8 (50,0)	0,142
Приём статинов, n (%)	14 (100)	15 (93,8)	0,998
Аторвастатин, n (%)	9 (64,3)	8 (50,0)	0,484
Розувастатин, n (%)	5 (35,7)	7 (43,7)	0,722

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS
DEPENDING ON EPICARDIAL ADIPOSE TISSUE THICKNESS

ТАБЛИЦА 2
МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПАЦИЕНТОВ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТОЛЩИНЫ ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ
ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Показатели	Пациенты с тЭЖТ ≤ 5 мм ($n = 14$)	Пациенты с тЭЖТ > 5 мм ($n = 16$)	p
Глюкоза натощак, мМ	6,3 (5,3; 6,8)	5,8 (5,2; 7,6)	0,886
Гликированный гемоглобин, %	6,1 (5,8; 8,3)	6,2 (6,0; 6,6)	0,701
Общий холестерол, мМ	3,3 (2,9; 3,8)	4,2 (3,0; 5,4)	0,154
Триглицериды, мМ	1,2 (0,8; 1,9)	1,6 (1,1; 2,1)	0,240
ХС-ЛНП, мМ	1,6 (1,1; 2,1)	2,4 (1,5; 2,8)	0,043
ХС-ЛВП, мМ	1,1 (1,0; 1,3)	1,0 (0,8; 1,1)	0,077
ХС-ЛНП/ХС-ЛВП	1,4 (0,9; 1,9)	2,0 (1,6; 3,0)	0,017
PCSK9, нг/мл	211,1 (180,7; 244,5)	273,9 (199,3; 294,8)	0,087

TABLE 2
METABOLIC PARAMETERS OF PATIENTS
DEPENDING ON EPICARDIAL ADIPOSE TISSUE THICKNESS

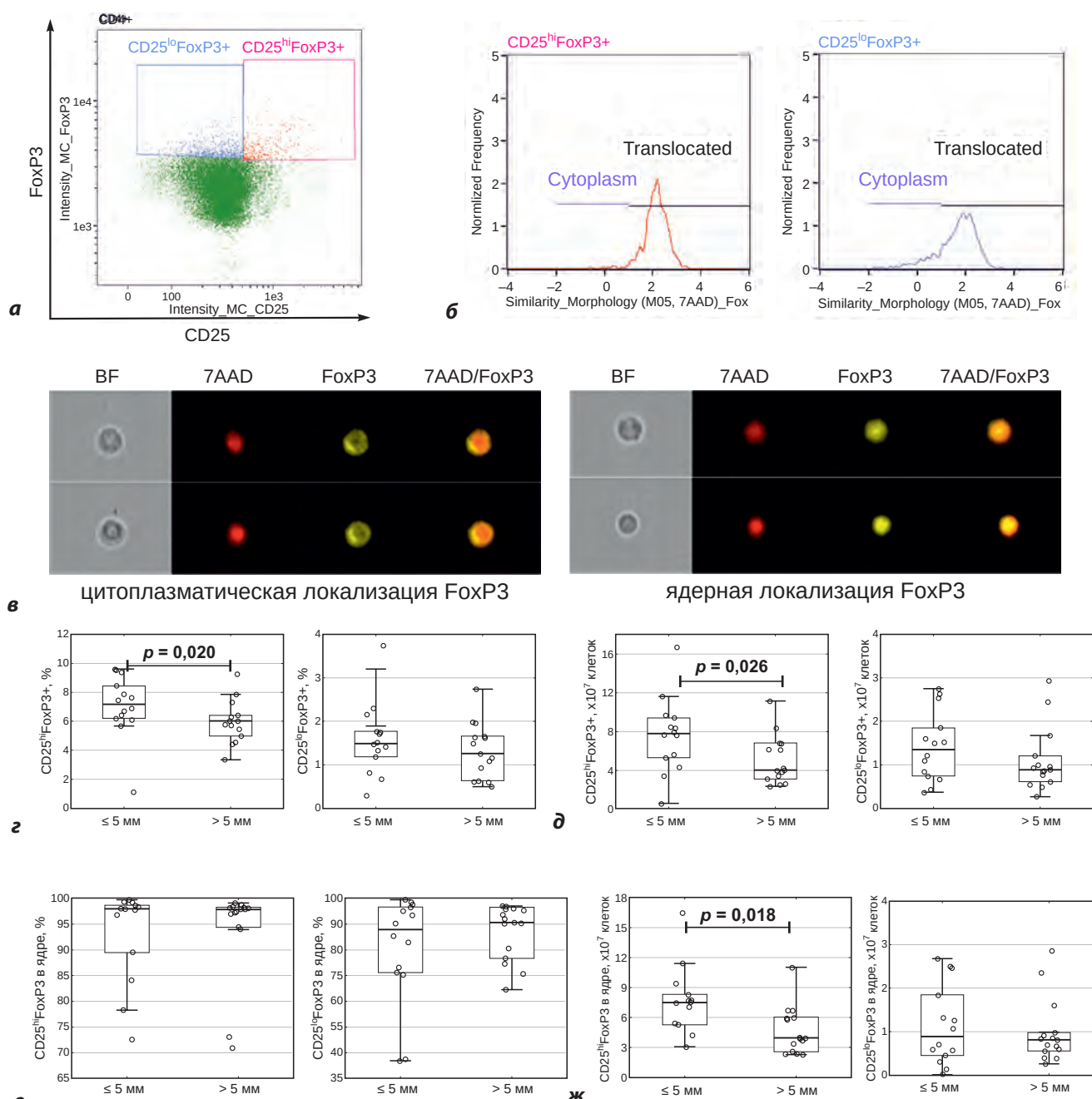


РИС. 1.

Содержание FoxP3⁺ T-регуляторных лимфоцитов и транслокация FoxP3 в ядро: **а** – пример точечной диаграммы, отражающей содержание CD25^{hi}FoxP3⁺- и CD25^{lo}FoxP3⁺-клеток среди CD4⁺-лимфоцитов; **б** – гистограммы, отражающие степень транслокации FoxP3 в ядро; **в** – примеры клеточных изображений, полученных методом проточной цитометрии с визуализацией с цитоплазматической и ядерной локализацией FoxP3 (ядро окрашено красным, FoxP3 окрашен жёлтым); **г** – относительное содержание CD25^{hi}FoxP3⁺- и CD25^{lo}FoxP3⁺-клеток при разной тЭЖТ; **д** – абсолютное содержание CD25^{hi}FoxP3⁺- и CD25^{lo}FoxP3⁺-клеток при разной тЭЖТ; **е** – доля клеток с ядерной локализацией FoxP3 среди CD25^{hi}FoxP3⁺- и CD25^{lo}FoxP3⁺-клеток при разной тЭЖТ; **ж** – абсолютное содержание CD25^{hi}FoxP3⁺- и CD25^{lo}FoxP3⁺-клеток с ядерной локализацией FoxP3 при разной тЭЖТ

FIG. 1.

Number of FoxP3⁺ T regulatory lymphocytes and FoxP3 nuclear translocation: **а** – example of dot plot describing frequency of CD25^{hi}FoxP3⁺ and CD25^{lo}FoxP3⁺ cells among CD4⁺ lymphocytes; **б** – histograms displaying the degree of FoxP3 nuclear translocation; **в** – examples of images obtained during imaging flow cytometry of cells with cytoplasmic and nuclear FoxP3 localization (nucleus is red, FoxP3 is yellow); **г** – relative count of CD25^{hi}FoxP3⁺ and CD25^{lo}FoxP3⁺ cells at various EAT thickness; **д** – number of CD25^{hi}FoxP3⁺ and CD25^{lo}FoxP3⁺ cells at various EAT thickness; **е** – relative count of cells with FoxP3 nuclear localization among CD25^{hi}FoxP3⁺ and CD25^{lo}FoxP3⁺ cells at various EAT thickness; **ж** – number of CD25^{hi}FoxP3⁺ and CD25^{lo}FoxP3⁺ cells with FoxP3 nuclear localization at various EAT thickness

ТАБЛИЦА 3
СОДЕРЖАНИЕ КЛЮЧЕВЫХ ЦИТОКИНОВ И ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА У ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТОЛЩИНЫ ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Показатели	Пациенты с тЭЖТ ≤ 5 мм (n = 13)	Пациенты с тЭЖТ > 5,4 мм (n = 13)	p
вчСРБ, мг/л	2,1 (1,0; 4,5)	4,9 (3,1; 17,5)	0,044
TGF-β, нг/мл	36,2 (29,1; 38,2)	36,6 (32,4; 42,4)	0,948
IL-10, пг/мл	1,9 (1,7; 3,2)	2,3 (1,8; 2,6)	0,545
IL-1β, пг/мл	0,7 (0,5; 0,9)	1,1 (0,9; 1,4)	0,005

TABLE 3
CONTENT OF KEY CYTOKINES AND HIGH-SENSITIVE C-REACTIVE PROTEIN IN PATIENTS DEPENDING ON EPICARDIAL ADIPOSE TISSUE THICKNESS

ТАБЛИЦА 4
ОЦЕНКИ КОЭФФИЦИЕНТОВ МОДЕЛИ ЛОГИСТИЧЕСКОЙ РЕГРЕССИИ И ИХ УРОВНЕЙ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ

Показатели	Оценка коэффициента	p
Свободный член	0,228	0,929
вчСРБ, мг/л	-0,101	0,283
IL-1β, пг/мл	-2,378	0,101
CD25 ^{hi} FoxP3 ⁺ Treg, %	0,461	0,143

TABLE 4
VALUES OF THE MULTIPLE LOGISTICS REGRESSION MODEL AND THEIR STATISTICAL SIGNIFICANCE LEVEL

Содержание провоспалительных вчСРБ и IL-1β было выше у пациентов с толщиной ЭЖТ > 5 мм при сопоставимых концентрациях TGF-β и IL-10, ключевых цитокинов Treg-лимфоцитов (табл. 3).

В общей группе пациентов с ИБС содержание CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов отрицательно коррелировало с концентрацией триглицеридов ($r_s = -0,345$; $p = 0,034$) и соотношением триглицериды/ХС-ЛВП ($r_s = -0,388$; $p = 0,016$), а абсолютное содержание CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов и CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов с внутриядерной локализацией FoxP3 было отрицательно взаимосвязано с концентрацией IL-1β ($r_s = -0,374$; $p = 0,038$ и $r_s = -0,389$; $p = 0,031$ соответственно). Только в группе пациентов с толщиной ЭЖТ ≤ 5 мм мы выявили обратную взаимосвязь между содержанием PCSK9 и абсолютным содержанием CD25^{lo}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов ($r_s = -0,608$; $p = 0,036$). У пациентов с большей толщиной ЭЖТ данная взаимосвязь отсутствовала.

По данным корреляционного анализа, толщина ЭЖТ у всех пациентов с ИБС положительно коррелировала с ИМТ ($r_s = 0,336$; $p = 0,037$), окружностью талии ($r_s = 0,379$; $p = 0,017$), сывороточными концентрациями вчСРБ ($r_s = 0,400$; $p = 0,019$) и IL-1β ($r_s = 0,444$; $p = 0,008$) и отрицательно – с относительным содержанием CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов ($r_s = -0,353$; $p = 0,032$).

Мы построили модель множественной логистической регрессии, в соответствии с которой значимыми предикторами утолщения ЭЖТ у пациентов являлись концентрация вчСРБ, концентрация IL-1β и относительное содержание CD25^{hi}FoxP3⁺ T-регуляторных лимфоцитов (табл. 4).

Несмотря на то, что индивидуальный вклад каждого из предикторов в модели по отдельности был статистически не значим, уровень статистической значимости модели в целом был высоким ($p = 0,00403$). Прогностические характеристики модели: точность 80,0 %, чувствительность 75,0 %, специфичность 84,6 %, AUC = 0,891. ROC-кривая модели приведена на рисунке 2. Пороговая вероятность разной степени выраженности утолщения ЭЖТ составила 0,63.

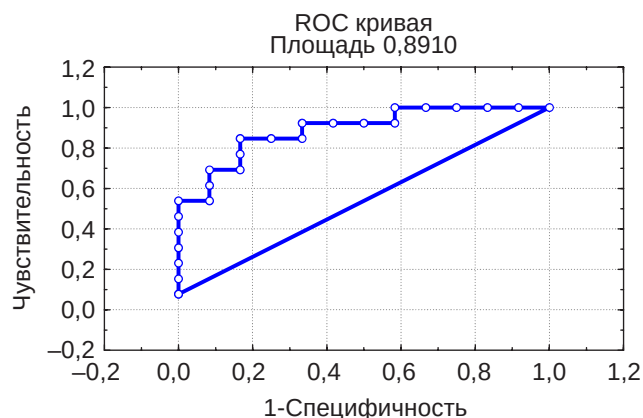


РИС. 2.
ROC-кривая модели множественной логистической регрессии для классификации пациентов в группы с наличием и отсутствием утолщения толщины эпикардиальной жировой ткани более 5 мм

FIG. 2.
ROC-curve of the multiple logistics regression for classification of patients into groups with presence and absence of epicardial adipose tissue thickening above 5 mm

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что увеличение толщины ЭЖТ ассоциируется с возрастанием локальной продукции и накоплением провоспалительных цитокинов [19], взаимосвязь между свойствами данного жирового депо и FoxP3⁺ Т-лимфоцитами, важными регуляторами интенсивности воспалительного ответа, долгое время оставалась неизученной. В нашем исследовании мы впервые показали, что большая толщина ЭЖТ у пациентов с ИБС при сопоставимых антропометрических параметрах общего ожирения (ИМТ, окружность талии) и выраженности коронарного атеросклероза (индекс Gensini Score) ассоциируется со снижением относительного и абсолютного содержания Treg в периферической крови, причём снижается также абсолютное количество клеток с внутридермальной локализацией FoxP3.

Взаимосвязь между развитием воспаления и утолщением ЭЖТ может быть амбивалентной. Утолщение ЭЖТ было выявлено при многих воспалительных заболеваниях, включая ревматоидный артрит, псориаз, множественный склероз, инфицирование вирусом иммунодефицита человека [19]. В то же время условия воспаления провоцируют усиление адипогенеза, хотя изначально данный процесс носит защитный характер [20].

Сведения о взаимосвязи между FoxP3⁺ Treg и аккумуляцией ЭЖТ отсутствуют. Тем не менее, известно, что Treg-лимфоциты способны взаимодействовать с адипоцитами и другими иммунными клетками подкожной и висцеральной жировой ткани [21]. Показано, что при адаптивном переносе циркулирующие Treg-клетки животных имеют тропность к жировой ткани, где они способствуют экспрессии мРНК генов, регулирующих термогенез, и трансформации подкожной и эпидидимальной белой жировой ткани в бежевую, что благотворно сказывается на поддержании благоприятного метаболического профиля [21]. Это приобретает особое значение, поскольку у здоровых людей адипоциты ЭЖТ имеют фенотип, близкий к бурой жировой ткани, а при накоплении эпикардального жира меняют свои свойства и приобретают всё больше черт белой жировой ткани [19].

Сохранность иммунорегуляторной функции при ожирении зависит от локализации клеток. Так, развитие ожирения ассоциировалось со снижением относительного и абсолютного количества Treg-лимфоцитов в висцеральной жировой ткани, однако Treg в подкожной жировой ткани и селезёнке оставались интактными [12, 14]. Несмотря на то, что мы показали обратную взаимосвязь между содержанием FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов в периферической крови и толщиной ЭЖТ, необходимо дальнейшее изучение клеточного состава собственно стромально-сосудистой фракции ЭЖТ, поскольку количество Treg-клеток в ней и субклеточная локализация FoxP3 могут отличаться от циркуляторного пула. Поэтому интерес для дальнейших исследований представляет сравнительный анализ содержания Treg в циркуляции и эпикардальном жировом депо с последующей оценкой взаимосвязи данных параметров с тЭЖТ.

Можно предположить ряд механизмов, которые могли вызывать снижение содержания Treg-лимфоцитов у пациентов с большей толщиной ЭЖТ. Пациенты с толщиной ЭЖТ > 5 мм характеризовались повышением содержания ХС-ЛНП и соотношения ХС-ЛНП/ХС-ЛВП. Учитывая, что терапия статинами в данной группе пациентов была более интенсивной, наиболее вероятно, это связано с исходно более неблагоприятным липидным профилем у этих больных. В недавнем исследовании было показано, что увеличение содержания ХС-ЛНП ассоциировалось с провоспалительными изменениями в ЭЖТ у пациентов с хронической ИБС [22]. Известно, что повышение концентрации ЛНП непосредственно способно вызывать нарушение относительного содержания, функции, стабильности и миграционной активности Treg-клеток, таким образом, способствуя прогрессированию воспаления у пациентов с атеросклерозом [23]. В то же время дозы статинов у всех пациентов, включённых в наше исследование, были относительно невысокими в связи с развитием побочных эффектов или достижением максимально переносимой дозы препарата. Известны плейотропные эффекты статинов, в том числе и в отношении Treg-лимфоцитов, не связанные с их гиполипидемическим действием. Так, было показано, что интенсификация терапии аторвастатином (увеличение дозировки с 20 до 80 мг/сут.) приводила к увеличению содержания Treg-лимфоцитов у пациентов со стабильной ИБС, в то время как возрастание дозировки гидрофильного розувастатина подобного эффекта не вызывало [24]. Однако следует отметить, что культивирование Treg-клеток с высокими дозами аторвастатина *in vitro* приводило к снижению их иммуносупрессорных свойств и уменьшению экспрессии ключевых молекул, в том числе и транскрипционного фактора FoxP3 [25]. Актуальным является проведение проспективных исследований, направленных на более пристальное изучение гиполипидемических и плейотропных эффектов статинов в отношении содержания и функциональной активности Treg-лимфоцитов в сопоставлении с изучением состояния ЭЖТ у пациентов с ИБС. К тому же приверженность пациентов к терапии статинами в рамках нашей работы не изучалась, но потенциально могла оказать влияние на полученные результаты.

У пациентов с большей толщиной ЭЖТ мы обнаружили тенденцию к увеличению концентрации PCSK9. PCSK9, основной пул которой продуцируется гепатоцитами, регулирует липидный обмен, способствуя лизосомальной деградации рецептора липопротеинов низкой плотности [26]. Было показано, что PCSK9 влияет также на работу иммунной системы: подавление экспрессии гена *PCSK9* приводило к увеличению продукции IL-10, TGF- β и Treg-лимфоцитов [27]. Однако несмотря на важную роль PCSK9 в поддержании гомеостаза Treg-лимфоцитов и регуляции липидного обмена, изменение её концентрации у пациентов в зависимости от толщины ЭЖТ было лишь на уровне тенденции, а взаимосвязи с содержанием субпопуляций FoxP3⁺-клеток при большей толщине ЭЖТ отсутствовали. Требуется проведение дальнейших исследований для выяснения места PCSK9

в развитии эпикардального ожирения и иммунорегуляторного дисбаланса у пациентов высокого сердечно-сосудистого риска.

При утолщении ЭЖТ мы не выявили изменения содержания ключевых факторов роста Treg-лимфоцитов, TGF- β и IL-10. Однако дефицит Treg-клеток ассоциировался с увеличением содержания провоспалительного цитокина IL-1 β и маркера системного воспаления vCRP, которые в комплексе с относительным содержанием CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов детерминировали увеличение толщины ЭЖТ. В исследовании, выполненном ранее другой группой ученых, также была показана взаимосвязь между циркуляторной концентрацией vCRP и толщиной ЭЖТ у пациентов с метаболическим синдромом [28]. По результатам исследования CANTOS, ингибирование IL-1 β препаратом моноклональных антител канакиумабом у пациентов с концентрацией vCRP > 2 мг/л, перенёвших инфаркт миокарда, сопровождалось снижением числа неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [29]. Учитывая выявленную в нашем пилотном исследовании взаимосвязь между толщиной ЭЖТ и провоспалительными биомаркерами, важно учитывать свойства эпикардального жирового депо при дальнейшем изучении терапевтических подходов, направленных на контроль воспаления у пациентов с атеросклерозом.

У нашего исследования имеется ряд ограничений, среди которых основными являются небольшой объём выборки, отсутствие проспективного наблюдения за пациентами и отсутствие данных у пациентов без ИБС. Кроме того, в настоящее время отсутствует унифицированный подход к оценке у пациентов толщины ЭЖТ. Несмотря на то, что многие группы исследователей оценивают толщину ЭЖТ в конце систолы [30], оценка толщины ЭЖТ в конце диастолы, подобно тому, как это было выполнено в нашем исследовании, также является оправданной для лучшего соотнесения с результатами, полученными в ходе компьютерной и магнитно-резонансной томографии [2, 17]. Использованное в нашей работе пограничное значение толщины ЭЖТ, равное 5 мм, не является стандартизованным для определения наличия эпикардального ожирения, но было предложено A.G. Bertaso и соавт. (2013) в результате анализа данных наиболее крупных исследований ЭЖТ методом эхокардиографии, выполненных в диастолу [18]. Однако факт обратной взаимосвязи между толщиной ЭЖТ и содержанием Treg-лимфоцитов, выявленный в нашей работе, является основанием для проведения более крупных проспективных исследований, имеющих целью трансляцию полученных данных в клинику, поскольку Treg-лимфоциты характеризуются высоким терапевтическим потенциалом [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведённого пилотного исследования свидетельствуют о снижении содержания CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ Treg-лимфоцитов в периферической крови и ядерной транслокации транскрипционного фак-

тора FoxP3 в них при увеличении толщины эпикардальной жировой ткани у пациентов с ИБС. Выявленные изменения не связаны с антропометрическими параметрами ожирения и тяжестью коронарного атеросклероза и ассоциируются с признаками системного воспаления и более неблагоприятным липидным профилем сыворотки крови.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00010).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Выражение признательности

Авторы данной статьи выражают благодарность Н.Ю. Марголис за помощь в статистической обработке результатов и О.А. Трубачевой за помощь в пробоподготовке образцов для проточной цитометрии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Iacobellis G. Epicardial adipose tissue in contemporary cardiology. *Nat Rev Cardiol*. 2022; 19: 593-606. doi: 10.1038/s41569-022-00679-9
2. Давыдова А.В., Никифоров В.С., Халимов Ю.Ш. Толщина эпикардальной жировой ткани как предиктор сердечно-сосудистого риска. *Consilium Medicum*. 2018; 20(10): 91-94. [Davydova AV, Nikiforov VS, Khalimov YuS. Thickness of epicardial adipose tissue as a predictor of cardiovascular risk. *Consilium Medicum*. 2018; 20(10): 91-94. (In Russ.).] doi: 10.26442/2075-1753_2018.10.91-94
3. Блинова Н.В., Азимова М.О., Жернакова Ю.В., Саидова М.А., Терновой С.К., Железнова Е.А., и др. Оценка эпикардальной жировой ткани методом эхокардиографии в стратификации риска у лиц молодого возраста с абдоминальным ожирением. *Системные гипертензии*. 2020; 17 (4): 74-79. [Blinova NV, Azimova MO, Zhernakova JV, Saidova MA, Ternovoy SK, Zheleznova EA, et al. Assessment of epicardial adipose tissue by echocardiography for risk stratification in young adults with abdominal obesity. *Systemic Hypertension*. 2020; 17(4): 74-79. (In Russ.).] doi: 10.26442/2075082X.2020.4.200557
4. Романцова Т.И. Жировая ткань: цвета, депо и функции. *Ожирение и метаболизм*. 2021; 18(3): 282-301. [Romantsova TI. Adipose tissue: Colors, depots and functions. *Obesity and Metabolism*. 2021; 18(3): 282-301. (In Russ.).] doi: 10.14341/omet12748
5. Кологривова И.В., Кошельская О.А., Сулова Т.Е., Винницкая И.В., Кравченко Е.С., Трубачева О.А. Взаимосвязь факторов воспаления и метаболических параметров при ожирении у пациентов с артериальной гипертонией высокого и очень высокого риска. *Российский кардиологический журнал*. 2018; (5): 27-33. [Kologrivova IV, Koshelskaya OA, Suslova TE, Vinnitskaya IV, Kravchenko ES, Trubacheva OA. Interplay of inflammation and metabolic factors in comorbid obesity and arterial hypertension of high and very high risk. *Russian Journal of Cardiology*. 2018; (5): 27-33. (In Russ.).] doi: 10.15829/1560-4071-2018-5-27-33

6. Foks AC, Lichtman AH, Kuiper J. Treating atherosclerosis with regulatory T cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015; 35(2): 280-287. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303568
7. Feldhoff LM, Rueda CM, Moreno-Fernandez ME, Sauer J, Jackson CM, Chougnat CA, et al. IL-1 β induced HIF-1 α inhibits the differentiation of human FOXP3+ T cells. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 465. doi: 10.1038/s41598-017-00508-x
8. Rueda CM, Rodríguez-Perea AL, Moreno-Fernandez M, Jackson CM, Melchior JT, Davidson WS, et al. High density lipoproteins selectively promote the survival of human regulatory T cells. *J Lipid Res.* 2017; 58(8): 1514-1523. doi: 10.1194/jlr.M072835
9. Wang R, Liu H, He P, An D, Guo X, Zhang X, et al. Inhibition of PCSK9 enhances the antitumor effect of PD-1 inhibitor in colorectal cancer by promoting the infiltration of CD8+ T cells and the exclusion of Treg cells. *Front Immunol.* 2022; 13: 947756. doi: 10.3389/fimmu.2022.947756
10. Ferreira RC, Simons HZ, Thompson WS, Rainbow DB, Yang X, Cutler AJ, et al. Cells with Treg-specific FOXP3 demethylation but low CD25 are prevalent in autoimmunity. *J Autoimmun.* 2017; 84: 75-86. doi: 10.1016/j.jaut.2017.07.009
11. Ni X, Kou W, Gu J, Wei P, Wu X, Peng H, et al. TRAF6 directs FOXP3 localization and facilitates regulatory T-cell function through K63-linked ubiquitination. *EMBO J.* 2019; 38(9): e99766. doi: 10.15252/embj.201899766
12. Zeng Q, Sun X, Xiao L, Xie Z, Bettini M, Deng T. A unique population: Adipose-resident regulatory T cells. *Front Immunol.* 2018; 9: 2075. doi: 10.3389/fimmu.2018.02075
13. Deilulis J, Shah Z, Shah N, Needleman B, Mikami D, Narula V, et al. Visceral adipose inflammation in obesity is associated with critical alterations in T regulatory cell numbers. *PLoS One.* 2011; 6(1): e16376. doi: 10.1371/journal.pone.0016376
14. Donninelli G, Del Cornò M, Pierdominici M, Scazzocchio B, Vari R, Varano B, et al. Distinct blood and visceral adipose tissue regulatory T cell and innate lymphocyte profiles characterize obesity and colorectal cancer. *Front Immunol.* 2017; 8: 643. doi: 10.3389/fimmu.2017.00643
15. Yu Y, Bai H, Wu F, Chen J, Li B, Li Y. Tissue adaptation of regulatory T cells in adipose tissue. *Eur J Immunol.* 2022; 52(12): 1898-1908. doi: 10.1002/eji.202149527
16. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol.* 1983; 51(3): 606. doi: 10.1016/S0002-9149(83)80105-2
17. Eroğlu S. How do we measure epicardial adipose tissue thickness by transthoracic echocardiography? *Anatol J Cardiol.* 2015; 15(5): 416-419. doi: 10.5152/akd.2015.5991
18. Bertaso AG, Bertol D, Duncan BB, Foppa M. Epicardial fat: Definition, measurements and systematic review of main outcomes. *Arq Bras Cardiol.* 2013; 101(1): e18-e28. doi: 10.5935/abc.20130138
19. Packer M. Epicardial adipose tissue may mediate deleterious effects of obesity and inflammation on the myocardium. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 71(20): 2360-2372. doi: 10.1016/j.jacc.2018.03.509
20. Wernstedt Asterholm I, Tao C, Morley TS, Wang QA, Delgado-Lopez F, Wang ZV, et al. Adipocyte inflammation is essential for healthy adipose tissue expansion and remodeling. *Cell Metab.* 2014; 20(1): 103-118. doi: 10.1016/j.cmet.2014.05.005
21. Fang W, Deng Z, Benadjaoud F, Yang D, Yang C, Shi GP. Regulatory T cells promote adipocyte beiging in subcutaneous adipose tissue. *FASEB J.* 2020; 34(7): 9755-9770. doi: 10.1096/fj.201902518R
22. Papotti B, Opstad TB, Åkra S, Tønnessen T, Braathen B, Hansen CH, et al. Macrophage polarization markers in subcutaneous, pericardial, and epicardial adipose tissue are altered in patients with coronary heart disease. *Front Cardiovasc Med.* 2023; 10: 1055069. doi: 10.3389/fcvm.2023.1055069
23. Pinzon Grimaldos A, Bini S, Pacella I, Rossi A, Di Costanzo A, Minicocci I, et al. The role of lipid metabolism in shaping the expansion and the function of regulatory T cells. *Clin Exp Immunol.* 2022; 208(2): 181-192. doi: 10.1093/cei/uxab033
24. Филатова А.Ю., Потехина А.В., Рулева Н.Ю., Радюхина Н.В., Арефьева Т.И. Влияние аторвастатина и розувастатина у пациентов с атеросклерозом на показатели клеточного иммунитета и на активацию лейкоцитов *in vitro*. *Российский кардиологический журнал.* 2018; 23(8): 59-64. [Filatova AYU, Potekhina AV, Ruleva NYu, Radyukhina NV, Arefieva TI. The influence of atorvastatin and rosuvastatin in atherosclerosis on the parameters of cellular immunity and *in vitro* leucocyte activation. *Russian Journal of Cardiology.* 2018; 23(8): 59-64. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2018-8-59-64
25. Rodríguez-Perea AL, Rojas M, Velilla-Hernández PA. High concentrations of atorvastatin reduce *in vitro* function of conventional T and regulatory T cells. *Clin Exp Immunol.* 2019; 196(2): 237-248. doi: 10.1111/cei.13260
26. Seidah NG, Awan Z, Chrétien M, Mbikay M. PCSK9: A key modulator of cardiovascular health. *Circ Res.* 2014; 114(6): 1022-1036. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.301621
27. Frostegård J. The role of PCSK9 in inflammation, immunity, and autoimmune diseases. *Expert Rev Clin Immunol.* 2022; 18(1): 67-74. doi: 10.1080/1744666X.2022.2017281
28. Cho DH, Joo HJ, Kim MN, Lim DS, Shim WJ, Park SM. Association between epicardial adipose tissue, high-sensitivity C-reactive protein and myocardial dysfunction in middle-aged men with suspected metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol.* 2018; 17(1): 95. doi: 10.1186/s12933-018-0735-7
29. Everett BM, MacFadyen JG, Thuren T, Libby P, Glynn RJ, Ridker PM. Inhibition of interleukin-1 β and reduction in atherothrombotic cardiovascular events in the CANTOS trial. *J Am Coll Cardiol.* 2020; 76(14): 1660-1670. doi: 10.1016/j.jacc.2020.08.011
30. Гриценко О.В., Чумакова Г.А., Трубина Е.В. Роль эпикардального ожирения в развитии диастолической дисфункции левого желудочка. *Кардиология.* 2023; 63(7): 32-38. [Gritsenko OV, Chumakova GA, Trubina EV. The role of epicardial obesity in the development of left ventricular diastolic dysfunction. *Kardiologiya.* 2023; 63(7): 32-38. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2023.7.n2120

Сведения об авторах

Колозрикова Ирина Вячеславовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: kiv@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4537-0008>

Харитонова Ольга Анатольевна – младший научный сотрудник отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: hoa@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2818-5882>

Дмитрюков Алексей Александрович – лаборант-исследователь отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: aldmn9k@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6924-966X>

Кравченко Елена Сергеевна – младший научный сотрудник отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: nikonovaes@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1235-9956>

Кошельская Ольга Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: koshel@live.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6679-1269>

Суслова Татьяна Евгеньевна – кандидат медицинских наук, руководитель отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: tes@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9645-6720>

Information about the authors

Irina V. Kologrivova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: kiv@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4537-0008>

Olga A. Kharitonova – Junior Research Officer at the Department of Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: hoa@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2818-5882>

Alexey A. Dmitriukov – Clinical Research Assistant at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: aldmn9k@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6924-966X>

Elena S. Kravchenko – Junior Research Officer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: nikonovaes@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1235-9956>

Olga A. Koshelskaya – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer at the Department of Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: koshel@live.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6679-1269>

Tatiana E. Suslova – Cand. Sc. (Me.), Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: tes@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9645-6720>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ КОМПЛЕКСА ВИДОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

РЕЗЮМЕ

Белькова Н.Л.¹,
Клименко Е.С.¹,
Немченко У.М.¹,
Григорова Е.В.¹,
Ситникова К.О.¹,
Зугеева Р.Е.¹,
Смурова Н.Е.¹,
Чемезова Н.Н.^{1,2},
Савилов Е.Д.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Белькова Наталья Леонидовна,
e-mail: nlbelkova@gmail.com

Комплекс видов *Klebsiella pneumoniae* (Kp) представляет собой генетически и экологически разнообразную группу бактерий, вызывающую широкий спектр инфекций у людей и животных.

Цель исследования. Биологическая характеристика и генотипирование на основе изучения разных локусов клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы. Объектом исследования стали три клинических изолята Kp, выделенные из разных биотопов пациентов детского многопрофильного стационара регионального уровня. В работе использован комплекс бактериологических, молекулярно-генетических и биоинформационных методов. Генотипирование изолятов проводили с использованием сервиса Института Пастера для штаммов видового комплекса *K. pneumoniae*.

Результаты. Все штаммы были чувствительны к антимикробным препаратам групп карбапенемы (имипенем, меропенем) и тетрациклины (тигезиклин) и демонстрировали высокую чувствительность к бактериофагу клебсиелл поливалентный. У изолятов Kp ODKB-16 и ODKB-81 отмечена антибиотикорезистентность к семи и восьми антимикробным препаратам соответственно.

Согласно результатам мультилокусного типирования, все штаммы отнесены к филогруппе Kp1, имели K2-тип и различались по сиквенс-типам, профилю *scgMLST629* и *KL-typ*. Штамм Kp ODKB-16 был определен как ST-65, *scgST-11107*, *KL2*; ODKB-07 – как ST-219, *scgST-6401*, *KL125KL114*; ODKB-81 – как ST-86, *scgST-2800*, *KL2KL30*. Кластеры генов вирулентности *AbST*, *CbST*, *YbST*, *SmST* и *RmST* были охарактеризованы только в геноме изолята Kp ODKB-16, что позволяет охарактеризовать его как высоковирулентный с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Дополнительно у всех штаммов выявлены гены, ответственные за синтез фимбриальных адгезинов 1-го и 3-го типов, а локусы *ter*-оперона – только у Kp ODKB-16. Анализ резистома показал, что все штаммы имели генотип 2b. Плазмиды были определены в геномах Kp ODKB-81 (*IncI2*) и ODKB-16 (*IncFIA* + *IncFIB* + *IncHI1B*).

Заключение. Использована комплексная схема для геномной таксономии клинических изолятов, которая может способствовать унификации глобальных и региональных особенностей возникновения и микроэволюции бактериальных патогенов.

Ключевые слова: комплекс видов *Klebsiella pneumoniae*, генотипирование, мультилокусный анализ, множественная антибиотикорезистентность, антимикробные препараты, вирулентность

Для цитирования: Белькова Н.Л., Клименко Е.С., Немченко У.М., Григорова Е.В., Ситникова К.О., Зугеева Р.Е., Смурова Н.Е., Чемезова Н.Н., Савилов Е.Д. Биологические свойства и генетическая структура клинических изолятов комплекса видов *Klebsiella pneumoniae*. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 53-63. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.6

Статья поступила: 28.08.2023

Статья принята: 17.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

BIOLOGICAL PROPERTIES AND GENETIC STRUCTURE OF CLINIC ISOLATES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SPECIES

Belkova N.L.¹,
Klimenko E.S.¹,
Nemchenko U.M.¹,
Grigorova E.V.¹,
Sitnikova K.O.¹,
Zugeeva R.E.¹,
Smurova N.E.¹,
Chemezova N.N.^{1,2},
Savilov E.D.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy
of Postgraduate Education –
Branch Campus of the Russian Medical
Academy of Continuing Professional
Education (Yubileyny 100, Irkutsk 664049,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia L. Belkova,
e-mail: nlbelkova@gmail.com

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae (Kp) species complex is a genetically and ecologically diverse group of bacteria that causes a wide range of infections in humans and animals.

The aim. To carry out biological characterization and genotyping based on the study of different loci of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates.

Materials and methods. The object of the study was three *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from different biotopes of patients from a regional children's multidisciplinary hospital. We used a complex of bacteriological, molecular genetic and bioinformatic methods. Genotyping of the isolates was carried out using the Pasteur Institute service for strains of the *K. pneumoniae* species complex.

Results. All strains were sensitive to antimicrobial drugs from carbapenem (imipenem, meropenem) and tetracycline groups (tigecycline), and demonstrated high sensitivity to the *Klebsiella* polyvalent bacteriophage. The antibiotic resistance of the Kp ODKB-16 and ODKB-81 isolates to seven and eight antimicrobial drugs, respectively, was registered.

Based on the results of multi-locus sequence typing, all strains were assigned to Kp1 phylogroup, K2 type and differed in sequence type, scgMLST629 profile and KL type. Kp ODKB-16 strain was identified as ST-65, scgST-11107, KL2; ODKB-07 strain – as ST-219, scgST-6401, KL125KL114; ODKB-81 strain – as ST-86, scgST-2800, KL2KL30. The virulence gene clusters AbST, CbST, YbST, SmST, and RmST have been characterized only in the genome of the Kp ODKB-16 isolate, allowing it to be characterized as highly virulent with multidrug resistance (MDR). Additionally, genes responsible for the synthesis of types 1 and 3 fimbrial adhesins were registered in all strains, and *ter* operon loci were identified only in Kp ODKB-16. Resistome analysis showed that all strains had 2b genotype. Plasmids were found in the genomes of Kp ODKB-81 (IncI2) and ODKB-16 (IncFIA + IncFIB + IncHI1B).

Conclusion. We used a comprehensive framework for genomic taxonomy of clinical isolates, which can contribute to the unification of global and regional peculiarities of the developing and microevolution of bacterial pathogens.

Key words: *Klebsiella pneumoniae* species complex, genotyping, multilocus analysis, multiple antibiotic resistance, antimicrobial drugs, virulence

For citation: Belkova N.L., Klimenko E.S., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Sitnikova K.O., Zugeeva R.E., Smurova N.E., Chemezova N.N., Savilov E.D. Biological properties and genetic structure of clinic isolates of *Klebsiella pneumoniae* species. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 53-63. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.6

Received: 28.08.2023

Accepted: 17.01.2024

Published: 26.03.2024

ОБОСНОВАНИЕ

Комплекс видов *Klebsiella pneumoniae* представляет собой генетически и экологически разнообразную группу бактерий, вызывающую широкий спектр инфекций у людей и животных [1]. Учитывая его разнообразие, а также эволюционную динамику, множественную лекарственную устойчивость и вирулентность, разрабатываются схемы типирования штаммов *K. pneumoniae* [1–3]. Нечёткое определение вида микроорганизмов и горизонтальный перенос генов лежат в основе обширной штаммовой гетерогенности их фенотипов, имеющей экологическое, медицинское и/или промышленное значение [4]. Очевидно, что наиболее успешной таксономической системой для генетического типирования микробных штаммов является подход мультилокусного секвенирования [5, 6]. Эта система используется для исследований популяционной биологии и надзора за бактериальными патогенами в общественном здравоохранении [7]. Для комплекса видов *K. pneumoniae* разработано несколько схем генотипирования на основе разных локусов: собственно мультилокусное типирование (MLST, multi-locus sequence typing) [8], мультилокусное типирование по основному геному (cgMLST, core genome multi-locus sequence typing) [2, 3], типирование по генам *wzc* и *wzi* [9], а также мультилокусное типирование кластеров генов вирулентности (AbST, CbST, YbST, SmST, RmST) и антибиотикорезистентности (аминогликозиды, бета-лактамазы, хинолоны) [2, 10, 11].

Ранее нами было показано, что *K. pneumoniae* в 23,1 % случаев выступает как этиологический фактор развития госпитальных гнойно-септических инфекций в детском многопрофильном стационаре регионального уровня [12]. При изучении микробиологических данных клинически значимых биотопов (кровь, мокрота, моча, раневое содержимое, жидкость брюшной полости, смывы с трахеобронхиального дерева, ликвор) было определено, что наибольшая частота выделения микроорганизмов приходилась на кровь (32,3 %) и мокроту (27,1 %) [12]. Экспериментально было показано, что эти клинические изоляты *K. pneumoniae* с различной эффективностью формируют биоплёнки, показывая разную устойчивость к дезинфицирующим средствам и антимикробным препаратам (АМП) [13–15]. Следует также отметить, что традиционные методы клинической бактериологии не позволяют различать штаммы внутри комплекса видов *K. pneumoniae*, что маскирует истинное клиническое значение каждого сиквенс-типа/филогруппы и их потенциальные эпидемиологические особенности [9]. Исходя из этого положения при выборе штаммов для проведения генетического типирования учитывали биотоп выделения и множественную устойчивость к АМП.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биологическая характеристика и генотипирование на основе разных локусов трёх клинических изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из разных биотопов паци-

ентов детского многопрофильного стационара регионального уровня.

МЕТОДЫ

Исследованы три изолята *K. pneumoniae*, выделенные из клинического материала пациентов, находившихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии детского многопрофильного стационара регионального уровня (г. Иркутск).

Идентификацию изолятов проводили в соответствии с морфологическими, тинкториальными, культуральными и биохимическими свойствами с использованием API-систем «bioMérieux» (Франция) и подтверждали с помощью масс-спектрометрического анализа на приборе ultraflExtreme (Bruker Daltonics, Германия) [16].

Для оценки чувствительности к АМП бактериальную суспензию готовили по стандартной методике с оптической плотностью 0,5 по МакФарланду. Чувствительность к АМП определяли диско-диффузионным методом на среде Мюллера – Хинтона (HiMedia, Индия); результаты анализировали в соответствии с действующими нормативными документами и интерпретационными таблицами Европейского комитета по определению чувствительности к АМП (EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; версия 11.0, действуют с 01.01.2021) [17–19]. Штаммы, соответствующие критерию R, отнесены к категории резистентные, U – чувствительные при увеличенной экспозиции, C – чувствительные. В исследование были взяты диски с азтреонамом (ATM; 30 мкг), амикацином (AK; 30 мкг), амоксициллин-клавулановой кислотой (AMC; 20–10 мкг), гентамицином (GN; 10 мкг), имипенемом (IPM; 10 мкг), меропенемом (MEM; 10 мкг), нетилмицином (NET; 10 мкг), пиперациллин-тазобактамом (PTZ; 30 мкг – 6 мкг), тигециклином (TGC; 15 мкг), цефепимом (FEP; 30 мкг), цефтазидимом (CAZ; 10 и 30 мкг) (ООО «НИЦФ», Россия).

Для оценки чувствительности изолятов *K. pneumoniae* к фагам был использован коммерческий препарат бактериофага производства НПО «Микроген» (Россия) с заявленной активностью против клебсиелл – бактериофаг клебсиелл поливалентный (флаконы по 20 мл, серия У387 02.2020; г. Уфа). Определение уровня литической активности (УЛА) бактериофага к изолятам *K. pneumoniae* проводили капельным методом (spot-test) [20, 21].

Полногеномное секвенирование проводили на оборудовании NextSeq 550 (Illumina, США) с использованием наборов реагентов для приготовления библиотек DNA Prep Tagmentation, DNA/RNA UD Indexes Set Tagmentation и NextSeq 500/550 High Output Kit v. 2.5 (300 Cycles) (Illumina, США), согласно рекомендациям производителя. Сборку первичных данных до контигов проводили с помощью SPAdes v. 3.11.1 [22]. Контиги были упорядочены по референсному геному *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286 (GenBank CP003200) и откорректированы с помощью MAUVE 2.4.0 (The Darling Lab, Австралия) [23]. Для функциональной аннотации использовали Prokka 1.14.6 (Oregon State

University, США) [24]. Для описания плазмид применяли MOB-Typer (National Microbiology Laboratory, Канада) [25]. Поиск мобильных генетических элементов (МГЭ) (IS-элементов и транспозонов) проводили с помощью IS-finder (Франция) [26].

Генотипы изолятов определяли с использованием базы данных Института Пастера для штаммов видового комплекса *K. pneumoniae* [27] на основе MLST [8], cgMLST [2, 3], типирования по генам *wzc* и *wzi* [9] и MLST кластеров генов вирулентности (AbST, CbST, YbST, SmST, RmST) и антибиотикорезистентности (аминогликозиды, бета-лактамазы, хинолоны) [2, 10, 11].

Данная работа выполнена в рамках темы государственного задания № 121022500179-0 с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Краткая характеристика проанализированных изолятов *K. pneumoniae* представлена в таблице 1. Исходя из результатов определения чувствительности к АМП, все штаммы показали устойчивость более чем к двум АМП разных групп, но были чувствительны к имипенему, меропенему (группа карбапенемы) и тигециклину (тетрациклины). Кроме того, все изоляты проявили высокую чувствительность к бактериофагу клебсиелл поливалентный (табл. 1). Следует также отметить, что изоляты *K. pneumoniae* ODKB-16 и ODKB-81 показали резистентность к семи и восьми препаратам соответственно и могут быть определены как штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ).

Краткие результаты сборки и аннотации геномов приведены в таблице 2. Геномы штаммов были картированы на референсный геном *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286 и представлены на рисунке 1. Размеры геномов проанализированных изолятов варьировали незначительно и составили $5,7 \times 10^6$, $5,3 \times 10^6$ и $5,4 \times 10^6$ пар нуклеотидов (п. н.) для *K. pneumoniae* ODKB-16, *K. pneumoniae* ODKB-07 и *K. pneumoniae* ODKB-81 соответственно. Гуанин-цитозинный (ГЦ) состав соответствовал характеристике вида *K. pneumoniae*. У штаммов *K. pneumoniae* ODKB-16 и *K. pneumoniae* ODKB-81 обнаружены плазмиды, относящиеся к разным группам несовместимости (табл. 3). Следует отметить, что *K. pneumoniae* ODKB-81 несёт плазмиду группы несовместимости IncI2, в то время как *K. pneumoniae* ODKB-16 – комбинированную плазмиду, принадлежащую одновременно нескольким группам (IncFIA + IncFIB + IncHI1B), что является характерной особенностью клинических изолятов. Дополнительно в плазмиде *K. pneumoniae* ODKB-16 была обнаружена релаксаза MOBF-типа и предсказана конъюгативная мобильность. Профаги и интегроны не были найдены ни у одного изолята. МГЭ были представлены инсерционными IS-элементами и Tn-транспозонами. МГЭ семейств IS1380 и IS3 встречались во всех трёх изолятах в хромосоме. Помимо этого, в хромосоме *K. pneumoniae* ODKB-7 были обнаружены IS66, а в *K. pneumoniae* ODKB-16 – IS5- и IS1-элементы. МГЭ данных семейств имеют небольшую длину – от 500 до 2000 п. н. – и не содержат в себе генов, отвечающих за резистентность или патогенность. В плазмиде *K. pneumoniae* ODKB-81 были обнаружены два МГЭ семейств IS481 и IS66, не несущих генов резистентности или вирулентности. В плазмиде *K. pneumoniae* ODKB-16 были обнаружены 18 МГЭ, относящихся к семействам IS1, IS3, IS4, IS5, IS6, IS21, IS66, IS110, IS481, IS630, IS1380, ISNCY и Tn3. Один МГЭ Tn3 семейства включал в себя гены *pbrR*

ТАБЛИЦА 1
КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ КОМПЛЕКСА
ВИДОВ *K. PNEUMONIAE*

TABLE 1
SHORT CHARACTERISTICS OF THE ISOLATES
FROM *K. PNEUMONIAE* COMPLEX SPECIES

Маркировка изолята	Источник выделения (дата)	Антибиотики		Генотип (23 локуса*)	Бактериофаг клебсиелл поливалентный
		Чувствительность	Резистентность		
<i>K. pneumoniae</i> ODKB-16	Трахеобронхиальное дерево (06.11.2018)	AMC20-10, IPM10, MEM10, TGC15	AK30, GN10, NET10, PTZ30-6, FEP30, CAZ10, CAZ30, ATM30	2b	3X
<i>K. pneumoniae</i> ODKB-07	Кровь (21.06.2018)	AK30, GN10, NET10, AMC20-10, PTZ30-6, IPM10, CAZ30, MEM10, TGC15	FEP30, CAZ10, ATM30	2b	3X
<i>K. pneumoniae</i> ODKB-81	Мокрота (22.10.2019)	IPM10, MEM10, TGC15	AK30, GN10, NET10, AMC20-10, PTZ30-6, FEP30, CAZ10, CAZ30, ATM30	2b	4X

Примечание. * – генотипирование проведено по следующим локусам: blaAMPc, blaBEL, blaCARB, blaCMY, blaCTX_M, blaGES, blaIMP, blaIND, blaKPC, blaLEN, blaNDM, blaOKP_ABCD, blaOXA, blaOXY, blaPER, blaSHV, blaSME, blaTEM, blaVEB, blaVIM.

ТАБЛИЦА 2
КРАТКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СБОРКИ И АННОТАЦИИ
ГЕНОМОВ ИЗОЛЯТОВ КОМПЛЕКСА ВИДОВ
K. PNEUMONIAE

Характеристики	<i>K. pneumoniae</i> ODKB-16	<i>K. pneumoniae</i> ODKB-07	<i>K. pneumoniae</i> ODKB-81
Результаты сборки геномов			
Количество прочтений на образец	18 689 678	23 218 431	8 283 075
Число скаффолдов	73	66	61
N50	293 674	308 988	308 386
Результаты аннотации геномов			
Размер генома, п. н.	5 693 553	5 333 942	5 368 963
ГЦ, %	56.69	57.19	57.33
Количество белок-кодирующих последовательностей	5 421	5 085	4 892
Число рРНК	4	7	6
Число тРНК	63	66	54
Количество плазмид	1	Нет	1

TABLE 2
BRIEF RESULTS ON GENOME ASSEMBLY
AND ANNOTATION STATISTICS OF THE ISOLATES
FROM *K. PNEUMONIAE* COMPLEX SPECIES

ТАБЛИЦА 3
КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИД ИЗОЛЯТОВ
КОМПЛЕКСА ВИДОВ *K. PNEUMONIAE*

Характеристики	<i>K. pneumoniae</i> ODKB-16	<i>K. pneumoniae</i> ODKB-81
Размер, п. н.	359 611	35 021
ГЦ, %	50.37	43.25
Группы несовместимости	IncFIA+IncFIB+IncHI1B, rep_cluster_1254	IncI2
Вероятное происхождение	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>

TABLE 3
BRIEFLY CHARACTERISTIC OF PLASMIDS OF THE ISOLATES
FROM *K. PNEUMONIAE* COMPLEX SPECIES

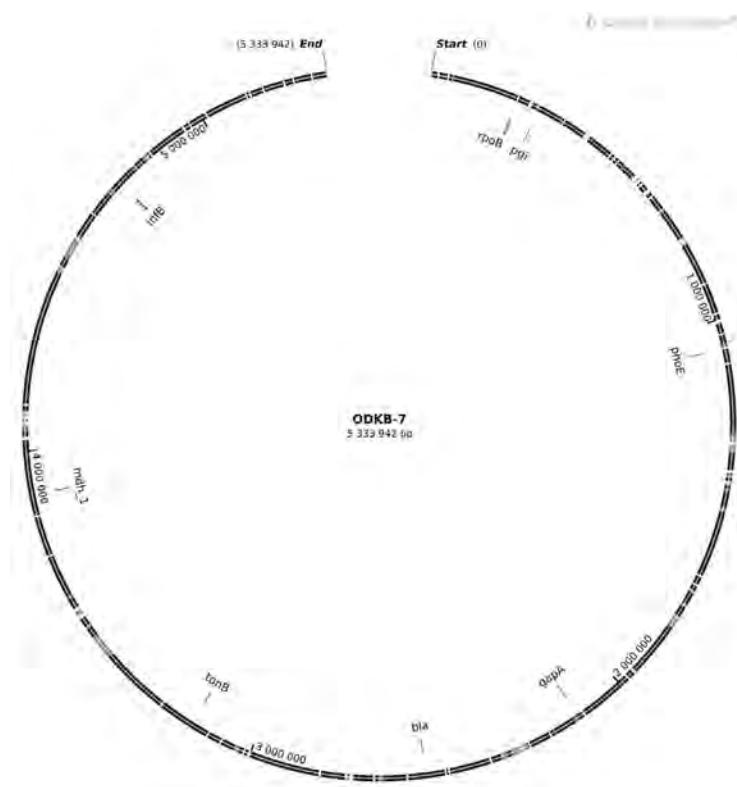
(транскрипционный фактор, принадлежащий семейству MerR), *pbrA* (АТРаза Р1В-типа), *pbrB* (интегральный мембранный белок) и *pbrC* (предполагаемая сигнальная пептидаза). Считается, что кластер генов *pbrTRABCD* кодирует уникальный, специфический механизм устойчивости к свинцу [28].

Генетическое типирование *K. pneumoniae* включало определение сиквенс-типа по схемам мультилокусного секвенирования MLST и cgMLST, выявление маркеров, связанных с фенотипическим капсульным серотипированием, а также поиск детерминант вирулентности и антибиотикорезистентности.

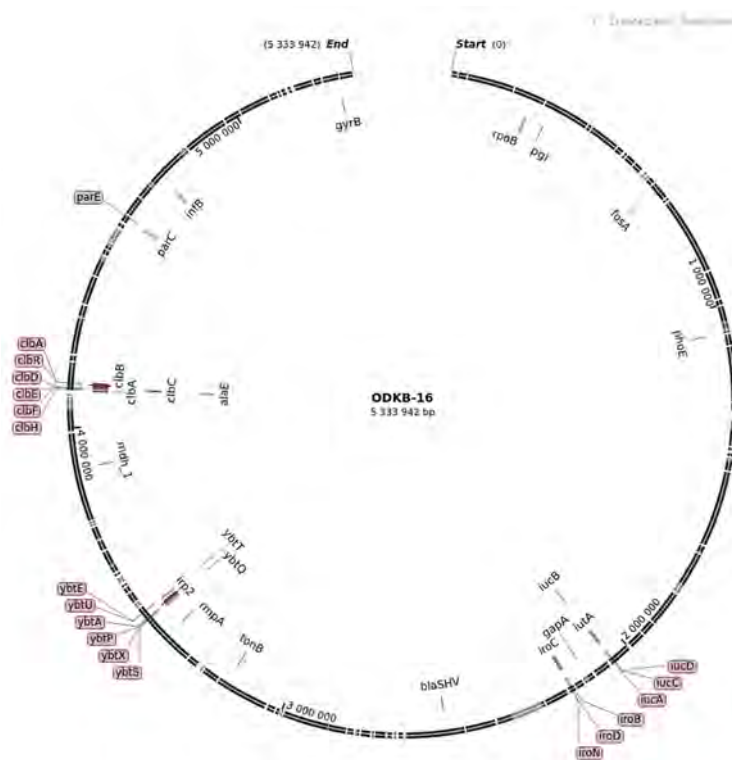
Согласно результатам мультилокусного типирования MLST по семи генам *gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* и *tonB*, все штаммы показали разный генотип: *K. pneumoniae* ODKB-16 был определен как ST-65, *K. pneumoniae* ODKB-07 – как ST-219, *K. pneumoniae* ODKB-81 – как ST-86 (табл. 4). Все штаммы были отнесены к филогруппе Kp1, *K. pneumoniae* ODKB-16 и *K. pneumoniae* ODKB-81 имели K2-тип по генам *wzc* и *wzi*, но различались по профилю scgMLST629 и KL-типу (табл. 4).

Характеристика профиля вирулентности изолятов *K. pneumoniae* была проведена по кластерам генов вирулентности AbST, CbST, YbST, SmST и RmST, типизирующих по локусам азробактина, колибактина, эрсиниабактина, сальмохелина и семейства белков RmST/RmpADC соответственно. Все кластеры генов вирулентности были идентифицированы и охарактеризованы только в геноме изолята *K. pneumoniae* ODKB-16 (табл. 5); их локализация представлена на картированном геноме (рис. 16). Таким образом, только изолят *K. pneumoniae* ODKB-16 можно охарактеризовать как высоковирулентный с МЛУ.

Дополнительно в геномах был проведен поиск детерминант патогенности, не входящих в перечень маркерных генов и их участков, которые валидированы для типирования штаммов видового комплекса *K. pneumoniae* [27]. Известно, что штаммы комплекса *K. pneumoniae*, имеющие серотип K2, проявляют инвазивные свойства [9]. В структуре хромосомы исследуемых штаммов *K. pneumoniae* были обнаружены гены, ответственные за синтез фимбриальных адгезинов



a



6

РИС. 1.

Хромосомные карты штаммов *K. pneumoniae* ODKB-7 (а), *K. pneumoniae* ODKB-16 (б), картированные на референсный геном *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286. В выносках указаны гены, определённые на основании MLST (*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* и *tonB*), а также MLST-анализа детерминант вирулентности (*AbST*, *CbST*, *YbST*, *SmST*, *RmST*) и антибиотикорезистентности

FIG. 1.

Chromosomal maps of *K. pneumoniae* ODKB-7 (a), *K. pneumoniae* ODKB-16 (b) strains mapped to the reference genome of *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286. The callouts contain genes identified based on MLST (*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* and *tonB*), as well as on MLST analysis of virulence determinants (*AbST*, *CbST*, *YbST*, *SmST*, *RmST*) and antibiotic resistance

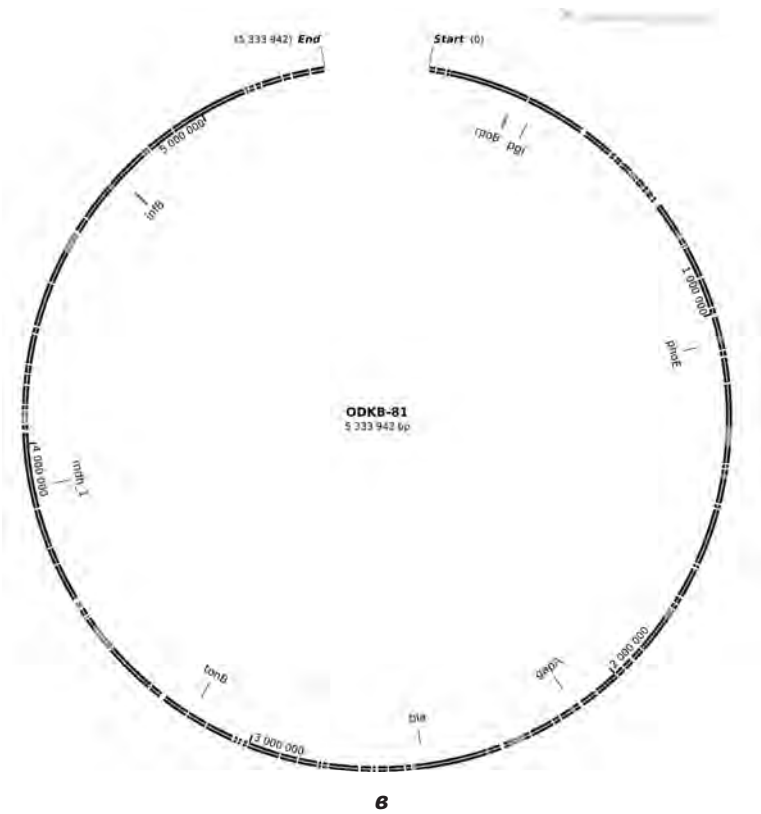


РИС. 1. (продолжение)
Хромосомные карты штаммов *K. pneumoniae* ODKB-81 (6), картированные на референсный геном *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286. В выносках указаны гены, определённые на основании MLST (*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* и *tonB*), а также MLST-анализа детерминант вирулентности (*AbST*, *CbST*, *YbST*, *SmST*, *RmST*) и антибиотикорезистентности

FIG. 1. (continued)
Chromosomal maps of *K. pneumoniae* ODKB-81 (6) strains mapped to the reference genome of *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* HS11286. The callouts contain genes identified based on MLST (*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* and *tonB*), as well as on MLST analysis of virulence determinants (*AbST*, *CbST*, *YbST*, *SmST*, *RmST*) and antibiotic resistance

ТАБЛИЦА 4
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ИЗОЛЯТОВ КОМПЛЕКСА ВИДОВ *K. PNEUMONIAE*

TABLE 4
GENETIC PROFILE OF THE ISOLATES FROM *K. PNEUMONIAE* COMPLEX SPECIES

Профиль scgMLST629_S								
Маркировка изолята	MLST	scgMLST629	LIN код	Филогруппа	Подлиния	Клональная группа	K-type	KL-type
<i>K. pneumoniae</i> ODKB-16	ST-65	scgST-11107	0_0_391_0_0_0_3_1_0_0	Kp1	SL1471; SL322; SL65	CG1471; CG322; CG65	K2	KL2
<i>K. pneumoniae</i> ODKB-07	ST-219	scgST-6401	0_0_80_8_0_0_0_7_0_0	Kp1	SL107; SL3157	CG219; CG3157	no	KL125KL114
<i>K. pneumoniae</i> ODKB-81	ST-86	scgST-2800	0_0_395_0_13_1_0_0_0_0	Kp1	SL1471; SL322; SL86	CG1471; CG322; CG86	K2	KL2KL30

ТАБЛИЦА 5
ПРОФИЛЬ ВИРУЛЕНТНОСТИ ИЗОЛЯТА *K. PNEUMONIAE* ODKB-16

TABLE 5
VIRULENT PROFILE OF THE *K. PNEUMONIAE* ODKB-16 ISOLATE

AbST/Aerobactin/ <i>iucABCD, iutA*</i>		CbST/Colibactin/ <i>clbABCDEFGHILMNOPQ</i>		YbST/Yersiniabactin/ <i>ybtSXQPAUTE, irp2, irp1, fyuA</i>		SmST/Salmochelin/ <i>iroBCDN</i>		RmST/RmpADCproteins/ <i>rmpACD</i>	
Генотип	<i>iuc</i> lineage	Генотип	<i>clb</i> lineage	ICE lineage	Генотип	<i>iro</i> lineage	Генотип	<i>rmp</i> lineage	
ST-1	<i>iuc</i> 1	ST-13	<i>clb</i> 3	Ybt-17; ICEKp10	ST-10	<i>iro</i> 1	ST-38	<i>rmp</i> 1; KpVP-1	

Примечание. * – название кластера генов/целевой продукт/список генов из генного кластера.

1-го и 3-го типов (*fimA* и *mrkD* соответственно). Однако гены, ответственные за синтез инвазинов, адгезинов – пили Р, α-гемолизина, термолабильных энтеротоксинов, а также за проявление гипермукоидного фенотипа (*rmpA* и *magA*), не обнаружены. В составе геномов был проведён поиск оперона устойчивости к теллуриду (TeO_3^{-2} , *ter*-оперона), который, как было ранее показано, тесно связан с инфекцией *K. pneumoniae* [29, 30]. Все локусы этого оперона были определены только в высоко вирулентном изоляте с МЛУ *K. pneumoniae* ODKB-16 (рис. 16).

Анализ резистомы исследуемых штаммов с использованием сервиса Института Пастера для штаммов видового комплекса *K. pneumoniae* [27] показал, что в геноме трёх штаммов *K. pneumoniae* присутствовали генные кластеры, кодирующие устойчивость к аминогликозидам, бета-лактамазам, хинолонам, и имели генотип 2b, определённый по 23 локусам, кодирующим устойчивость к бета-лактамам антибиотикам. Дополнительно в геномах всех штаммов определили гены *catA* и *sulA*, кодирующие устойчивость к хлорамфениколу и сульфаниламидам соответственно. Ген *fosA*, кодирующий устойчивость к фосфомицину, выявили только в хромосоме изолятов *K. pneumoniae* ODKB-16 и ODKB-81. Одним из механизмов формирования множественной устойчивости к АМП считается наличие эффлюксных насосов. В геномах всех изолятов были определены детерминанты эффлюксных помп и их регуляции *oqxAB*, *acrAB-tolC*, *aciZ*, *cusA*, *marAR*, *soxSR*, *rob*, *ramAR* (семейство RND (Resistance-Nodulation Division)), *mdtM*, *bcr* (семейство MFS (Major Facilitator Superfamily)) и *macAB* (семейство ABC (ATP Binding Cassette)).

ОБСУЖДЕНИЕ

В наших предыдущих исследованиях условно-патогенные бактерии вида *K. pneumoniae* были определены как этиологический фактор развития нозокомиальных генерализованных гнойно-септических инфекций [12], при этом отмечалась их способность к биоплёнкообразованию и устойчивость к дезинфицирующим средствам и АМП [13–15]. Для определения клинического значения и потенциала комплекса видов *K. pneumoniae* исследованы три изолята *K. pneumoniae*, обладающие устойчивостью к АМП разных групп. Следует отметить, что штам-

мы *K. pneumoniae* ODKB-07 и ODKB-81 были изолированы из биотопов, на которые приходится наибольшая частота выделения условно-патогенных микроорганизмов комплекса видов *K. pneumoniae* [12] – это кровь и мокрота соответственно.

Проведённый М. Hennart и соавт. [3] филогенетический анализ комплекса видов *K. pneumoniae* позволил выделить семь основных филогрупп Кр1–Кр7, при этом наиболее представленной является филогруппа Кр1 – группа *K. pneumoniae sensu stricto*. Различными исследованиями показано, что в её филогенетической структуре выявлено большое разнообразие подлиний (SL, *sublineage*) и клональных групп (CG, *clonal groups*), что отражает активный интерес клинических микробиологов к изолятам с множественной лекарственной устойчивостью или/и гипервирулентностью [1, 3, 10, 11]. Филогенетический анализ других филогрупп *K. pneumoniae* выявил различающиеся SL, но они не являлись преобладающими; по-видимому, важные с клинической точки зрения подлинии и клональные группы в этих филогруппах ещё предстоит выявить [3]. Авторы также дополнили схему мультилокусного анализа основного генома (scgMLST, 634 локуса), ранее определённую S. Bialek-Davenet и соавт. [2]. В схему scgMLST629 включено 629 локусов, профиль сочетает LIN код, филогруппу (Кр), подлинию (SL) и клональную группу (CG) [3].

Проанализированные в данной работе изоляты *K. pneumoniae* ODKB-16, ODKB-07 и ODKB-81 на основании анализа MLST отнесены к генотипам ST-65, ST-219 и ST-86. ScgMLST629 анализ позволил выявить сходство с подлиниями SL1471, SL322 и SL65 для *K. pneumoniae* ODKB-16, SL107 и SL3157 для *K. pneumoniae* ODKB-07, а также SL1471, SL322 и SL86 для *K. pneumoniae* ODKB-81.

Следует также отметить наличие разной частоты обнаружения генов вирулентности и устойчивости к АМП среди основных SL и CG [3, 31]. Среди проанализированных изолятов только в геноме *K. pneumoniae* ODKB-16 определены все локусы, согласно профилю вирулентности, предложенному ранее [10, 11]. При этом изолят со средним баллом вирулентности 5 имел средний балл резистентности 1 (1 = ESBL).

В последнее время факт появления высоковирулентных штаммов *K. pneumoniae* с высокой устойчивостью к антибиотикам заставляет исследователей активно изучать механизмы и факторы, обуславливающие появление и выживаемость таких бактерий [29]. Если рас-

смаатривать воздействие АМП на бактерии как реакцию клетки на стрессовый фактор окружающей среды, формирование устойчивости может быть обусловлено разными генетическими детерминантами. С другой стороны, перекрёстная, совместная резистентность, например, к АМП и дезинфицирующим средствам и/или АМП и тяжёлым металлам, может быть обусловлена наличием сходных генетических механизмов формирования фенотипа резистентности [32, 33]. Последними экспериментальными исследованиями с модельными животными было показано, что оперон резистентности к теллуре, известный как *ter*-оперон, ассоциирован с пневмонией и бактериемией, вызванными *K. pneumoniae* [29]. Комплексные исследования *ter*-оперона *K. pneumoniae* на основании геномного и биоинформатического подхода показали, что *ter*-оперон был генетически независим от других локусов вирулентности и устойчивости к антибиотикам, кодируемых плазмидами [29]. В модельных экспериментах с мышами было показано, что *ter*-оперон, тесно связанный с инфекцией, кодирует факторы, которые противостоят стрессу, вызванному местной микробиотой кишечника во время колонизации *K. pneumoniae* [29]. В исследовании, моделирующем инфекцию мочевыводящих путей, была показана роль белка TerC в формировании устойчивости к офлоксацину, полимиксину В и хлориду цетилпиридиния [30], а в совокупности результаты этих исследований указывают на роль *ter*-оперона как фактора персистенции и толерантности к стрессу [29, 30]. Среди проанализированных в данном исследовании штаммов *K. pneumoniae* только в геноме высоковирулентного изолята с МЛУ ODKB-16 охарактеризованы все локусы *ter*-оперона, что свидетельствует о наличии в его геноме дополнительных детерминант толерантности к стрессовым факторам окружающей среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Филогруппы, подлинии и клональные группы внутри изолятов комплекса видов *K. pneumoniae* могут существенно различаться по своей экологии и патогенности, и их точное определение важно как в фундаментальных исследованиях, так и в практическом здравоохранении. На основе разных схем типирования мультилокусных последовательностей охарактеризованы геномы трёх клинических изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из клинического материала пациентов. Определён профиль вирулентности, проведено типирование MLST по семи генам и типирование основного генома с 629 генами (scgMLST62), все изоляты отнесены к филогруппе Kp1, K2 K-type и 2b генотипу. Дополнительно охарактеризован *ter*-оперон как фактор толерантности к стрессу. Эта комплексная видоспецифичная схема для геномной таксономии клинических изолятов может быть использована и должна способствовать унификации глобальных и региональных особенностей возникновения и микроэволюции бактериальных патогенов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках госзадания № 121022500179-0.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Wyres KL, Lam MMC, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol*. 2020; 18(6): 344-359. doi: 10.1038/s41579-019-0315-1
- Bialek-Davenet S, Criscuolo A, Ailloud F, Passet V, Jones L, Delannoy-Vieillard AS, et al. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg Infect Dis*. 2014; 20(11): 1812-1820. doi: 10.3201/eid2011.140206
- Hennart M, Guglielmini J, Bridel S, Maiden MCJ, Jolley KA, Criscuolo A, et al. A dual barcoding approach to bacterial strain nomenclature: Genomic taxonomy of *Klebsiella pneumoniae* strains. *Mol Biol Evol*. 2022; 39(7): msac135. doi: 10.1093/molbev/msac135
- Gonzalez JM, Puerta-Fernández E, Santana MM, Rekadwad B. On a non-discrete concept of prokaryotic species. *Microorganisms*. 2020; 8(11): 1723. doi: 10.3390/microorganisms8111723
- Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, et al. Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(6): 3140-3145. doi: 10.1073/pnas.95.6.3140
- Achtman M, Wain J, Weill F-X, Nair S, Zhou Z, Sangal V, et al. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathog*. 2012; 8(6): e1002776. doi: 10.1371/journal.ppat.1002776
- Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res*. 2018; 3: 124. doi: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
- Diancourt L, Passet V, Verhoef J, Grimont PA, Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol*. 2005; 43: 4178-4182. doi: 10.1128/JCM.43.8.4178-4182.2005
- Brisse S, Passet V, Haugaard AB, Babosán A, Kassis-Chikhani N, Struve C, et al. *wzi* gene sequencing, a rapid method for determination of capsular type for *Klebsiella* strains. *J Clin Microbiol*. 2013; 51(12): 4073-4078. doi: 10.1128/JCM.01924-13
- Lam MMC, Wyres KL, Judd LM, Wick RR, Jenney A, Brisse S, et al. Tracking key virulence loci encoding aerobactin and salmochelin siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Med*. 2018; 10(1): 77. doi: 10.1186/s13073-018-0587-5
- Lam MMC, Wick RR, Wyres KL, Gorrie CL, Judd LM, Jenney AWJ, et al. Genetic diversity, mobilisation and spread of the yersiniabactin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations. *Microb Genom*. 2018; 4(9): e000196. doi: 10.1099/mgen.0.000196
- Носкова О.А., Агапова Е.Д., Батурина Е.А., Гвак Г.В. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в детском многопрофильном стационаре. *Acta biomedica scientifica*. 2019;

4(5): 122-126. [Noskova OA, Agapova ED, Baturina EA, Gvak GV. Microbiological monitoring in the system of epidemiological surveillance of purulent-septic infections in a multidisciplinary hospital. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 122-126. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.19

13. Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Маркова Ю.А., Носкова О.А., и др. Моделирование бактериальных биопленок и оценка чувствительности возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к дезинфицирующему средству Секусепт актив. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(10): 652-658. [Nemchenko UM, Kungurtseva EA, Grigorova EV, Belkova NL, Markova YA, Noskova OA, et al. Simulation of bacterial biofilms and estimation of the sensitivity of healthcare-associated infection pathogens to bactericide Sekusept active. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2020; 65(10): 652-658. (In Russ.)] doi: 10.18821/0869-2084-2020-65-10-652-658

14. Савилов Е.Д., Анганова Е.В., Носкова О.А., Духанина А.В. Бактериальные биопленки при гнойно-септических инфекциях. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 38-42. [Savilov ED, Anganova EV, Noskova OA, Dukhanina AV. Bacteria biofilms in purulent-septic infections. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 38-42. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.6

15. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Кунгурцева Е.А., и др. Способность к биопленкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020; 1: 32-35. [Savilov ED, Markova YA, Nemchenko UM, Noskova OA, Chemezova NN, Kungurtseva EA, et al. Ability to biofilm formation in infectious agents isolated from patients of a large general children's hospital. *Pacific Medical Journal*. 2020; 1: 32-35. (In Russ.)]. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35

16. Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А., Носкова О.А., и др. Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 88-94. [Voropaeva NM, Belkova NL, Nemchenko UM, Grigorova EV, Kungurtseva EA, Noskova OA, et al. Identification of infectious diseases patterns in the combined use of bacteriological diagnostics and MALDI Biotyper. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 88-94. (In Russ.)] doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.10

17. *Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации; версия 2018-03. М., 2018. [Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs: Clinical recommendations; version 2018-03. Moscow; 2018. (In Russ.)]. URL: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf> [дата доступа: 28.08.2023].*

18. *Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: МУК 4.2.1890-04. [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: MUK 4.2.1890-04. (In Russ.)]. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200038583> [дата доступа: 28.08.2023].*

19. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST. URL: <https://www.eucast.org> [date of access: 28.11.2023].*

20. Асланов Б.И., Зуева Л.П., Кафтырева Л.А., Бойцов А.Г., Акимкин В.Г., Долгий А.А., и др. *Рациональное применение*

бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике: Федеральные клинические рекомендации. М.; 2014. [Aslanov BI, Zueva LP, Kaftyreva LA, Boytsov AG, Akimkin VG, Dolgiy AA, et al. Rational use of bacteriophages in therapeutic and anti-epidemic practice: Federal clinical guidelines. Moscow; 2014. (In Russ.)].

21. Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Савелькаева М.В., Кунгурцева Е.А., и др. Оценка литической активности препаратов бактериофагов на штаммы *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(4): 217-222. [Grigorova EV, Rychkova LV, Belkova NL, Nemchenko UM, Savelkaeva MV, Kungurtseva EA, et al. Evaluation of the sensitivity of bacteriophage preparations to *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from the colon microbiota in children with functional gastrointestinal disorders. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021; 66(4): 217-222. (In Russ.)]. doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-217-222

22. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012; 19(5): 455-477. doi: 10.1089/cmb.2012.0021

23. Rissman AI, Mau B, Biehl BS, Darling AE, Glasner JD, Perna NT. Reordering contigs of draft genomes using the Mauve aligner. *Bioinformatics*. 2009; 25: 2071-2073. doi: 10.1093/bioinformatics/btp356

24. Seemann T. Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014; 30(14): 2068-2069. doi: 10.1093/bioinformatics/btu153

25. Robertson J, Nash JHE. MOB-suite: Software tools for clustering, reconstruction and typing of plasmids from draft assemblies. *Microb Genom*. 2018; 4(8): e000206. doi: 10.1099/mgen.0.000206

26. IS FINDER. URL: <https://www-is.biotoul.fr> [date of access: 01.12.2023].

27. Institut Pasteur. *Klebsiella pneumoniae* species complex. URL: <https://bigsd.biotoul.fr/klebsiella> [date of access: 28.08.2023].

28. Hynninen A, Touzé T, Pitkänen L, Mengin-Lecreulx D, Virta M. An efflux transporter PbrA and a phosphatase PbrB cooperate in a lead-resistance mechanism in bacteria. *Mol Microbiol*. 2009; 74(2): 384-394. doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.06868.x

29. Vornhagen J, Bassis CM, Ramakrishnan S, Hein R, Mason S, Bergman Y, et al. A plasmid locus associated with *Klebsiella* clinical infections encodes a microbiome-dependent gut fitness factor. *PLoS Pathog*. 2021; 17(4): e1009537. doi: 10.1371/journal.ppat.1009537

30. Mason S, Vornhagen J, Smith SN, Mike LA, Mobley HLT, Bachman MA. The *Klebsiella pneumoniae* ter operon enhances stress tolerance. *Infect Immun*. 2023; 91(2): e0055922. doi: 10.1128/iai.00559-22

31. Lam MMC, Wick RR, Watts SC, Cerdeira LT, Wyres KL, Holt KE. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 4188. doi: 10.1038/s41467-021-24448-3

32. Vats P, Kaur UJ, Rishi P. Heavy metal-induced selection and proliferation of antibiotic resistance: A review. *J Appl Microbiol*. 2022; 132(6): 4058-4076. doi: 10.1111/jam.15492

33. Ковальчук С.Н., Федорова Л.С., Ильина Е.Н. Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68(1-2): 45-56.

[Kovalchuk SN, Fedorova LS, Ilina EN. Molecular mechanisms of microbial resistance to disinfectants. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68(1-2): 45-56. (In Russ.)]. doi: 10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56

Сведения об авторах

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Клименко Елизавета Станиславовна – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: umnemch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Ситникова Ксения Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: butakovaksenia505@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7717-906X>

Зугеева Раиса Евгеньевна – лаборант лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: raya.zugeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8522-7359>

Смурова Надежда Евгеньевна – лаборант-исследователь лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nadinasmurova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>

Чемезова Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, врач-бактериолог, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; доцент кафедры эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: chemezova_nataly@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: savilov47@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Information about the authors

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Leading Research Officer at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Elizaveta S. Klimenko – Junior Research Officer at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>

Ulyana M. Nemchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: umnemch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Ekaterina V. Grigорова – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Kseniya O. Sitnikova – Clinical Research Assistant at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: butakovaksenia505@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7717-906X>

Raisa E. Zugeeva – Clinical Research Assistant at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: raya.zugeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-8522-7359>

Nadezhda E. Smurova – Clinical Research Assistant at the Laboratory for Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nadinasmurova@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>

Natalya N. Chemezova – Cand. Sc. (Biol.), Bacteriologist, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Associate Professor at the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: chemezova_nataly@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Evgeny D. Savilov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: savilov47@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНДОЛА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО 1-БЕНЗИЛИНДОЛА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЦА И ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Горохова Л.Г.^{1,2},
Михайлова Н.Н.¹,
Жукова А.Г.^{1,2},
Казицкая А.С.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» (654041, г. Новокузнецк, ул. Кузцова, 23, Россия)

² Кузбасский гуманитарно-педагогический институт ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (654041, г. Новокузнецк, ул. Циолковского, 23, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Горохова Лариса Геннадьевна,
e-mail: ponomarikova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Индол и его производные широко используются во всех сферах фармацевтического производства. Токсикометрия индольных соединений достаточно изучена. Вместе с тем сведения о токсическом влиянии на отдельные органы и системы при длительном поступлении в организм большинства соединений до сих пор отсутствуют.

Цель исследования. Экспериментальное изучение токсического влияния индола и его производного 1-бензилиндола на функциональное состояние сердца и показатели крови.

Материал и методы. Работа проведена на 46 белых крысах, разделённых на группы: контрольная (n = 22); животные, получавшие индол 1 раз в день в течение 1 месяца (n = 12); животные, получавшие 1-бензилиндол 1 раз в день в течение 1 месяца (n = 12). Вещества вводили внутривенно 5 дней в неделю. Состояние животных оценивали по интегральным параметрам, показателям периферической крови и биохимических анализов сыворотки, морфологическим данным.

Результаты. Введение индола и 1-бензилиндола приводило к увеличению электрической активности предсердий, уменьшению продолжительности комплекса QRS и статистически значимо снижало артериальное давление и температуру тела по сравнению с контролем. Поступление индола и 1-бензилиндола снижало количество эритроцитов и гемоглобина, повышало активность аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, увеличивало концентрации мочевины, общего холестерина и триглицеридов в крови. На фоне длительного воздействия индола и 1-бензилиндола в сердце крыс выявлены нарушения дистрофического характера, гипертрофические и атрофические изменения отдельных волокон с резко выраженным полнокровием сосудов микроциркуляторного русла.

Заключение. Индол и 1-бензилиндол в условиях длительного поступления в организм приводят к функциональным нарушениям сердечно-сосудистой системы, которые являются причиной развития артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, атеросклеротических поражений сосудов. Профилактические мероприятия на производствах, где возможен контакт с индолом и его производными, должны включать регулярные профосмотры работников с обязательным контролем электрокардиографии и расширенными показателями общего и биохимического анализов крови.

Ключевые слова: индол, 1-бензилиндол, экспериментальные крысы, функциональное состояние сердца, биохимия крови, морфология сердца

Для цитирования: Горохова Л.Г., Михайлова Н.Н., Жукова А.Г., Казицкая А.С. Исследования воздействия индола и его производного 1-бензилиндола на функциональное состояние сердца и показатели крови лабораторных крыс. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 64-72. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.7

Статья поступила: 14.06.2022

Статья принята: 10.11.2023

Статья опубликована: 26.03.2024

STUDIES OF THE EFFECT OF INDOLE AND ITS DERIVATIVE 1-BENZYLINDOLE ON THE FUNCTIONAL STATE OF THE HEART AND BLOOD VALUES OF LABORATORY RATS

Gorokhova L.G.^{1,2},
Mikhailova N.N.¹,
Zhukova A.G.^{1,2},
Kazitskaya A.S.¹

¹ Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases (Kutuzova str. 23, Novokuznetsk 654041, Russian Federation)

² Kuzbass Humanitarian Pedagogical Institute, Kemerovo State University (Tsiolkovskogo str. 23, Novokuznetsk 654041, Russian Federation)

Corresponding author:
Larisa G. Gorokhova,
e-mail: ponomarikova@mail.ru

ABSTRACT

Background. Indole and its derivatives are widely used in all areas of pharmaceutical production. The toxicometry of indole compounds has been sufficiently studied. At the same time, there is still no information on the toxic effect on individual organs and systems during long-term intake of most compounds.

The aim. To carry out an experimental study of the toxic effect of indole and its derivative 1-benzylindole on the functional state of the heart and blood values.

Materials and methods. The work was carried out on 46 white rats, divided into groups: control group (n = 22); animals receiving indole once a day for 1 month (n = 12); animals receiving 1-benzylindole once a day for 1 month (n = 12). The substances were administered intragastrically 5 days a week. The condition of the animals was assessed by integral parameters, peripheral blood parameters and biochemical serum tests, and morphological data.

Results. Administration of indole and 1-benzylindole caused an increase in the electrical activity of the atria, a decrease in the duration of the QRS complex, and a statistically significant decrease in blood pressure and body temperature compared to the control group. The intake of indole and 1-benzylindole decreased the number of red blood cells and hemoglobin, increased the activity of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, and increased the concentrations of urea, total cholesterol and triglycerides in the blood. Against the background of long-term exposure to indole and 1-benzylindole, dystrophic disorders, hypertrophic and atrophic changes in individual fibers with a pronounced congestion of the microcirculatory vessels were revealed in the heart of rats.

Conclusion. Indole and 1-benzylindole in case of long-term intake lead to functional disorders of the cardiovascular system, which cause the development of arterial hypertension, coronary heart disease, and atherosclerotic vascular lesions. Preventive measures in industries with possible contact with indole and its derivatives should include regular medical examinations of workers with mandatory monitoring of electrocardiography and advanced indicators of general and biochemical blood tests.

Key words: indole, 1-benzylindole, experimental rats, functional state of the heart, blood biochemistry, heart morphology

Received: 14.06.2022
Accepted: 10.11.2023
Published: 26.03.2024

For citation: Gorokhova L.G., Mikhailova N.N., Zhukova A.G., Kazitskaya A.S. Studies of the effect of indole and its derivative 1-benzylindole on the functional state of the heart and blood values of laboratory rats. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 64-72. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.7

ВВЕДЕНИЕ

Современный фармацевтический промышленный комплекс характеризуется внедрением в производство новых соединений, часто имеющих комплексный характер действия на организм. Этот процесс во многом определяет изменение клинко-патогенетической специфики современных вариантов профессиональных интоксикаций и возникновения новых неспецифических реакций, которые могут доминировать в клинической картине заболеваний. Показано, что сердечно-сосудистый комплекс высокочувствителен к токсическому действию химических веществ, что проявляется в виде дистрофических изменений в миокарде и вегетативно-сосудистой дистонии [1, 2]. Однако выявление механизмов возникновения нарушений, их нозологической дифференциации и диагностики значительно усложняет тот факт, что поражения кардиоваскулярной системы химической этиологии развиваются при сочетанном воздействии на организм целого комплекса технологических факторов. Поэтому проведение расширенных экспериментальных исследований позволяет вычлнить фактор химического воздействия из общего комплекса неблагоприятных факторов и ранжировать его значение в развитии различных патологий сердечно-сосудистой системы.

Индол (2,3-бензпиррол) – органическое соединение ряда азотсодержащих гетероциклов, родоначальник обширной группы синтетических и существующих в природе соединений. Его содержание достаточно высоко в каменноугольных смолах, в некоторых растительных эфирных маслах (например, в растениях семейства маслиновые, цитрусовые). Индол и его многочисленные производные широко применяются в химическом производстве, особенно в фармацевтической отрасли. Среди них выявлены соединения, обладающие высокой степенью биологической активности и широкой гаммой фармакологического воздействия на организм человека [3]. Так, у индольного производного – 1-бензилиндола –

выявлена кардиотропная, антиаритмическая, противовоспалительная и местноанестезирующая активность [4].

Широкое использование индола и его соединений отразилось в подробном изучении токсикометрических показателей веществ [5, 6]. Вместе с тем сведения о токсическом влиянии индола и 1-бензилиндола на сердечно-сосудистый комплекс при их длительном поступлении в организм до сих пор отсутствуют. Поэтому целью исследования было экспериментальное изучение токсического влияния индола и его производного 1-бензилиндола на функциональное состояние сердца и показатели крови.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн и условия проведения исследования. Физико-химические и токсикометрические свойства индола и его производного 1-бензилиндола представлены в таблице 1.

Исследования выполнены на 46 белых лабораторных половозрелых крысах-самцах. Животные содержались и выводились из эксперимента в соответствии с требованиями руководства Министерства здравоохранения и социального развития России «Об утверждении правил лабораторной практики» (№ 708-н от 23.08.2010) и международных правил «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (Страсбург, 1986).

Этическая экспертиза. На проведение экспериментального исследования получено положительное решение Комитета по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» (протокол № 3, § 1 от 12.05.2022). Все животные проходили необходимый карантин и находились в стандартных условиях содержания при естественном световом режиме и свободном доступе к воде. Кормили крыс по нормам, установленным приказом Министерства здравоохране-

ТАБЛИЦА 1
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ТОКСИКОМЕТРИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА ИССЛЕДУЕМЫХ ВЕЩЕСТВ

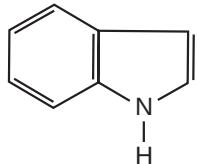
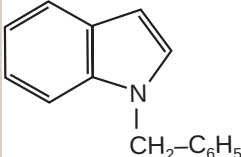
Вещество	Структурная формула	Брутто-формула	Молекулярная масса	Агрегатное состояние	DL ₅₀ (перорально)	Класс опасности
Индол (2,3-бензпиррол) CAS Registry 120-72-9		C ₈ H ₇ N	117,15	Кристаллический порошок бледно-жёлтого цвета с резким характерным индольным запахом	Крысы – 1200 мг/кг [7, 8]	III (умеренно опасно)
1-бензилиндол CAS Registry 3377-71-7		C ₁₅ H ₁₃ N	207,262	Аморфный порошок розовато-кремового цвета со специфическим индольным неприятным запахом	Крысы – 5800 мг/кг	IV (малоопасно)

TABLE 1
PHYSICOCHEMICAL AND TOXICOMETRIC PROPERTIES
OF THE STUDIED SUBSTANCES

ния СССР № 1179 от 10.10.1983 «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждении здравоохранения».

Продолжительность исследования, описание и методы регистрации. Одновременно проводили две серии опытов. В первой крысы были разделены на контрольную группу ($n = 11$) и группу животных, получавших индол ($n = 12$). Во второй серии крысы были разделены на контрольную группу ($n = 11$) и группу животных, получавших 1-бензилиндол ($n = 12$). Продолжительность введения веществ составляла 1 месяц с перерывами на выходные дни. Изучаемые вещества вводили внутривентрикулярно металлическим зондом в дозе $0,1 \text{ DL}_{50}$ в виде 20%-й взвеси на крахмальном геле 5 дней в неделю 1 раз в день. Контрольные животные получали крахмальный гель внутривентрикулярно в соответствующих дозах. Внешний осмотр каждого животного проводили в течение первого часа после введения препарата и каждые 10 дней. Животных еженедельно взвешивали и визуально отмечали отклонения в потреблении корма и воды в отдельных клетках каждый день.

Заключение о степени воздействия веществ на общее состояние животных делали с учётом динамики массы тела и измерения ректальной температуры с помощью электротермометра ТПЭМ-1; оценивались двигательная активность и величина суммационно-порогового показателя (СПП). У животных снимали показатели артериального давления неинвазивным методом с помощью тонометра LE 5001 (PANLAB, S.L. Energia, 112 08940 Cornell, Испания).

В процессе эксперимента, на 10-е и 20-е сутки, у крыс снимали показатели электрокардиограммы (ЭКГ), которые регистрировали во втором стандартном отведении по методу Л.В. Лирмана (1962).

Забор крови осуществляли у крыс из хвостовой вены. Исследования проводили по ряду общепринятых клинических исследований периферической крови: количеству эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, анализу лейкоцитарной формулы. Для определения содержания гемоглобина использовали стандартный цианметгемоглобиновый фотометрический метод [9]. Подсчёт количества эритроцитов и лейкоцитов проводили пробирочным методом в камере Горяева. Расчёт числа эритроцитов и лейкоцитов производили по стандартным формулам.

Стандартными методами с помощью диагностических наборов фирмы «Вектор-Бест» (Россия) определялись следующие биохимические показатели сыворотки крови: активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), глюкозы, мочевины, общего холестерина и триглицеридов.

Проводили гистоморфологическое исследование ткани сердца, печени и почек. В качестве фиксатора использовали 12%-й раствор формалина. После гистологической проводки на аппарате АГП-1 (Россия) образцы заливали в парафин. Готовили срезы толщиной 5–7 мкм на ротационном микротоме МЗП-01 (Россия). Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону для выявления эла-

стических и коллагеновых волокон. Гистологические препараты исследовали методом световой микроскопии на Nikon Eclipse E 200 (Nikon, Япония) с передачей цифрового изображения на монитор и обработкой в программе BioVision 4.0.

Статистический анализ. Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica for Windows v. 10 (StatSoft Inc., США) методами вариационной статистики с расчётом следующих показателей: среднего значения, стандартной ошибки среднего, статистической значимости отличий между группами сравнения по параметрическому критерию Стьюдента (t) в случаях нормального распределения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведённые исследования выявили значительные нарушения в организме экспериментальных животных, подвергшихся воздействию индола и 1-бензилиндола. Электрокардиографическое обследование группы опытных животных, затравленных индолом, выявило статистически значимое увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС) и увеличение продолжительности зубца Р на 10 %, являющееся идентификатором увеличения электрической активности предсердий (табл. 2) [10]. Кроме того, ЭКГ крыс, получавших как индол, так и 1-бензилиндол, показало уменьшение продолжительности комплекса QRS.

Статистически значимое увеличение высоты зубца R при снятии ЭКГ с крыс, переживших отравление 1-бензилиндолом, также является показателем наличия функциональных нарушений сердца.

Показатели электрической активности сердечной мышцы при поступлении в организм индола коррелируют со снижением уровня общей возбудимости опытных животных, которое отразилось в изменении СПП и двигательной активности (табл. 3). Негативное влияние введения индола и 1-бензилиндола на физиологические и поведенческие реакции выразилось в повышении способности нервной системы суммировать подпороговые импульсы на 12 % и снижении двигательной активности животных в лабиринте: общей горизонтальной – на 30 %; направленной горизонтальной и вертикальной – на 40 %, интегрального показателя – на 20 %. На протяжении подострого введения отмечено статистически значимое снижение температуры тела на $0,4\text{--}0,6\text{ }^{\circ}\text{C}$. У животных, переживших отравление индолом, выявлено статистически значимо выраженное снижение артериального давления.

Анализ состава компонентов периферической крови показал, что введение животным исследуемых токсикантов привело к относительной эритропении и снижению концентрации гемоглобина (табл. 4). В количественной характеристике белой крови отмечена относительная лейкопения, развивающаяся за счёт снижения на 21–23 % числа палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Уменьшение количества лейкоцитов привело к относительному лимфоцитозу. Отмечена стати-

ТАБЛИЦА 2
ПОКАЗАТЕЛИ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАММЫ КРЫС
ПРИ ПОДОСТРОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ
ВЕЩЕСТВ ($M \pm m$)

TABLE 2
ELECTROCARDIOGRAM PARAMETERS OF RATS
WITH SUBACUTE INTRAGASTRIC ADMINISTRATION
OF SUBSTANCES ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных (количество)	Индол	1-бензилиндол
ЧСС, в мин	Опыт ($n = 12$)	$524,0 \pm 7,50^*$	$540,0 \pm 9,54$
	Контроль ($n = 11$)	$496,9 \pm 7,74$	$528,0 \pm 11,53$
Продолжительность зубца Р, мс	Опыт ($n = 12$)	$21,2 \pm 0,73^*$	$19,9 \pm 0,21$
	Контроль ($n = 11$)	$19,2 \pm 0,34$	$19,7 \pm 0,22$
Высота зубца Р, мВ	Опыт ($n = 12$)	$0,12 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,02$
	Контроль ($n = 11$)	$0,15 \pm 0,019$	$0,16 \pm 0,01$
Продолжительность интервала Р–Q, мс	Опыт ($n = 12$)	$44,5 \pm 1,25$	$43,4 \pm 0,73$
	Контроль ($n = 11$)	$44,1 \pm 1,16$	$43,1 \pm 1,19$
Продолжительность комплекса QRS, мс	Опыт ($n = 12$)	$19,5 \pm 0,25^*$	$19,4 \pm 0,21^{**}$
	Контроль ($n = 11$)	$20,6 \pm 0,46$	$20,3 \pm 0,21$
Высота зубца R, мВ	Опыт ($n = 12$)	$0,62 \pm 0,07$	$0,77 \pm 0,07^*$
	Контроль ($n = 11$)	$0,65 \pm 0,07$	$0,95 \pm 0,05$

Примечание. Различия с контрольной группой животных статистически значимы: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

ТАБЛИЦА 3
ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ КРЫС
ПРИ ПОДОСТРОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ
ВЕЩЕСТВ ($M \pm m$)

TABLE 3
INTEGRAL INDICATORS OF THE CONDITION OF RATS
WITH SUBACUTE INTRAGASTRIC ADMINISTRATION
OF SUBSTANCES ($M \pm m$)

Показатели	Группы животных (количество)	Индол	1-бензилиндол
Суммационно-пороговый показатель, В	Опыт ($n = 12$)	$4,9 \pm 0,19^*$	$4,8 \pm 0,10$
	Контроль ($n = 11$)	$4,4 \pm 0,15$	$4,6 \pm 0,10$
Температура тела, °C	Опыт ($n = 12$)	$37,7 \pm 0,12^{**}$	$37,5 \pm 0,14^{***}$
	Контроль ($n = 11$)	$38,1 \pm 0,08$	$38,1 \pm 0,06$
Давление, мм рт. ст.	Опыт ($n = 12$)	$132,2 \pm 5,81$	–
	Контроль ($n = 11$)	$136,3 \pm 3,72$	–
	Опыт ($n = 12$)	$81,5 \pm 4,01^*$	–
	Контроль ($n = 11$)	$93,5 \pm 3,65$	–
	Опыт ($n = 12$)	$98,2 \pm 3,18^*$	–
	Контроль ($n = 11$)	$108,5 \pm 3,61$	–
Двигательная активность	Опыт ($n = 12$)	$21,8 \pm 2,78^*$	$24,0 \pm 3,91$
	Контроль ($n = 11$)	$28,9 \pm 1,76$	$27,8 \pm 2,68$
	Опыт ($n = 12$)	$5,7 \pm 1,03$	$5,3 \pm 1,03$
	Контроль ($n = 11$)	$8,2 \pm 1,04$	$7,2 \pm 1,03$
	Опыт ($n = 12$)	$6,3 \pm 1,12$	$5,3 \pm 1,03^*$
	Контроль ($n = 11$)	$9,2 \pm 0,77$	$8,3 \pm 1,04$
интегральный показатель активности	Опыт ($n = 12$)	$11,8 \pm 1,05^*$	$13,0 \pm 1,04$
	Контроль ($n = 11$)	$14,8 \pm 0,32$	$13,8 \pm 0,41$

Примечание. Различия с контрольной группой животных статистически значимы: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

стически не значимо выраженная тенденция к увеличению на 12–15 % количества эозинофилов в крови животных, подвергшихся отравлению индолом.

Уровень гликемии является значимым диагностическим маркером, показывающим степень тяжести биохимических расстройств при интоксикациях. У крыс, за-

травленных индолом, наблюдалось повышение уровня глюкозы в сыворотке крови на 24 %, при затравке 1-бензилиндролом – на 14 % (табл. 4). Отмечено увеличение концентрации мочевины в крови на 20 %.

При введении как индола, так и 1-бензилиндола в сыворотке крови определялась статистически значи-

ТАБЛИЦА 4
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ПОДОСТРОМ
ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ ВЕЩЕСТВ ($M \pm m$)

TABLE 4
HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS
OF BLOOD SERUM OF RATS WITH SUBACUTE
INTRAGASTRIC ADMINISTRATION OF SUBSTANCES
($M \pm m$)

Показатели	Группы животных (количество)	Индол	1-бензилиндрол
Показатели периферической крови			
Гемоглобин, г/л	Опыт ($n = 12$)	156,2 $\pm$ 3,87	148,5 $\pm$ 4,48*
	Контроль ($n = 11$)	161,6 $\pm$ 3,26	161,0 $\pm$ 3,36
Эритроциты, $10^{12}/л$	Опыт ($n = 12$)	7,10 $\pm$ 0,12	6,65 $\pm$ 0,12*
	Контроль ($n = 11$)	7,30 $\pm$ 0,11	7,0 $\pm$ 0,11
Лейкоциты, $10^9/л$	Опыт ($n = 12$)	12,0 $\pm$ 1,22	12,5 $\pm$ 1,08
	Контроль ($n = 11$)	13,6 $\pm$ 1,47	15,2 $\pm$ 1,34
Палочкоядерные нейтрофилы, %	Опыт ($n = 12$)	1,0 $\pm$ 0,01	0,9 $\pm$ 0,12
	Контроль ($n = 11$)	1,3 $\pm$ 0,12	1,0 $\pm$ 0,24
Сегментоядерные нейтрофилы, %	Опыт ($n = 12$)	14,9 $\pm$ 1,12	20,1 $\pm$ 1,83
	Контроль ($n = 11$)	21,7 $\pm$ 1,84	24,1 $\pm$ 2,82
Эозинофилы, %	Опыт ($n = 12$)	2,8 $\pm$ 0,62	2,8 $\pm$ 0,62
	Контроль ($n = 11$)	2,2 $\pm$ 0,87	2,2 $\pm$ 0,37
Моноциты, %	Опыт ($n = 12$)	6,1 $\pm$ 0,50	6,6 $\pm$ 0,37
	Контроль ($n = 11$)	7,1 $\pm$ 0,74	6,8 $\pm$ 0,74
Лимфоциты, %	Опыт ($n = 12$)	76,6 $\pm$ 1,12	67,8 $\pm$ 1,85
	Контроль ($n = 11$)	67,6 $\pm$ 3,36	63,0 $\pm$ 3,48
Биохимические показатели сыворотки крови			
Активность АсАТ, ммоль/(ч • л)	Опыт ($n = 12$)	1,99 $\pm$ 0,074***	1,73 $\pm$ 0,040***
	Контроль ($n = 11$)	1,49 $\pm$ 0,075	1,47 $\pm$ 0,047
Активность АлАТ, ммоль/(ч • л)	Опыт ($n = 12$)	1,27 $\pm$ 0,115***	0,77 $\pm$ 0,073
	Контроль ($n = 11$)	0,62 $\pm$ 0,050	0,67 $\pm$ 0,044
Холестерин, ммоль/л	Опыт ($n = 12$)	2,0 $\pm$ 0,097**	2,0 $\pm$ 0,125***
	Контроль ($n = 11$)	1,6 $\pm$ 0,086	1,4 $\pm$ 0,051
Триглицериды, ммоль/л	Опыт ($n = 12$)	0,67 $\pm$ 0,054**	0,65 $\pm$ 0,042*
	Контроль ($n = 11$)	0,45 $\pm$ 0,054	0,43 $\pm$ 0,078
Мочевина, ммоль/л	Опыт ($n = 12$)	5,9 $\pm$ 0,164	6,7 $\pm$ 0,470**
	Контроль ($n = 11$)	4,9 $\pm$ 0,122	5,2 $\pm$ 0,156
Глюкоза, ммоль/л	Опыт ($n = 12$)	7,7 $\pm$ 0,222***	8,0 $\pm$ 0,347
	Контроль ($n = 11$)	6,2 $\pm$ 0,261	7,0 $\pm$ 0,295

Примечание. Различия с контрольной группой животных статистически значимы: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

мо повышенная в 1,2–1,3 раза активность АсАТ и АлАТ. Изучение липидного обмена обнаружило увеличение концентрации общего холестерина в сыворотке крови на 25 % при введении индола и на 40 % при введении 1-бензилиндола, а также триглицеридов – на 45 и 50 % соответственно.

Выявленные на функциональном и биохимическом уровнях изменения подтверждаются данными морфологических исследований ткани сердца, печени и почек. Так, в миокарде выявлены следующие изменения: кардиомиоциты истончённые, с наличием подчёркнутой истерченности; сосуды микроциркуляторного русла выражено полнокровны; межмышечные пространства расширены; в некоторых участках миокарда выявлены остаточные следы круглоклеточной инфильтрации. За счёт некоторой «гомогенизации» среднего слоя сосудистой стенки наблюдается утолщение сосудов; в них отмечается незначительная инфильтрация с элементами лимфоидного ряда. В сосудистом просвете – явления стаза со скоплением агрегированных эритроцитов.

В печени отмечена умеренно выраженная жировая дистрофия, которой сопутствовало значительное уменьшение содержания гликогена в цитоплазме гепатоцитов в сравнении с контролем.

Поступление токсикантов вызвало ответную компенсаторно-приспособительную реакцию организма, которая проявилась в диффузной пролиферации купферовых клеток. Ренальные повреждения выражены в виде увеличенных в размерах клубочков; в результате набухания капиллярного эндотелия просвет капсулы Шумлянского – Боумана сужен, эпителий канальцев почек набухший, в просвете канальцев обнаруживаются рыхлые белковые массы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о токсическом влиянии индола и 1-бензилиндола на сердечно-сосудистую систему в российских и иностранных открытых источниках незначительны, в то время как индол и его производные являются ценным промышленным сырьём для химической и фармацевтической промышленности. Проведённые исследования определили изученные ксенобиотики как умеренно и малоопасные при остром внутрижелудочном поступлении в организм, но это не исключает возможного токсического действия, особенно на сердце и систему крови, при подостром и хроническом воздействии.

Результаты проведённого эксперимента обнаружили функциональные нарушения в работе сердца. При ЭКГ-мониторинге группы животных, получавших индол, выявлены признаки увеличения электрической активности предсердий. Выявленное на ЭКГ крыс, подвергшихся отравлению обоими веществами, укорочение продолжительности комплекса QRS по сравнению с контролем может свидетельствовать об ускорении процесса депolarизации и служить признаком электрической нестабильности миокарда [11].

Поражения кардиососудистого тракта не являются обособленными, а развиваются в сочетании с другими общими и специфическими проявлениями повреждающего действия химического агента на организм. Введение как индола, так и 1-бензилиндола статистически значимо снижало артериальное давление и температуру тела, вызывало изменение показателей двигательной активности и СПП, что демонстрирует снижение общей возбудимости организма животных.

Являясь универсальной, система защиты организма вызывает целый ряд монотипных ответных гематологических реакций. Поступление веществ в организм вызывает системное поражение процессов гемопоэза, которое проявляется в виде уменьшения количества эритроцитов и концентрации гемоглобина [12, 13]. Наиболее типичной защитной реакцией организма на воздействие токсинов может считаться изменение процентного соотношения элементов белой крови. При исследовании состава белой крови отмечена относительная лейкопения за счёт снижения числа палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, что может иметь диагностическое значение. Уменьшение количества лейкоцитов привело к относительному лимфоцитозу. Количество эозинофилов в крови животных, подвергшихся отравлению индолом, увеличено.

Повышенный уровень активности ферментов в медико-биологических исследованиях служит маркером больного органа, отражающим уровень его морфологических деструктивных изменений и физиологической интенсивности метаболизма. Уровень гликемии отражает масштаб тяжести биохимических расстройств при интоксикациях. У крыс, затравленных индолом и 1-бензилиндолом, отмечено повышение уровня глюкозы в сыворотке крови, что может свидетельствовать о нарушении окисления основных энергетических субстратов в органах в результате их токсического повреждения.

В стандартных клинических исследованиях определение изменения активности аминотрансфераз считается одним из наиболее высокочувствительных маркерных анализов для изучения функционального состояния сердечно-сосудистой системы. Данные ферменты являются индикаторами состояния мембран органов, для которых характерна их наибольшая активность. Для АсАТ в первую очередь таким органом является миокард [14, 15]. Поэтому повышенная активность АсАТ в сыворотке крови животных, получавших индол и 1-бензилиндол, отражает вероятные мембранные нарушения, сопровождающиеся выходом фермента в кровь. При этом повышение активности АлАТ может сигнализировать не только о поражении гепатоцитов, но и о доминирующих в организме экспериментальных животных анаболических процессах [16].

При изучении липидного обмена выявлено увеличение концентрации общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови опытных групп животных. Протерогенное действие токсикантов может стать одним из преморбидных факторов, вызывающих развитие артериальной гипертензии в условиях хронического отравления. Развивающаяся в условиях интоксикации ги-

перхолестеринемия может быть обусловлена как способностью ксенобиотиков к активации ряда ферментов, участвующих в биосинтезе холестерина, так и параллельным ингибированием энзимов, участвующих в его расщеплении [17].

Выявленное в эксперименте увеличение концентрации мочевины в сыворотке крови на 20 % может сигнализировать о начальных стадиях нарушения портального кровообращения с присоединением почечной недостаточности.

Морфогистологические исследования подтвердили токсический эффект на сердце животных, подвергшихся отравлению индолом и 1-бензилиндолом. В строении сердца крыс, затравленных этими соединениями, прослеживались изменения дистрофического характера, гипертрофических и атрофических изменений отдельных волокон, в микроциркуляторном сосудистом русле стенки утолщены за счёт гипертрофии клеток мышечного слоя, резко выражено полнокровие.

Ограничения исследования. Исследование ограничено изучением токсикологических характеристик индола и 1-бензилиндола. Опыты *in vivo*, проведённые в соответствии с директивными документами по охране экспериментальных животных, ограничивают их количество, связанное с опасностями животных и с общественными этическими взглядами на опыты *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментальных исследований показали, что индол и 1-бензилиндол в условиях длительного поступления в организм приводят к нарушениям работы сердца, клиническими проявлениями которых могут стать такие заболевания, как артериальная гипертензия, кардиосклероз, стенокардия, аритмии сердца, атеросклеротическое поражение сосудов. С целью профилактики на производствах, где возможен контакт работающих с индолом и его производными, кроме постоянного мониторинга рабочих мест и обязательного использования средств индивидуальной защиты, необходимы регулярные профосмотры работников с расширенными показателями общего и биохимического анализов крови и обязательным контролем ЭКГ.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование

Исследование не имело финансовой поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ядыкина Т.К., Коротенко О.Ю., Панев Н.И., Семенова Е.А., Жукова А.Г., Михайлова Н.Н. Клинико-экспериментальные исследования особенностей формирования сердечно-сосудистых нарушений в условиях фтористой интоксикации организма. *Медицина труда и промышленная экология*. 2020; 60(6): 375-380. [Yadykina TK, Korotenko OYu, Panev NI, Semenova EA, Zhukova AG, Mikhailova NN. Clinical and experimental studies of cardiovascular disorders in the conditions of fluoride intoxication of the body. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2020; 60(6): 375-380. (In Russ.)]. doi: 10.31089/1026-9428-2020-60-6-375-380
2. Еропкин М.Ю. Механизмы и модели исследования токсичности на клеточном уровне. *Прикладная токсикология*. 2010; 1(2): 30-49. [Eropkin MYu. Mechanisms and models for studying toxicity at the cellular level. *Prikladnaya toksikologiya*. 2010; 1(2): 30-49. (In Russ.)].
3. Малышкина Н.А., Юшков Г.Г., Моторина И.Г., Юшков А.Г. Индол и его производные в медицине. *Вестник Ангарского государственного технического университета*. 2022; 16: 192-197. [Malyshkina NA, Yushkov GG, Motorina IG, Yushkov AG. Indole and its derivatives in medicine. *Bulletin of the Angarsk State Technical University*. 2022; 16: 192-197. (In Russ.)]. doi: 10.36629/2686-777X-2022-1-16-192-197
4. Богус С.К., Галенко-Ярошевский П.А., Суздаев К.Ф. Антиаритмическая активность производного индола SS-68 при желудочковых и предсердных формах нарушений ритма сердца. *Новые технологии*. 2012; 4: 274-279. [Bogus SK, Galenko-Yaroshevsky PA, Suzdalev KF. Antiarrhythmic activity of indole derivative SS-68 in ventricular and atrial forms of heart rhythm disorders. *New Technologies*. 2012; 4: 274-279. (In Russ.)].
5. National Center for Biotechnology Information (NCBI). PubChem compound summary for CID 798, indole. 2021. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Indole> [date of access: 28.05.2022].
6. National Center for Biotechnology Information (NCBI). PubChem compound summary for CID 96913, 1-benzylindole. 2021. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Benzylindole> [date of access: 28.05.2022].
7. Мартынова Н.А., Горохова Л.Г. Токсикологическая характеристика индола как основа его гигиенического нормирования. *Гигиена и санитария*. 2012; 91(6): 61-64. [Martynova NA, Gorokhova LG. Toxicological characteristics of indole as the basis for its hygienic regulation. *Hygiene and Sanitation*. 2012; 91(6): 61-64. (In Russ.)].
8. Мартынова Н.А., Горохова Л.Г. Токсикологическая оценка индола. *Acta biomedica scientifica*. 2009; 1(65): 248-251. [Martynova NA, Gorokhova LG. Toxicological evaluation of indole. *Acta biomedica scientifica*. 2009; 1(65): 248-251. (In Russ.)].
9. Чечеткин А.В., Касьянов А.Д., Голованова И.С., Гришина Г.В., Кирьянова Г.Ю., Потихонова Н.А., и др. Анализ соответствия гематологических методов исследования при контроле качества эритроцитсодержащих компонентов крови. *Трансфузиология*. 2019; 20(3): 81-192. [Chechetkin AV, Kas'yanov DA, Golovanova IS, Grishina GV, Kiryanova GY, Potihonova NA, et al. Compliance analysis of haematological research methods for the quality control of red blood cell components. *Transfusiology*. 2019; 20(3): 81-192. (In Russ.)].
10. Привалова И.Л., Шевелев О.А., Ходорович Н.А. Кузнецова Т.Ш., Глотова И.В., Легостаева Т.Н., и др. Электрокардиография у крыс в экспериментальных исследованиях (обзор литературы). *Генетика и разведение животных*. 2019; (2): 108-120. [Privalova IL, Shevelev OA, Hodorovich NA, Kuznetsova TS, Glotova IB, Legostaeva TN, et al. Electrocardiography in experimental studies (literature review). *Genetika i razvedenie zhivotnykh*. 2019; (2): 108-120. (In Russ.)].

Glotova IV, Legostaeva TN, et al. Electrocardiography in rats in experimental studies (review of the literature). *Genetics and Breeding of Animals*. 2019; (2): 108-120. (In Russ.)). doi: 10.31043/2410-2733-2019-2-108-120

11. Лычева Н.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Рыбакова А.В. Влияние различных видов анестезии на параметры электрокардиограммы у крыс. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018; 2: 16-23. [Lycheva NA, Makarova MN, Makarov VG, Rybakova AV. Effect of different species of anesthesia on electrocardiogram parameters in rats. *Laboratory Animals for Science*. 2018; 2: 16-23. (In Russ.)). doi: 10.29296/2618723X-2018-02-02

12. Салахутдинов Н.Ф., Лаев С.С., Сергеевичев Д.С. Модуляторы нарушения гемопоэза (обзор). *Химия в интересах устойчивого развития*. 2020; 28(4): 343-365. [Salakhutdinov NF, Laev SS, Sergeevichev DS. Modulators of hematopoiesis disorders (a review). *Chemistry for Sustainable Development*. 2020; 28(4): 343-365. (In Russ.)). doi: 10.15372/KhUR2020239

13. Mandarapu R, Prakhya BM. *In vitro* myelotoxic effects of cypermethrin and mancozeb on human hematopoietic progenitor cells. *J Immunotoxicol*. 2015; 12(1): 48-55. doi: 10.3109/1547691X.2014.880535

14. Кудяева И.В., Маснавиева Л.Б., Дьякович О.А. Бейгель Е.А., Шаяхметов С.Ф., Авраменко К.А. Биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции и состояния сердечно-сосудистой системы у лиц с профессиональной бронхолегочной патологией. *Медицина труда и промышленная эко-*

логия. 2017; 1: 6-10. [Kudayeva IV, Masnavieva LB, D'yakovich OA, Beygel' EA, Shayahmetov SF, Avramenko KA. Biochemical markers of endothelial dysfunction and cardiovascular system state in patients with occupational bronchopulmonary diseases. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2017; 1: 6-10. (In Russ.)).

15. O'Connor RE, Brady W, Brooks SC, Diercks D, Egan J, Ghaemmaghami C, et al. Part 10: Acute coronary syndromes. 2010 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation*. 2010; 122(12): 787-817. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.971028

16. Рослый И.М., Водолажская М.Г. *Правила чтения биохимического анализа. Руководство для врача*; 3-е изд. М.: МИА; 2020. [Rosly IM, Vodolazskaya MG. *Rules for reading biochemical analysis. Guide*; 3rd ed. Moscow: MIA; 2020. (In Russ.)).

17. Зайцева Н.В., Устинова О.Ю., Землянова М.А., Горяев Д.В., Лужецкий К.П., Валина С.Л., и др. Роль химических факторов риска в развитии сосудистых нарушений у взрослого населения селитебных территорий в зоне влияния предприятий алюминиевого производства. *Медицина труда и промышленная экология*. 2017; 11: 8-13. [Zaitseva NV, Ustinova OYu, Zemlyanova MA, Goryaev DV, Luzhetskiy KP, Valina SL, et al. Role of chemical risk factors in vascular disorders development in adult residents of populated area influenced by aluminium production enterprises. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2017; (11): 8-13. (In Russ.)).

Сведения об авторах

Горохова Лариса Геннадьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний»; доцент кафедры естественнонаучных дисциплин, Кузбасский гуманитарно-педагогический институт ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», e-mail: ponomarikova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0545-631X>

Михайлова Надежда Николаевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: napmih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1127-6980>

Жукова Анна Геннадьевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний»; заведующая кафедрой естественнонаучных дисциплин, Кузбасский гуманитарно-педагогический институт ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», e-mail: nyura_g@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4797-7842>

Казницкая Анастасия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и экспериментальных исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: anastasiya_kazitskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8292-4810>

Information about the authors

Larisa G. Gorokhova – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Molecular Genetic and Experimental Research, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases; Associate Professor at the Department of Natural Sciences, Kuzbass Humanitarian Pedagogical Institute, Kemerovo State University, e-mail: ponomarikova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0545-631X>

Nadezhda N. Mikhailova – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer at the Laboratory of Molecular Genetic and Experimental Research, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: napmih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1127-6980>

Anna G. Zhukova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Genetic and Experimental Research, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases; Head of the Department of Natural Sciences, Kuzbass Humanitarian Pedagogical Institute, Kemerovo State University, e-mail: nyura_g@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4797-7842>

Anastasiya S. Kazitskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Genetic and Experimental Research, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: anastasiya_kazitskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8292-4810>

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ, ИММУННЫЕ И СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В РЕГЕНЕРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Плехова Н.Г.,
Королев Д.В.,
Шуматов В.Б.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский
государственный медицинский
университет» Минздрава России
(690002, г. Владивосток,
просп. Острякова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Плехова Наталья Геннадьевна,
e-mail: pl_nat@hotmail.com

РЕЗЮМЕ

Заживление ран является пространственно-временным и строго регулируемым процессом, который подразделяется на четыре непрерывных и перекрывающихся этапа: гемостаз, воспаление, репарация (пролиферация) и ремоделирование. Все этапы контролируются различными системами организма и зависят от регуляторной роли иммунных и стволовых клеток. Несмотря на значительный прогресс в понимании клеточных и молекулярных механизмов развития воспаления, остаётся не до конца ясной роль иммунной микросреды в процессе регенерации. С одной стороны, доказано решающее значение клеточных и молекулярных компонентов иммунной системы в репаративной реакции тканей, включая степень рубцевания, восстановление структуры и функции органов, а с другой – представлены малочисленные данные о потере способности тканей к регенерации, связанные с эволюцией иммунной компетентности. В обзоре представлены ключевые клеточно-молекулярные механизмы иммунного ответа и участия стволовых клеток в процессе репарации мягких тканей при их взаимодействии с внеклеточным матриксом. Проведён анализ последних научных данных об участии компонентов иммунной микросреды и стволовых клеток в репарации мягких тканей по публикациям, представленным в системах Google Scholar, Medline, PubMed, Scopus, Web of Science. Показано, что характер такого ответа и его продолжительность оказывают значительное влияние на исход репарации – от неполного восстановления (рубцевание или фиброз) до полноценной регенерации. Указывается, что в процессах репарации и ремоделирования мягких тканей принимают участие различные типы иммунных и стволовых клеток, и их взаимодействие должно быть точно контролируемым. Данные обзора могут стать основой для разработки новых терапевтических подходов для восстановления мягких тканей посредством иммунной регуляции или использованием стволовых клеток и внеклеточных везикул.

Ключевые слова: иммунная микросреда, стволовые клетки, мягкие ткани, регенерация, межклеточное взаимодействие

Статья поступила: 01.06.2023

Статья принята: 25.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Плехова Н.Г., Королев Д.В., Шуматов В.Б. Молекулярные компоненты, иммунные и стволовые клетки в регенерации мягких тканей. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 73-84. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.8

MOLECULAR COMPONENTS, IMMUNE AND STEM CELLS IN SOFT TISSUE REGENERATION

**Plekhova N.G.,
Korolev D.V.,
Shumatov V.B.**

Pacific State Medical University
(Ostryakova Ave. 2, Vladivostok 690002,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia G. Plekhova,
e-mail: pl_nat@hotmail.com

ABSTRACT

Wound healing is a spatiotemporal and highly regulated process that is divided into four continuous and overlapping stages: hemostasis, inflammation, repair (proliferation) and remodeling. All stages are controlled by various body systems and depend on the regulatory role of immune and stem cells. Despite significant progress in understanding the cellular and molecular mechanisms of inflammation, the role of the immune microenvironment in the regeneration process remains unclear. On the one hand, the critical importance of the cellular and molecular components of the immune system in the reparative response of tissues, including the degree of scarring, restoration of structure and function of organs, has been proven, and on the other hand, little data is presented on the loss of tissue regeneration ability associated with the immune competence evolution. The review presents the key cellular and molecular mechanisms of the immune response and of the stem cells participation soft tissue repair process during their interaction with the extracellular matrix. An analysis of the latest scientific data on the participation of components of the immune microenvironment and of stem cells in soft tissue repair process was carried out based on the publications presented in Google Scholar, Medline, PubMed, Scopus and Web of Science. It has been shown that the nature of this response and its duration have a significant impact on the outcome of repair – from incomplete recovery (scarring or fibrosis) to full regeneration. It is indicated that various types of immune and stem cells take part in the soft tissue repair and remodeling processes, and their interaction must be precisely controlled. The review data may provide the basis for the development of new therapeutic approaches for soft tissue repair through immune regulation or the use of stem cells and extracellular vesicles.

Key words: immune microenvironment, stem cells, soft tissues, regeneration, intercellular interaction

Received: 01.06.2023
Accepted: 25.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Plekhova N.G., Korolev D.V., Shumatov V.B. Molecular components, immune and stem cells in soft tissue regeneration. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 73-84. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.8

Процесс регенерации мягких тканей после повреждения сопровождается активацией различных клеток – тромбоцитов, нейтрофилов, макрофагов, эндотелиальных клеток, кератиноцитов и фибробластов, а также секрецией биологически активных веществ (факторов роста, цитокинов, хемокинов и других), необходимых для координации межклеточных взаимодействий. Этот процесс последовательно включает четыре скоординированных этапа: гемостаз, воспаление, репарация (пролиферация) и ремоделирование, – которые контролируются различными системами организма (рис. 1) [1]. Регулирующая роль иммунных клеток в развитии начальных этапов заживления тканей определяет эффективность последующей репарации и ремоделирования [1, 2]. Несмотря на значительный прогресс в понимании клеточных и молекулярных механизмов репарации, остаётся под вопросом: «Почему отмечается тенденция к неполному заживлению (субституции) и рубцеванию повреждённых тканей и не происходит её полной регенерации?». С одной стороны, доказана важная роль иммунной системы в репаративной реакции, в том числе в развитии и выраженности рубцевания, с другой – получены данные о потере способности тканей к регенерации, связанные с эволюцией иммунной компетентности. В клинической практике нарушение и хронизация регенерации при травматических дефектах мягких тканей (травмы, послеоперационные раны, инфицированные раны) представляют серьёзную проблему. Понимание механизмов регенерации, в частности регуляторной роли внеклеточного матрикса на тканевой гомеостаз, необходимо для разработки способов лечения таких дефектов. Взаимосвязь между заживлением ткани и иммунным ответом зависит от органной локализации процесса, периода жизни организма (эмбриональный, неонатальный, постнатальный) и может оказывать как отрицательное, так и положительное влияние [3]. В настоящем обзоре представлены основные клеточно-молекулярные механизмы иммунного ответа, участвующие в процессе заживления мягких тканей. Характер иммунного ответа и его продолжительность оказывают значительное влияние на исход репарации, определяют завершённость регенераторного процесса – неполное (рубцевание или фиброз) или полное (реституция) восстановление.

Действие экзогенных этиологических факторов механической (травма, ранение), термической или химической природы в мягких тканях инициирует первичную альтерацию и приводит к длительному периоду нарастания проницаемости сосудов с некрозом эндотелиальных клеток на уровне артериол. В области повреждения активируется гемостаз с образованием сгустка и экссудативная реакция с выходом плазмы крови и клеток воспалительного инфильтрата в паравазальное пространство. Раннюю транзитную реакцию повышения сосудистой проницаемости обуславливает действие гистамина, прогестерона, лейкотриена E₄, серотонина, брадикинина (см. рис. 1). Одним из ведущих медиаторов отсроченной и стойкой реакции является медленно реагирующая субстанция анафилаксии, которая включает

различные лейкотриены, выделяется тучными клетками и вызывает протеолиз базальных мембран микрососудов [4]. Расширение сосудов с повышением проницаемости эндотелия облегчает миграцию в очаг повреждения моноцитов и нейтрофилов, привлекаемых хемокинами, факторами роста и цитокинами, секретлируемыми тромбоцитами, агрегированными в очаге поражения во время образования гемостатического сгустка [4].

Нейтрофилы

При повреждении тканей мгновенную защиту от потенциальных патогенов обеспечивают клетки врождённого иммунитета (см. рис. 1), и даже при отсутствии патогенов иммунный ответ, изначально запускаемый молекулярными сигналами от повреждённых клеток, может вызвать асептическое (стерильное) воспаление [5]. Рекрутирование нейтрофилов и хоуминг этих клеток в очаг повреждения обеспечиваются провоспалительными цитокинами, в частности фактором некроза опухоли альфа (TNF- α , tumor necrosis factor α), фактором роста тромбоцитов (PDGF, platelet-derived growth factor), трансформирующим фактором роста бета (TGF- β , transforming growth factor β), производными арахидоновой кислоты – лейкотриенами и простагландинами, а также компонентами комплемента C3a и C5a [2, 6–8]. Процесс эффективного заживления ран требует активного участия нейтрофилов, экспрессирующих паттерн-распознающие рецепторы для микробных и патоген-ассоциированных молекул (MAMP/PAMP microbe-/pathogen-associated molecular pattern), а также паттерны повреждённых клеток (DAMP, damage-associated molecular pattern) [2, 6]. Такие клетки фагоцитируются макрофагами посредством интегринов β_2 , что индуцирует в них высвобождение TGF- β_1 , который стимулирует дифференцировку миофибробластов, способствуя синтезу коллагена и уменьшению площади повреждения [9]. Присутствие нейтрофилов в месте повреждения, как правило, ограничивается фазой активного воспаления; их более длительное присутствие при физической травме и/или продолжающемся заражении оказывает вредное воздействие и препятствует эффективному заживлению ран [2, 10]. Экспрессия нейтрофилами паттерн-распознающих рецепторов DAMP и MAMP в сочетании с высвобождением цитокинов ещё больше усиливает воспалительную реакцию в месте повреждения. При этом в нейтрофилах активируется универсальный ядерный транскрипционный фактор «каппа-би» (NF- κ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла [11, 12]. Токсический арсенал нейтрофилов направленный, в первую очередь, против патогенов, при высвобождении в результате некроза, а не апоптоза приводит к повреждению внеклеточного матрикса, что оказывает влияние на свёртывание крови и другие механизмы, участвующие в заживлении ран [2, 8, 10, 13]. Негативное влияние нейтрофилов может проявляться в инициации вторичного повреждения мягких тканей, в том числе при реперфузии, что увеличивает приток этих клеток и фор-

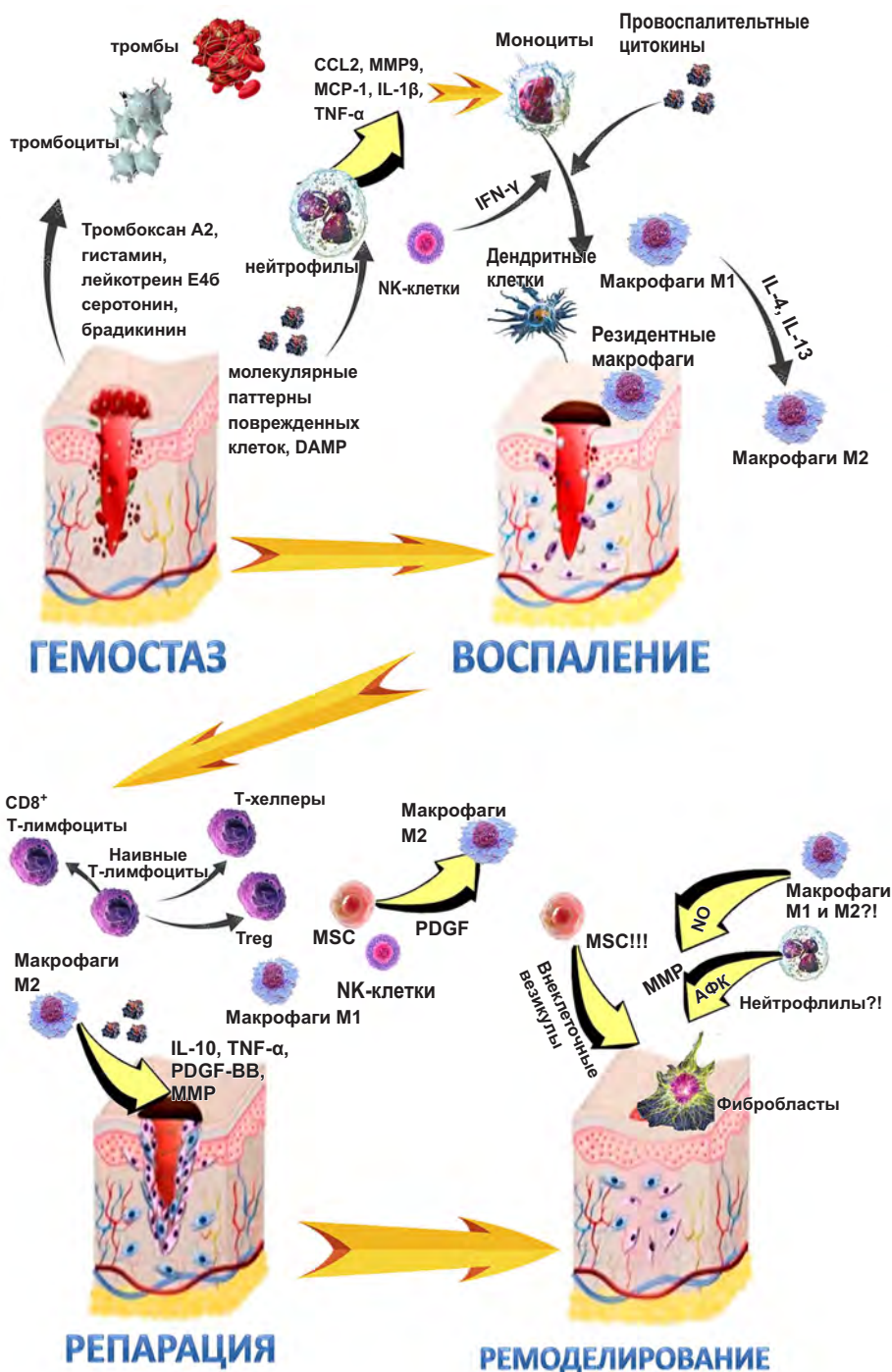


РИС. 1.

Иммунное микроокружение и передача межклеточных сигналов при регенерации мягких тканей. Этапы заживления, включая гемостаз, воспаление, репарацию и ремоделирование. CCL2 – хемокин лиганда 2 (C-C motif ligand 2); MMP – матриксная металлопротеиназа (matrix metalloproteinase); MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (monocyte chemoattractant protein-1); IL – интерлейкин; TNF-α – фактор некроза опухоли α (tumor necrosis factor α); IFN-γ – гамма-интерферон; NK – натуральные киллеры (natural killer); DAMP – молекулярный паттерн повреждённых клеток (damage-associated molecular pattern); Treg – регуляторные T-клетки; MSC – мезенхимальные стволовые клетки (mesenchymal stem cells); PDGF – тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor); NO – оксид азота (nitrogen oxide); АФК – активные формы кислорода

FIG. 1.

Immune microenvironment and transmission of intercellular signals during soft tissue regeneration. Stages of healing including hemostasis, inflammation, repair and remodeling. CCL2 – C-C motif ligand 2; MMP – matrix metalloproteinase; MCP-1 – monocyte chemoattractant protein-1; IL – interleukin; TNF-α – tumor necrosis factor α; IFN-γ – interferon γ; NK – natural killers; DAMP – damage-associated molecular pattern; Treg – regulatory T cells; MSC – mesenchymal stem cells; PDGF – platelet-derived growth factor; NO – nitrogen oxide; AФК – active oxygen species

мирование устойчивого воспаления [14]. Другим примером нежелательных эффектов нейтрофилов является чрезмерное формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET, neutrophil extracellular traps), которое рассматривается в качестве ингибитора заживления ран у пациентов с сахарным диабетом [15]. NET является эффекторной функцией нейтрофилов с выходом бактерицидных компонентов гранул в цитоплазму, модификацией гистонов, что приводит к деконденсации хроматина, разрушению ядерной оболочки и цитоплазматической мембраны при участии белка газдермина D. В дальнейшем происходит выброс хроматина за пределы клетки, и формируется структура из модифицированного хроматина ядра, окружённого бактерицидными белками гранул и цитоплазмы. Неконтролируемое образование NET является провоцирующим фактором развития многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний [15].

Физиологическая роль нейтрофилов в заживлении ран заключается не только в клиренсе патогенов, но и в удалении остатков повреждённых клеток, в том числе эритроцитов. При репарации мягких тканей нейтрофилы не оказывают прямого влияния на синтез коллагена или образование грануляционной ткани, но продукция ими цитокинов, в том числе TNF- α , может способствовать реэпителизации и закрытию раны [16]. В целом утверждение об отсутствии влияния нейтрофилов на заживление ран посредством регулирующего воздействия на синтез компонентов соединительной ткани довольно спорно. Так, например, на экспериментальной модели асептических ран показано, что нейтрофилы принимают участие в воспалении, которое завершается безрубцовой регенерацией [17]. Причём снижение количества нейтрофилов при таком типе повреждения мягких тканей без участия бактерий коррелирует с высоким уровнем противовоспалительного цитокина интерлейкина (IL) 10, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) и ускоренной эпителизацией ран [18, 19]. Секретируемые нейтрофилами VEGF стимулирует ангиогенез и способствует репарации тканей [20]. Существует несколько механизмов контроля влияния нейтрофилов на индукцию репарации, в частности через удаление генерируемых гиперактивированными нейтрофилами свободных радикалов с помощью супероксиддисмутазы-3 (СОД-3) мезенхимальных стволовых клеток (MSC, mesenchymal stem cells) [21]. Кроме того, сами MSC могут замедлять миграцию нейтрофилов посредством экспрессии гена белка TNF-6 и продукции IL-10. Показано, что эпидермальный фактор роста в составе слюны снижает рекрутирование и активность нейтрофилов, что объясняет положительный эффект зализывания ран у животных [22]. Положительным эффектом нейтрофилов на заживление ран является также их влияние на гиперпролиферацию клеток и предотвращение малигнизации [23]. Выраженная воспалительная реакция мягких тканей с наличием нейтрофилов, нейтрализующих бактерии, может иметь решающее значение для контроля комменсальной микробиоты и последующей пролиферации эпите-

лиоцитов [17]. Значение также имеет участие мощного окислительного потенциала нейтрофилов (продукция активных форм кислорода (АФК)): помимо бактерицидного воздействия, они дополнительно снабжают кислородом пролиферирующие клетки [24]. Нейтрофилы поддерживают опосредованное синтезом моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1) и хемокинового лиганда 3 (CCL3, C-C motif ligand 3) дополнительное привлечение в очаг повреждения макрофагов и Т-лимфоцитов [25]. При инфицировании раны нейтрофилы путём высвобождения карбоангидразы, элиминации DAMP и MAMP изменяют микроокружение, что также способствует процессам заживления [6]. После удаления бактерий и некротизированной ткани нейтрофилы подвергаются апоптозу или некрозу и поглощаются макрофагами посредством эффероцитоза [26, 27]. Часть нейтрофилов покидает место повреждения и возвращается в кровеносную систему путём обратной миграции. В случае, если нейтрофилы не элиминируются из места повреждения, развивается вторичный некроз с высвобождением провоспалительных и цитотоксических молекул. Поэтому численность и активность этих клеток требует жёсткой регуляции, что представляет собой определённую проблему, особенно в условиях хронического течения тяжёлой травмы.

В последнее время активно обсуждается ещё один механизм участия нейтрофилов в разрешении воспаления при повреждении тканей [2, 28]. Реакция в виде миграции к месту воспаления у этих клеток часто переклывается с исследовательского патрулирования на скоординированное образование плотных скоплений, так называемое «роение», которое ещё больше нарушает архитектуру окружающей ткани [28]. Ответ в форме агрегации клеток (их самоорганизации) происходит за счёт передачи сигналов паракринными хемоаттрактантами самих нейтрофилов и в первую очередь медиатора воспаления – лейкотриена B₄ [LTB₄]. Механизм координации роёв нейтрофилов частично запускается устойчивым потоком кальция из некротизированной ткани, что требует восприятия сигнала повреждения с участием аденозинтрифосфата (АТФ). Этот сигнал «кальциевой тревоги» быстро распространяется в зарождающемся скоплении нейтрофилов контактно-зависимым способом через полуканалы коннексина-43 (Cx43, connexin 43), которые являются медиаторами активного высвобождения молекул АТФ. В результате этого усиливается биосинтез хемоаттрактантов в растущем кластере, что способствует скоординированному движению и роению клеток. Регуляторные механизмы ограничения роста роёв осуществляются с участием АФК и, возможно, путём модуляции активности ионных каналов [29]. Может также существовать сходство с нейтрофильными внеклеточными ловушками, образование которых усиливается при участии АТФ и варьирует в зависимости от плотности популяции клеток [30]. Также в отношении фазы разрешения не ясно, могут ли моноциты или макрофаги разрешать каскад рекрутирования в рои нейтрофилов.

Макрофаги

Инфильтрация очага повреждения нейтрофилами и моноцитами осуществляется в ответ на появление хемоаттрактантов, а именно белковых фрагментов внеклеточного матрикса (MCP-1) и воспалительных хемокинов (CXCL8, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CXCL10). Моноциты дифференцируются в активные макрофаги, которые в свою очередь синтезируют цитокины и хемокины, что вызывает последующую мобилизацию и рекрутирование лимфоцитов в раневое ложе с развитием дальнейшей межклеточной коммуникации (см. рис. 1) [1]. В то же время резидентные макрофаги вблизи капилляров в очаге повреждения распознают сигналы внеклеточного матрикса и начинают экспрессировать на своей поверхности пурин-продуцирующие рецепторы, которые способствуют привлечению других клеток [31]. На основании различной роли в процессе заживления макрофаги можно условно разделить на два типа: воспалительные (тип M1), утилизирующие и ремоделирующие ткани (тип M2) [32, 33]. Клетки типа M1 продуцируют провоспалительные цитокины, обладают высокой фагоцитарной активностью, могут поглощать апоптотически изменённые нейтрофилы и удалять патогены и погибшие клетки, тогда как клетки типа M2 обладают противовоспалительным действием и регулируют ангиогенез, регенерацию фибробластов, дифференцировку миофибробластов и выработку коллагена [33]. Поляризация макрофагов в фенотип M1 осуществляется под влиянием интерферона γ (IFN- γ), интерлейкинов (IL-2, IL-3, IL-12), TNF- α , а также под воздействием липополисахаридов и агонистов Toll-подобных рецепторов (TLR, Toll-like receptors) [33, 34]. Эти клетки секретируют провоспалительные интерлейкины (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23), TNF- α , хемокины (C-X-C motif), лиганды к ним (CXCL-9 и CXCL10) и участвуют в воспалительных реакциях. Такие цитокины, как IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) индуцируют поляризацию макрофагов M2, которые секретируют противовоспалительные молекулы, способствуя регенерации тканей [35].

На ранних стадиях повреждения в микроокружении раны основным активированным фенотипом являются макрофаги M1, экспрессирующие высокие уровни рецепторов для комплексного лимфоцитарного антигена б (Ly6c) и СС-хемокина 2 (CCR2). Они действуют преимущественно как фагоциты, поскольку удаляют фрагменты клеток и патогены, а также очищают раны от детрита. При фагоцитозе большого количества апоптотических нейтрофилов эти клетки могут индуцировать переход компонентов микроокружения от воспалительного к пролиферативному [36–38]. В проспективном рандомизированном исследовании по лечению глубоких ожогов второй степени рекомбинантным ГМ-КСФ показано, что увеличение количества тканевых макрофагов ассоциируется с усилением местного иммунного ответа и ускорением процесса заживления [39]. Хотя макрофаги M1 обладают выраженной антибактериальной активностью, их персистенция в месте раны может приводить к секреции матриксной металлопротеиназы 9

(MMP9, matrix metalloproteinase 9) и повреждению тканей [40]. Поэтому своевременная поляризация макрофагов фенотипа M1 в M2 очень важна для ускорения процесса заживления ран; она осуществляется с участием цитокинов Т-хелперов 2-го типа (Th2, T helper 2), апоптотических клеток и при синергическом воздействии нуклеотидов и компонентов внеклеточного матрикса [41].

Интересны новые данные о механизме формирования сообщества макрофагов M1 в раневом ложе. Роение этих клеток, продуцирующих оксид азота (NO), может способствовать предотвращению накопления нейтрофилов за счёт блокирования клеточного дыхания и снижения соотношения АТФ:АДФ (аденозиндифосфат) [42]. Координация нейтрофилов, приводящая к их «роению» в ранах (о которой упоминалось выше), является защитной, поскольку позволяет формировать «пробки» или физически изолировать стерильную ткань от потенциальной инвазии микроорганизмов [43]. Сообщество тканевых макрофагов при «роении» может активно «маскировать» небольшие поражения тканей и предотвращать утечку сигналов опасности, таких, в частности, как АТФ, для сдерживания дальнейшего повреждения тканей скоплениями нейтрофилов [44]. Реакции нейтрофилов и макрофагов типа «сообщества» (кворума) отражают групповое поведение клеток и синхронизированный ответ иммунной системы млекопитающих на повреждение ткани.

В свою очередь, макрофаги M2 на стадии репарации продуцируют цитокины, способствующие апоптозу нейтрофилов и переключению с провоспалительного (M1) на противовоспалительный (M2) фенотип, осуществляя при этом фагоцитоз дебриса погибших клеток. Показан также механизм переключения с одного фенотипа на другой с участием рецептора-мусорщика класса B1 и/или под управлением экзосом, причём последний способствует заживлению кожных ран посредством усиления ангиогенеза, реэпителизации и формирования коллагена [45, 46]. В дополнение к фагоцитарным функциям макрофаги фенотипа M2 принимают участие в процессе регенерации, активно синтезируют TGF- β и PDGF, которые оказывают влияние на формирование грануляционной ткани [37]. Макрофаги фенотипа M2 ответственны за формирование нового внеклеточного матрикса с активацией фибробластов и образованием кровеносных сосудов. Активированные фибробласты секретируют IL-1 и инсулиноподобный фактор роста (ИФР-1), которые принимают участие в инициации пролиферативной фазы. Таким образом, макрофаги играют решающую роль в регенерации тканей посредством фенотипической поляризации и участвуют почти во всех её стадиях.

Тучные клетки (ТК)

Тучные клетки происходят из костного мозга и располагаются вокруг кровеносных сосудов дермы, периферических нервов, сальных и потовых желёз [47]. Они являются ключевыми эффекторами аллергических реакций и определяют устойчивость организма к бактериальной инвазии. При повреждении ткани активи-

рованные ТК высвобождают в воспалительную среду предварительно или *de novo* синтезированные медиаторы, такие как гистамин, серотонин, из секреторных гранул – химотрипсин, эластазу и трипсин [47]. Гистамин способствует заживлению кожных ран, повышая экспрессию основного фактора роста фибробластов (bFGF, basic fibroblast growth factor) для привлечения макрофагов и стимулирования ангиогенеза в период воспаления [48]. Комбинация трипсина с протеазоактивными рецепторами (PAR2, protease-activated receptor 2) клеток эндотелия сосудов вызывает телеангиэктазии и опосредует инфильтрацию нейтрофилами места повреждения [49]. Такие медиаторы воспаления, как TNF- α , MMP-2 и IL-8, синтезированные ТК, оказывают влияние на рекрутирование нейтрофилов и активацию макрофагов [50]. Однако наличие слишком большого количества ТК может препятствовать заживлению ран. Так, при сахарном диабете 2-го типа высокая экспрессия ТК-рецептора к IL-3 обуславливает хроническое воспаление кожи, а длительная активация этих клеток способствует фиброзу [51]. ТК также оказывают влияние на стадию пролиферации, особенно на формирование обильной грануляционной ткани (например, келоидов и гипертрофических рубцов), ангиогенез, стимулируют реэпителизацию ран и переход от острого воспаления к хроническому [47]. Примечательно, что различные микросредовые стимулы очага повреждения могут приводить к функциональным различиям ТК, что позволяет выделять фенотипы активно продуцирующие противовоспалительные медиаторы, секретирующие медиаторы без дегрануляции и дегранулирующие мастоциты [52].

На поздних стадиях заживления факторы роста и цитокины, синтезированные ТК, влияют на фенотип фибробластов, индуцируя появление миофибробластов, которые обеспечивают переход от фиброплазии к сокращению и окончательному заживлению раны [53]. При remodelировании тканей эти клетки могут активировать синтез фибробластами коллагена, что может быть частично связано с триптазой, которая, как было показано на дермальных фибробластах человека, стимулирует синтез коллагена I типа [50]. С другой стороны, ТК продуцируют и высвобождают мощные протеолитические ферменты, такие как матриксные металлопротеиназы, инициируя деградацию внеклеточного матрикса. Также установлено, что при ингибировании синтеза гистамина ТК в грануляционной ткани снижается содержание гидроксипролина и задерживается эпителизация ран [50, 52].

Дендритные клетки (ДК)

При повреждении мягких тканей, в частности кожи, в очаг повреждения рекрутируются различные фенотипы ДК, включая эпидермальные клетки Лангерганса (ЛК), дермальные и плазмацитоидные ДК. Дендритные клетки прикрепляются к соседним кератиноцитам с помощью молекул адгезии, или Е-кадгеринов; они способны к самообновлению, а воздействие воспалительных стимулов усиливает их миграцию и пролифе-

рацию (см. рис. 1) [54]. Образование ДК длинных и сложных дендритных структур между кератиноцитами способствует их быстрой реакции на повреждение ткани [55]. Несмотря на то, что участие ДК в процессах заживления и регенерации мягких тканей остаётся предметом изучения, показана их важная роль в процессе распознавания чужеродных веществ, модуляции гомеостаза макрофагов и иммунорегуляции процессов регенерации. При диабетических язвах стопы заживление улучшается при нарастании количества ДК, что указывает на их позитивное воздействие на микроокружение в очаге воспаления [56]. Значительно ускоряется процесс заживления пролежней у пациентов с высоким содержанием ДК в краевом эпидермисе раны при сочетании с применением препаратов, содержащих цинк [57]. Такие подтипы ДК, как CD141⁺, стимулируют CD8⁺ Т-клеточный иммунитет путём секреции IL-12 и способствуют дифференцировке Т-хелперов 1-го типа [54, 55, 58]. CD1C-позитивный подтип ДК презентрует антигены для CD4⁺ цитотоксических Т-клеток. Кроме того, резидентные ДК в очаге повреждения экспрессируют Toll-подобные рецепторы (TLR-7 и TLR-9) и вызывают ранний воспалительный ответ [4]; отсутствие этих клеток в микроокружении негативно влияет на острые воспалительные реакции и задерживает заживление ран [58]. На модели ожоговой раны у мышей с дефицитом ДК отмечено значительное замедление процесса заживления, связанное с ингибированием ранней клеточной пролиферации, низким уровнем TGF- β 1 и неоангиогенеза в раневых ложах. Таким образом, показана существенная роль ДК в ускорении заживления ран, что, вероятно, связано с секрецией факторов, активирующих пролиферацию клеток. С развитием секвенирования одиночных клеток открываются дополнительные возможности для изучения происхождения ДК, их развития и участия в процессах репаративной регенерации в коже.

НК-клетки

НК-клетки рекрутируются в очаг повреждения и способны секретировать эффекторы иммунного ответа. Ключевыми функциями этих клеток являются идентификация чужеродных, инфицированных вирусом и метаболически изменённых клеток и индукция их апоптоза или лизиса [59]. Активированные цитотоксические НК-клетки вызывают лизис клеток-мишеней, в том числе секретируя индуцирующие гибель цитокины [59]. Взаимодействие НК-клеток и MSC в процессе регенерации в последнее время стало важным направлением исследований. Недифференцированные MSC подавляют пролиферацию, высвобождение цитокинов и цитотоксичность НК-клеток, а при соответствующих условиях могут поддерживать и усиливать их регенеративные функции, в частности влияние на неоангиогенез и пролиферацию [60].

Т-лимфоциты

Субпопуляция регуляторных Т-клеток (Treg) поддерживает иммунную толерантность организма, ин-

гибирует активность потенциально аутореактивных Т-клеток, модулируя иммунный ответ и предотвращая возникновение аутоиммунных заболеваний. Эти клетки также выполняют множество неиммунных функций, включая регуляцию активности стволовых клеток и клеток-предшественников. Treg являются ключевыми клетками в восстановлении и регенерации тканей (см. рис. 1). Обнаружено, что повышенное содержание синтезируемого Treg IL-33 оказывает влияние на регуляцию дифференцировки клеток-предшественников фибробластов и адипоцитов, а снижение содержания этого цитокина является основной причиной неудачной регенерации тканей у стареющих мышей [61]. Наличие Treg-клеток в мягких тканях ассоциируется с повышением интенсивности регенерации, усилением иммунной толерантности и индукцией пролиферации резидентных Т-клеток в тканях через усиление синтеза амфирегулина, что приводит к иммуносупрессивной среде [62]. Не исключается стимуляция регенерации Т $\gamma\delta$ -клетками также через связь со стволовыми клетками [63]. Их участие в заживлении ран показано на основе динамики содержания синтезируемых ими активаторов регенерации. [64]. Другие типы Т-клеток, такие как цитотоксические (CD8⁺) и Т-хелперы (CD4⁺), также являются важными активаторами процесса регенерации мягких тканей. Установлен пик содержания CD4- и CD8-позитивных Т-клеток в раневом ложе кожи на 5–10-й и 7–10-й дни после травмы и показано, что эти клетки могут играть различную регулируемую роль [65]. Т-хелперы сопровождают усиление регенераторных процессов в ранах, тогда как цитотоксические Т-лимфоциты ассоциируются с нарушением заживления [66]. Т-клетки опосредованно регулируют процесс регенерации через выделение широкого спектра цитокинов, влияющих как на макрофаги, так и на фибробласты.

Стволовые клетки

В процессе регенерации мягких тканей также принимают участие MSC, которые влияют на микроокружение раны и регулируют иммунновоспалительные реакции (см. рис. 1). На данный момент в регенеративной медицине терапия стволовыми клетками представляет особый интерес [67]. MSC представляют собой трофобласты, которые находятся практически во всех тканях организма для поддержания пула многих типов клеток, включая гемопоэтические, эпителиальные, опухолевые, нервные, гепатоциты и эндотелиальные клетки. Уникальные особенности MSC заключаются в способности к самообновлению с асимметричным делением и разнонаправленной дифференцировке и определяют модуляцию тканевого метаболизма и регенерации, в том числе посредством взаимодействия с иммунными клетками. Если чрезмерная реактивность клеток врожденного иммунитета при воспалении нарушает регенерацию тканей, то MSC выполняют иммуномодулирующую роль, продуцируя различные регуляторные цитокины – интерлейкины (IL-4, IL-7, IL-10), IFN- γ и простагландин E2 (PGE2) [68].

Передача сигналов

с участием молекулярных посредников

К одному из наиболее важных межклеточных сигналов относится регуляция активности стволовых клеток при регенерации мягких тканей с использованием N-концевой янус-киназы c-Jun (JNK, Janus kinase) [69]. JNK опосредует внутриклеточные ответы стволовых клеток на стимулы внеклеточного микроокружения. Функция JNK необходима для достижения тонкого баланса между гибелью и выживанием стволовых клеток и способствует восстановлению и remodelированию мягких тканей. Трансплантация предварительно кондиционированных стволовых клеток усиливает регенерацию мягких тканей путём сбалансированного антиоксидантного защитного механизма посредством активации передачи сигналов JNK [70]. Передача сигналов через JNK играет критическую роль в регуляции дифференцировки MCK в кератиноциты и способствует регенерации тканей.

Фосфатидилинозитол-3-киназный, α -серин-треониновый и серин-треониновый протеинкиназный сигнальный путь (PI3K/Akt/mTOR) является мишенью для рапамицина у млекопитающих (mTOR, mammalian target of rapamycin) [71]. Фосфорилирование аминокислот триптофана (Trp308) и серина (Ser473) переводит Akt в активированную форму, которая контролирует множество клеточных регуляторных процессов, включая выживание клеток и клеточный метаболизм. Внеклеточный матрикс обеспечивает защитные механизмы для индукции дифференцировки стволовых клеток путём aberrантной активации mTOR. Стратегии, направленные на непрямую активацию mTOR, могут быть использованы для повышения миграции эпителиальных клеток в повреждённые участки и ускорения регенерации мягких тканей.

В гомеостазе и регенерации мягких тканей внимание исследователей в последние десятилетия привлекает Wnt/ β -катенин – сигнальный путь, который участвует в регуляции гомеостаза тканей путём контроля пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток. Этот путь передачи внеклеточных сигналов вовлечён в регуляцию функции стволовых клеток и восстановление тканей, а также в прогрессирование хронических воспалительных заболеваний [72]. Внутри ядра β -катенин связывается с энхансерами транскрипции Т-клеточного фактора, тем самым способствуя транскрипции специфических генов и специфической трансдукции Wnt/ β -катенина. Активация β -катенин-зависимого пути усиливает пролиферацию и функцию эпителиальных и мезенхимных стволовых клеток, способствуя регенерации мягких тканей [73]. Селективное усиление передачи сигналов Wnt/ β -катенин может быть эффективной стратегией для индукции регенерации мягких тканей. Кроме того, с терапевтической точки зрения, при регенерации мягких тканей обсуждается роль ядерного белка, ассоциированного с эритроидным-2 фактором (Nrf2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2), который является основным медиатором окислительно-восстановительного гомеостаза. Этот фактор экспрессируется в широком спектре клеток, включая стволовые, эндотелиальные и фибробласты. В повреждённых тканях

избыток АФК подавляет пролиферацию стволовых клеток, стимулирует апоптоз и нарушает регенерацию [74]. При активации системы антиоксидантной защиты в кератиноцитах показана важная роль фактора Nrf2 в предотвращении накопления АФК; при его недостатке заживление эпителиальных ран удлиняется. Хотя эти данные указывают на важную роль передачи сигналов Nrf2 во время восстановления и регенерации мягких тканей, необходимы более глубокие исследования для понимания функции Nrf2 в этом процессе.

Внеклеточные везикулы в иммуномодуляции регенерации ткани

Регенерация после травмы требует двух основных условий – формирования провоспалительной микросреды для нейтрализации повреждения и удаления некротизированной ткани и противовоспалительной, с созданием условий для регенерации ткани посредством миграции, пролиферации и дифференцировки различных типов клеток, усиления процессов васкуляризации и снабжения питательными веществами. Доказана корреляция между нарастанием количества малых внеклеточных везикул (мВВ), которые содержат различные биоактивные молекулы, включая цитокины, липиды и нуклеиновые кислоты и оказывают паракринные эффекты, и активностью процессов пролиферации и миграции клеток в повреждённую ткань [75]. Наноразмерные внеклеточные везикулы принимают участие в регуляции межклеточных коммуникаций при формировании микросреды и привлекают внимание исследователей в качестве многообещающей бесклеточной терапевтической стратегии. Терапевтическая активность MSC обеспечивается продукцией внеклеточных везикул, влиянием на пролиферацию и функциональную активность клеток микроокружения, созданием благоприятной иммунной микросреды в очаге повреждения и усилением регенерации тканей [75, 76]. Исследование на модели коллаген-индуцированного артрита показало, что мВВ MSC эффективно ингибируют IL-17A и стимулируют IL-10, снижая частоту и интенсивность костных эрозий, и могут быть многообещающей новой стратегией бесклеточной терапии в лечении ревматоидного артрита. Малые внеклеточные везикулы, полученные из МСК костного мозга человека, значительно снижают экспрессию провоспалительных генов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повреждение и регенерация тканей зависят от выраженности защитного ответа организма с участием клеток врождённого иммунитета и их активных компонентов, что имеет решающее значение для успешного восстановления. Пространственно-временная регуляция функционального состояния иммунных клеток с участием внеклеточного матрикса и тканеспецифических клеток, включая стволовые, необходима для успешного исхода регенерации тканей. Глубокое понимание иммуномодулирующих и прорегенеративных активаторов и их мно-

гочисленных функций имеет решающее значение, в частности, для успешного их применения в качестве терапевтических средств при разработке стратегии стимулирования процесса регенерации тканей. Необходимы дополнительные данные для таких разработок, например, если рассматривать в качестве мишени макрофаги фенотипа M2, чрезмерная активация и инфильтрация этими клетками очага поражения не способствуют резистентности тканей к чужеродным патогенам и могут нарушать процесс заживления тканей. Механизмы, лежащие в основе этой двойной функции, недостаточно понятны. Подобным эффектом обладают и другие иммунные клетки, например, субпопуляции ДК, которые оказывают различное влияние на регенерацию тканей в зависимости от их функционального состояния, или популяции Т-лимфоцитов. Цитотоксические CD8⁺ Т-клетки оказывают неблагоприятное воздействие на регенерацию тканей, тогда как Т-хелперы (CD4⁺) и Treg, напротив, усиливают этот процесс. Применение исследовательских технологий для изучения механизмов координации и функционирования различных субпопуляций иммунных клеток, в частности, секвенирования отдельных клеток, позволит уточнить степень их участия в механизме регуляции микроокружения при регенерации тканей. Так как функционирование иммунной системы постепенно снижается с возрастом, возникает необходимость исследования у пожилых людей связи между снижением способности мягких тканей к регенерации и особенностями их защитного ответа. Такие данные могут иметь значение для улучшения процесса восстановления тканей с привлечением таргетной терапии.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовом обеспечении внутривузовского гранта ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound healing: A cellular perspective. *Physiol Rev*. 2019; 99(1): 665-706. doi: 10.1152/physrev.00067.2017
2. Palomino-Segura M, Hidalgo A. Immunity: Neutrophil quorum at the wound. *Curr Biol*. 2020; 30(14): R828-R830. doi: 10.1016/j.cub.2020.05.045
3. Forbes SJ, Rosenthal N. Preparing the ground for tissue regeneration: From mechanism to therapy. *Nat Med*. 2014; 20: 857-869.
4. Wang Z, Qi F, Luo H, Xu G, Wang D. Inflammatory microenvironment of skin wounds. *Front Immunol*. 2022; 13: 789274. doi: 10.3389/fimmu.2022.789274
5. Xiong Y, Mi BB, Lin Z, Hu YQ, Yu L, Zha KK, et al. The role of the immune microenvironment in bone, cartilage, and soft tis-

sue regeneration: From mechanism to therapeutic opportunity. *Mil Med Res*. 2022; 9(1): 65. doi: 10.1186/s40779-022-00426-8

6. Hirsiger S, Simmen HP, Werner CM, Wanner GA, Rittirsch D. Danger signals activating the immune response after trauma. *Mediators Inflamm*. 2012; 2012: 315941. doi: 10.1155/2012/315941

7. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol*. 2007; 25(1): 9-18. doi: 10.1016/j.clindermatol.2006.09.007

8. Wilgus TA, Roy S, McDaniel JC. Neutrophils and wound repair: Positive actions and negative reactions. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2(7): 379-388. doi: 10.1089/wound.2012.0383

9. Zheng SY, Wan XX, Kambey PA, Shan JQ, Chen YW, Xiong K. Therapeutic role of growth factors in treating diabetic wound. *World J Diabetes*. 2023; 14(4): 364-395. doi: 10.4239/wjd.v14.i4.364

10. Jun JI, Kim KH, Lau LF. The matricellular protein CCN1 mediates neutrophil efferocytosis in cutaneous wound healing. *Nat Commun*. 2015; 6: 7386. doi: 10.1038/ncomms8386

11. McCracken JM, Allen LA. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J Cell Death*. 2014; 7: 15-23. doi: 10.4137/JCD.S11038

12. Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, Hoesel B, Schögenhofer C, Datler H, et al. Cell type-specific roles of NF- κ B linking inflammation and thrombosis. *Front Immunol*. 2019; 10: 85. doi: 10.3389/fimmu.2019.00085

13. Diller RB, Tabor AJ. The role of the extracellular matrix (ECM) in wound healing: A review. *Biomimetics (Basel)*. 2022; 7(3): 87. doi: 10.3390/biomimetics7030087

14. Enzmann G, Kargaran S, Engelhardt B. Ischemia-reperfusion injury in stroke: Impact of the brain barriers and brain immune privilege on neutrophil function. *Ther Adv Neurol Disord*. 2018; 11: 1756286418794184. doi: 10.1177/1756286418794184

15. Wong SL, Demers M, Martinod K, Gallant M, Wang Y, Goldfine AB, et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing. *Nat Med*. 2015; 21(7): 815-819. doi: 10.1038/nm.3887

16. Kanno E, Kawakami K, Ritsu M, Ishii K, Tanno H, Toriyabe S, et al. Wound healing in skin promoted by inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: The critical role of tumor necrosis factor- α secreted from infiltrating neutrophils. *Wound Repair Regen*. 2011; 19(5): 608-621. doi: 10.1111/j.1524-475X.2011.00721.x

17. Canesso MC, Vieira AT, Castro TB, Schirmer BG, Cisalpino D, Martins FS, et al. Skin wound healing is accelerated and scarless in the absence of commensal microbiota. *J Immunol*. 2014; 193(10): 5171-5180. doi: 10.4049/jimmunol.1400625

18. Kono H, Onda A, Yanagida T. Molecular determinants of sterile inflammation. *Curr Opin Immunol*. 2014; 26: 147-156. doi: 10.1016/j.coi.2013.12.004

19. Soliman AM, Barreda DR. Acute inflammation in tissue healing. *Int J Mol Sci*. 2022; 24(1): 641. doi: 10.3390/ijms24010641

20. Kovtun A, Messerer DAC, Scharffetter-Kochanek K, Huber-Lang M, Ignatius A. Neutrophils in tissue trauma of the skin, bone, and lung: Two sides of the same coin *J Immunol Res*. 2018; 2018: 8173983. doi: 10.1155/2018/8173983

21. Ehnert S, Relja B, Schmidt-Bleek K, Fischer V, Ignatius A, Linnemann C, et al. Effects of immune cells on mesenchymal stem cells during fracture healing. *World J Stem Cells*. 2021; 13(11): 1667-1695. doi: 10.4252/wjsc.v13.i11.1667

22. Bayer F, Dremova O, Khuu MP, Pontarollo G, Kiouptsi K, Soshnikova N, et al. The interplay between nutrition, innate

immunity, and the commensal microbiota in adaptive intestinal morphogenesis. *Nutrients*. 2021; 13(7): 2198. doi: 10.3390/nu13072198

23. Frieri M, Kumar K, Boutin A. Wounds, burns, trauma, and injury. *Wound Med*. 2016; 13: 12-17.

24. André-Lévine D, Modarressi A, Pepper MS, Pittet-Cuénod B. Reactive oxygen species and NOX enzymes are emerging as key players in cutaneous wound repair. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(10): 2149. doi: 10.3390/ijms18102149

25. Brazil JC, Quiros M, Nusrat A, Parkos CA. Innate immune cell-epithelial crosstalk during wound repair. *J Clin Invest*. 2019; 129(8): 2983-2993. doi: 10.1172/JCI124618

26. Wu YS, Chen SN. Apoptotic cell: Linkage of inflammation and wound healing. *Front Pharmacol*. 2014; 5: 1. doi: 10.3389/fphar.2014.00001

27. Anderton H, Alqudah S. Cell death in skin function, inflammation, and disease. *Biochem J*. 2022; 479(15): 1621-1651. doi: 10.1042/BCJ20210606

28. Poplimont H, Georgantzoglou A, Boulch M, Walker HA, Coombs C, Papaleonidopoulou F, et al. Neutrophil swarming in damaged tissue is orchestrated by connexins and cooperative calcium alarm signals. *Curr Biol*. 2020; 30(14): 2761-2776.e7. doi: 10.1016/j.cub.2020.05.030

29. Kiselyov K, Muallem S. ROS and intracellular ion channels. *Cell Calcium*. 2016; 60(2): 108-114. doi: 10.1016/j.ceca.2016.03.004

30. Sofoluwe A, Bacchetta M, Badaoui M, Kwak BR, Chanson M. ATP amplifies NADPH-dependent and -independent neutrophil extracellular trap formation. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 16556. doi: 10.1038/s41598-019-53058-9

31. Minutti CM, Knipper JA, Allen JE, Zaiss DM. Tissue-specific contribution of macrophages to wound healing. *Semin Cell Dev Bio*. 2017; 61: 3-11. doi: 10.1016/j.semdb.2016.08.006

32. Kim SY, Nair MG. Macrophages in wound healing: Activation and plasticity. *Immunol Cell Biol*. 2019; 97(3): 258-267. doi: 10.1111/imcb.12236

33. Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: Phenotypical vs. functional differentiation. *Front Immunol*. 2014; 5: 514. doi: 10.3389/fimmu.2014.00514

34. Orecchioni M, Ghosheh Y, Pramod AB, Ley K. Macrophage polarization: Different gene signatures in M1(LPS+) vs. classically and M2(LPS-) vs. alternatively activated macrophages. *Front Immunol*. 2019; 10: 1084. doi: 10.3389/fimmu.2019.01084

35. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas. *J Clin Invest*. 2012; 122(3): 787-795. doi: 10.1172/JCI59643

36. Boniakowski AE, Kimball AS, Jacobs BN, Kunkel SL, Gallagher KA. Macrophage-mediated inflammation in normal and diabetic wound healing. *J Immunol*. 2017; 199(1): 17-24. doi: 10.4049/jimmunol.1700223

37. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity*. 2016; 44(3): 450-462. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.015

38. Brown BN, Sicari BM, Badylak SF. Rethinking regenerative medicine: A macrophage-centered approach. *Front Immunol*. 2014; 5: 510. doi: 10.3389/fimmu.2014.00510

39. Yan D, Liu S, Zhao X, Bian H, Yao X, Xing J, et al. Recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor in deep second-degree burn wound healing. *Med (Baltimore)*. 2017; 96(22): e6881. doi: 10.1097/MD.0000000000006881

40. Smigiel KS, Parks WC. Macrophages, wound healing, and fibrosis: Recent insights. *Curr Rheumatol Rep*. 2018; 20(4): 17. doi: 10.1007/s11926-018-0725-5
41. McWhorter FY, Wang T, Nguyen P, Chung T, Liu WF. Modulation of macrophage phenotype by cell shape. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110(43): 17253-17258. doi: 10.1073/pnas.1308887110
42. Postat J, Olekhnovitch R, Lemaître F, Bousso P. A metabolism-based quorum sensing mechanism contributes to termination of inflammatory responses. *Immunity*. 2018; 49(4): 654-665.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2018.07.014
43. Kienle K, Lämmermann T. Neutrophil swarming: An essential process of the neutrophil tissue response. *Immunol Rev*. 2016; 273(1): 76-93. doi: 10.1111/imr.12458
44. Uderhardt S, Martins AJ, Tsang JS, Lämmermann T, Germain RN. Resident macrophages cloak tissue microlesions to prevent neutrophil-driven inflammatory damage. *Cell*. 2019; 177(3): 541-555.e17. doi: 10.1016/j.cell.2019.02.028
45. Zhang J, Qu C, Li T, Cui W, Wang X, Du J. Phagocytosis mediated by scavenger receptor class B promotes macrophage transition during skeletal muscle regeneration. *J Biol Chem*. 2019; 294(43): 15672-15685. doi: 10.1074/jbc.RA119.008795
46. Kim H, Wang SY, Kwak G, Yang Y, Kwon IC, Kim SH. Exosome-guided phenotypic switch of M1 to M2 macrophages for cutaneous wound healing. *Adv Sci (Weinh)*. 2019; 6(20): 1900513. doi: 10.1002/advs.201900513
47. Wulff BC, Wilgus TA. Mast cell activity in the healing wound: More than meets the eye? *Exp Dermatol*. 2013; 22(8): 507-510. doi: 10.1111/exd.12169
48. Numata Y, Terui T, Okuyama R, Hirasawa N, Sugiura Y, Miyoshi I, et al. The accelerating effect of histamine on the cutaneous wound-healing process through the action of basic fibroblast growth factor. *J Invest Dermatol*. 2006; 126(6): 1403-1409. doi: 10.1038/sj.jid.5700253
49. Komi DEA, Wöhrl S, Bielory L. Mast cell biology at molecular level: A comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020; 58(3): 342-365. doi: 10.1007/s12016-019-08769-2
50. Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A review of the contribution of mast cells in wound healing: Involved molecular and cellular mechanisms. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020; 58(3): 298-312. doi: 10.1007/s12016-019-08729-w
51. Liao B, Ouyang Q, Song H, Wang Z, Ou J, Huang J, et al. The transcriptional characteristics of mast cells derived from skin tissue in type 2 diabetes patients at the single-cell level. *Acta Histochem*. 2021; 123(7): 151789. doi: 10.1016/j.acthis.2021.151789
52. Bacci S. Fine regulation during wound healing by mast cells, a physiological role not yet clarified. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(3): 1820. doi: 10.3390/ijms23031820
53. Bacci S, Bonelli A, Romagnoli P. Mast cells in injury response. In: Abreu T, Silva G (eds). *Cell movement: New research trends*. New York: Nova Science Publishers; 2009: 81-121.
54. Kim TG, Kim SH, Lee MG. The origin of skin dendritic cell network and its role in psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2017; 19(1): 42. doi: 10.3390/ijms19010042
55. Su Q, Igyártó BZ. Keratinocytes share gene expression fingerprint with epidermal langerhans cells via mRNA transfer. *J Invest Dermatol*. 2019; 139(11): 2313-2323.e8. doi: 10.1016/j.jid.2019.05.006
56. Stojadinovic O, Yin N, Lehmann J, Pastar I, Kirsner RS, Tomić-Canic M. Increased number of langerhans cells in the epidermis of diabetic foot ulcers correlates with healing outcome. *Immunol Res*. 2013; 57(1-3): 222-228. doi: 10.1007/s12026-013-8474-z
57. Kohn S, Kohn D, Schiller D. Effect of zinc supplementation on epidermal langerhans' cells of elderly patients with decubital ulcers. *J Dermatol*. 2000; 27(4): 258-263. doi: 10.1111/j.1346-8138.2000.tb02161.x
58. Gregorio J, Meller S, Conrad C, Di Nardo A, Homey B, Lauerma A, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *J Exp Med*. 2010; 207(13): 2921-2930. doi: 10.1084/jem.20101102
59. Sobiecki M, Krzywinska E, Nagarajan S, Audigé A, Huỳnh K, Zachary J, et al. NK cells in hypoxic skin mediate a trade-off between wound healing and antibacterial defence. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 4700. doi: 10.1038/s41467-021-25065-w
60. Thomas H, Jäger M, Mauel K, Brandau S, Lask S, Flohé SB. Interaction with mesenchymal stem cells provokes natural killer cells for enhanced IL-12/IL-18-induced interferon-gamma secretion. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 143463. doi: 10.1155/2014/143463
61. Kuswanto W, Burzyn D, Panduro M, Wang KK, Jang YC, Wagers AJ, et al. Poor repair of skeletal muscle in aging mice reflects a defect in local, interleukin-33-dependent accumulation of regulatory T cells. *Immunity*. 2016; 44(2): 355-367. doi: 10.1016/j.immuni.2016.01.009
62. Moreau JM, Dhariwala MO, Gouirand V, Boda DP, Boothby IC, Lowe MM, et al. Regulatory T cells promote innate inflammation after skin barrier breach via TGF- β activation. *Sci Immunol*. 2021; 6(62): eabg2329. doi: 10.1126/sciimmunol.abg2329
63. Ribot JC, Lopes N, Silva-Santos B. $\gamma\delta$ T cells in tissue physiology and surveillance. *Nat Rev Immunol*. 2021; 21(4): 221-232. doi: 10.1038/s41577-020-00452-4
64. Liu Z, Xu Y, Zhang X, Liang G, Chen L, Xie J, et al. Defects in dermal V γ 4 $\gamma\delta$ T cells result in delayed wound healing in diabetic mice. *Am J Transl Res*. 2016; 8(6): 2667-2680.
65. Chen L, Mehta ND, Zhao Y, DiPietro LA. Absence of CD4 or CD8 lymphocytes changes infiltration of inflammatory cells and profiles of cytokine expression in skin wounds, but does not impair healing. *Exp Dermatol*. 2014; 23(3): 189-194. doi: 10.1111/exd.12346
66. Davis PA, Corless DJ, Aspinall R, Wastell C. Effect of CD4⁺ and CD8⁺ cell depletion on wound healing. *Br J Surg*. 2001; 88(2): 298-304. doi: 10.1046/j.1365-2168.2001.01665.x
67. Dekoninck S, Blanpain C. Stem cell dynamics, migration and plasticity during wound healing. *Nat Cell Biol*. 2019; 21(1): 18-24. doi: 10.1038/s41556-018-0237-6
68. Planat-Benard V, Varin A, Casteilla L. MSCs and inflammatory cells crosstalk in regenerative medicine: Concerted actions for optimized resolution driven by energy metabolism. *Front Immunol*. 2021; 12: 626755. doi: 10.3389/fimmu.2021.626755
69. Dhoke NR, Geesala R, Das A. Low oxidative stress-mediated proliferation JNK-FOXO3a-catalase signaling in transplanted adult stem cells promotes wound tissue regeneration. *Antioxid Redox Signal*. 2018; 28(11): 1047-1065. doi: 10.1089/ars.2016.6974
70. Jere SW, Houreld NN, Abrahamse H. Role of the PI3K/Akt (mTOR and GSK3 β) signalling pathway and photobiomodulation in diabetic wound healing. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2019; 50: 52-59. doi: 10.1016/j.cytogfr.2019.03.001

71. Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell*. 2017; 169(6): 985-999. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.016
72. Zhang B, Han F, Wang Y, Sun Y, Zhang M, Yu X, et al. Cells-micropatterning biomaterials for immune activation and bone regeneration. *Adv Sci (Weinh)*. 2022; 9(18): e2200670. doi: 10.1002/advs.202200670
73. Guan Y, Gao N, Niu H, Dang Y, Guan J. Oxygen-release microspheres capable of releasing oxygen in response to environmental oxygen level to improve stem cell survival and tissue regeneration in ischemic hindlimbs. *J Control Release*. 2021; 331: 376-389. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.01.034
74. Toh WS, Zhang B, Lai RC, Lim SK. Immune regulatory targets of mesenchymal stromal cell exosomes/small extracellular vesicles in tissue regeneration. *Cytotherapy*. 2018; 20(12): 1419-1426. doi: 10.1016/j.jcyt.2018.09.008
75. Wei F, Li Z, Crawford R, Xiao Y, Zhou Y. Immunoregulatory role of exosomes derived from differentiating mesenchymal stromal cells on inflammation and osteogenesis. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019; 13(11): 1978-1991. doi: 10.1002/term.2947
76. El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJA. Extracellular vesicles: Biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. 2013; 12(5): 347-357. doi: 10.1038/nrd3978

Сведения об авторах

Плехова Наталья Геннадьевна – доктор биологических наук, доцент, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: pl_nat@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8701-7213>

Королев Дмитрий Валерьевич – кандидат медицинских наук, ассистент отдела гибридных образовательных технологий в хирургии Института симуляционной аттестации, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: doc.korolevdy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3789-6632>

Шуматов Валентин Борисович – доктор медицинских наук, профессор, ректор, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: mail@tgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3836-390X>

Information about the authors

Natalia G. Plekhova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, e-mail: pl_nat@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8701-7213>

Dmitry V. Korolev – Cand. Sc. (Med.), Research Assistant at the Department of Hybrid Educational Technologies in Surgery, Institute of Simulation Certification, Pacific State Medical University, e-mail: doc.korolevdy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3789-6632>

Valentin B. Shumatov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Rector, Pacific State Medical University, e-mail: mail@tgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3836-390X>

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОВЕГЕТАТИВНОЙ И ГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ КОГНИТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У ПОДРОСТКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВ

Адамовская О.Н.,
Ермакова И.В.,
Догадкина С.Б.

ФГБНУ «Институт возрастной физиологии
Российской академии образования»
(119869, г. Москва,
ул. Погодинская, 8, корп. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ермакова Ирина Владимировна,
e-mail: ermek61@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Изучение функционального состояния организма подростков при когнитивной деятельности с использованием электронных устройств приобретает большое значение из-за внедрения в образовательный процесс информационно-компьютерных технологий. Выявление особенностей реактивности организма обучающихся при выполнении когнитивной деятельности в цифровой среде будет способствовать как оптимизации обучения, так и здоровьесбережению.

Цель исследования. Изучить вегетативную регуляцию сердечного ритма, электродермальную активность, мозговое кровообращение и уровень кортизола в слюне при выполнении подростками когнитивного теста на электронных устройствах (планшет, ноутбук) и бумажном носителе.

Материалы и методы. Методами анализа вариабельности сердечного ритма, электродермальной активности, реоэнцефалографии и иммуноферментного определения кортизола в слюне обследовано 48 подростков при выполнении когнитивной нагрузки на электронных устройствах.

Результаты. При выполнении подростками когнитивной нагрузки на электронных устройствах происходит изменение показателей вариабельности сердечного ритма, электродермальной активности и мозгового кровообращения. Когнитивная деятельность в цифровой среде вызывает рост симпатических влияний на сердечный ритм при снижении парасимпатической активности, увеличение интегративного показателя кожно-гальванической реакции, повышение тонуса сосудов и снижение интенсивности мозгового кровотока. Каждый четвёртый подросток испытывает упреждающее возбуждение эндокринной системы перед выполнением когнитивного теста. Корреляционный анализ выявил большое количество корреляционных связей между изучаемыми показателями как в исходном состоянии, так и в ходе когнитивной деятельности.

Заключение. Большое количество корреляционных связей как в исходном состоянии, так и при выполнении когнитивного теста между показателями вариабельности сердечного ритма и концентрацией кортизола, параметрами мозгового кровообращения свидетельствует о сохранении жёсткой системы нейровегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма при использовании электронных устройств по сравнению с бумажным носителем.

Ключевые слова: подростки, когнитивная нагрузка, вариабельность сердечного ритма, электродермальная активность, мозговое кровообращение, кортизол

Для цитирования: Адамовская О.Н., Ермакова И.В., Догадкина С.Б. Особенности нейровегетативной и гуморальной регуляции когнитивной деятельности у подростков при использовании электронных устройств. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 85-95. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.9

Статья поступила: 20.06.2023

Статья принята: 22.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

FEATURES OF NEUROVEGETATIVE AND HUMORAL REGULATION OF COGNITIVE ACTIVITY IN ADOLESCENTS WHEN USING ELECTRONIC DEVICES

Adamovskaya O.N.,
Ermakova I.V.,
Dogadkina S.B.

Institute of Developmental Physiology,
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. Studying the functional state of the body of adolescents when they perform cognitive activity using electronic devices is of great importance due to the introduction of information and computer technologies into the educational process. Identifying the characteristics of the reactivity of students' bodies when performing cognitive activities in a digital environment will contribute to both optimization of learning and health protection.

The aim. To study the autonomic regulation of heart rate, electrodermal activity, cerebral circulation and the level of cortisol in saliva when adolescents performed a cognitive test on electronic devices (tablet, laptop) and on paper.

Materials and methods. Using analysis of heart rate variability, electrodermal activity, rheoencephalography and enzyme-linked immunosorbent determination of cortisol in saliva, we examined 48 adolescents while performing a cognitive activity on electronic devices.

Results. When adolescents perform cognitive activity using electronic devices, we can register changes in heart rate variability, electrodermal activity and cerebral circulation. Cognitive activity in a digital environment causes an increase in sympathetic effect on the heart rate with a decrease in parasympathetic activity, an increase in the integrative indicator of galvanic skin response, in vascular tone and a decrease in the cerebral blood flow intensity. One in four adolescents experiences anticipatory stimulation of the endocrine system before taking a cognitive test. Correlation analysis revealed a large number of correlations between the studied indicators both in the initial state and during cognitive activity.

Conclusion. A large number of correlations, both in the initial state and during the cognitive test, between heart rate variability and cortisol concentration, cerebral circulation parameters indicate the preservation of a rigid system of neurovegetative and humoral regulation of heart rate when using electronic devices compared to paper-based media.

Keywords: adolescents, cognitive load, heart rate variability, electrodermal activity, cerebral circulation, cortisol

Received: 20.06.2023
Accepted: 22.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Adamovskaya O.N., Ermakova I.V., Dogadkina S.B. Features of neurovegetative and humoral regulation of cognitive activity in adolescents when using electronic devices. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 85-95. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.9

ОБОСНОВАНИЕ

В настоящее время (в 2019–2024 гг.) Министерством просвещения России реализуется федеральный проект «Цифровая образовательная среда», направленный на создание цифровой образовательной среды, в рамках которого происходят развитие и внедрение цифровых сервисов и контента для образовательной деятельности, что подразумевает активное использование электронных устройств (ЭУ) при обучении детей и подростков. Несомненно, применение в образовательном процессе электронных устройств, с одной стороны, повысит интерес, мотивацию и самостоятельность обучающихся [1], а с другой – может оказать потенциально негативное влияние на функциональное состояние организма: вынужденная рабочая поза, напряжение мышц шеи, верхнего плечевого пояса, спины [2, 3], большая нагрузка на зрение [4, 5], повышение интенсивности умственной деятельности, переутомление [6]; т. е. применение электронных средств обучения для организма школьников будет физиологически непростым. Известно, что умственная нагрузка вызывает изменение активности нервной вегетативной и эндокринной систем [7, 8]. Однако сведения о нейровегетативной и гуморальной регуляции когнитивной деятельности у подростков при работе на электронных устройствах практически отсутствуют.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить вегетативную регуляцию сердечного ритма, электродермальную активность, мозговое кровообращение и уровень кортизола в слюне при выполнении подростками когнитивного теста на электронных устройствах (планшет, ноутбук) и на бумажном носителе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в 2022 г. на базе одной общеобразовательной организации г. Москвы; в нём приняли участие 48 обучающихся (26 мальчиков, 22 девочки) 7-х классов (13–14 лет; средний возраст $13,83 \pm 0,11$ года). Исследование проводилось в первой половине дня (с 9.00 до 14.00 часов), во время наибольшей активности физиологических функций. Критериями исключения были острое инфекционное заболевание или обострение хронического заболевания. До начала обследования родители участников дали письменное информированное согласие на участие их детей в исследовании.

С целью оценки variability сердечного ритма (BCP) проводили регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ) с помощью компьютерного кардиографа «Поли-Спектр-8/Е» (Нейрософт, г. Иваново). Регистрацию ЭКГ проводили в положении обследуемого сидя, до предъявления когнитивного задания (исходное состояние) и на 1–5-й, 6–10-й и 11–15-й минутах выполнения теста (нагрузка). Кардиоинтервалограммы изучали методами

временного и спектрального анализа BCP с целью оценки состояния вегетативной нервной системы.

Для оценки BCP использовали показатели временного (среднее значение продолжительности R-R-интервалов (RRNN, normal-to-normal RR intervals), мс; стандартное отклонение величин нормальных R-R-интервалов (SDNN, standard deviation of NN intervals), мс; квадратный корень из среднего квадратов разностей величин последовательных пар интервалов N-N (RMSSD, root mean square of successive RR interval differences), мс; доля последовательных интервалов N-N, различие между которыми превышает 50 мс (pNN50, proportion of NN intervals differing by more than 50 ms), %) и спектрального (общая мощность спектра (TP, total power), мс^2 ; мощность высокочастотных (HF, high frequency), низкочастотных (LF, low frequency) и очень низкочастотных (VLF, very low frequency) колебаний, мс^2) анализа. Для оценки баланса отделов вегетативной нервной системы (ВНС) (соотношение симпатических и парасимпатических влияний) использовали отношение LF/HF [9]. Оценка variability сердечного ритма проводилась на 3 этапах выполнения теста (1–5 мин, 6–10 мин и 11–15 мин выполнения теста).

Кожно-гальваническую реакцию (КГР) оценивали с помощью аппаратно-программного комплекса «Дианел-5120» (ООО ЦИТ «Нелиан», Москва), регистрируя электрокожную проводимость на концевых фалангах 4-го и 5-го пальцев правой и левой руки в исходном состоянии и на протяжении 15 мин в ходе выполнения когнитивного задания на электронных устройствах и бумаге. Кожно-гальваническая реакция является объективным показателем уровня активности симпатического отдела вегетативной нервной системы.

Мозговое кровообращение изучали методом реоэнцефалографии (РЭГ) в бифронтальном (F-F) отведении с помощью прибора «Рео-Спектр» (Нейрософт, г. Иваново). Оценку мозгового кровообращения проводили по следующим показателям: а/Т (%) – отношение длительности периода восходящей части волны (с) к длительности всей реоволны (Т, с); di (%) – дикротический индекс; АЧП (у. е.) – амплитудно-частотный показатель, который отражает кровоток в единицу времени.

Реакцию эндокринной системы обучающихся на когнитивное задание, выполняемое на различных электронных устройствах и бумажном носителе, оценивали по концентрации кортизола в нестимулированной слюне, которую собирали в пластиковые одноразовые пробирки до и после теста. Пробы слюны до проведения анализа хранили в морозильной камере при температуре -20°C . Оптическую плотность и значения концентрации гормона определяли с помощью набора реагентов фирмы DRG (США) на иммуноферментном анализаторе StatFax 2100 (Awareness Technology, США) и выражали в нг/мл. Все анализы были сделаны в соответствии с протоколом наборов, контрольные показатели были в рамках принятых пределов.

В ходе исследования обучающиеся выполняли тест «таблицы Анфимова» на разных электронных устройствах: ноутбук HP RTL8723BE (HP Inc., США) (экран

15,6 дюйма, разрешение 1366 × 768 пикселей, светодиодная подсветка с технологией LED) и планшет iPad 3 (Apple Inc., США) (экран 9,8 дюйма, разрешение 2048 × 1536 пикселей при 264 ppi, светодиодная подсветка с технологией IPS).

Тест «таблицы Анфимова» – задание, оценивающее умственную работоспособность и используемое для оценки устойчивости, распределения и переключения внимания у детей и подростков. Тест заключался в следующем: на экране электронного устройства испытуемому предъявлялась буквенная таблица, просматривая которую слева направо, нужно находить букву, выделенную цветом в начале строки, отмечая с помощью определённых клавиш клавиатуры или нажимая пальцем на сенсорный экран. Время выполнения задания составляло 15 минут. Контролем служило выполнение теста «таблицы Анфимова» на бумаге, при выполнении которого испытуемые последовательно находили букву и вычёркивали её карандашом/ручкой. Буквы, которые необходимо было отмечать в ходе выполнения теста, были заданы в начале каждой строки.

Все подростки выполняли 15-минутное когнитивное задание «таблицы Анфимова» на ЭУ (планшет, ноутбук) и бумаге (одно исследование в день). Регистрация ЭКГ, РЭГ и КГР осуществлялась до (исходное состояние) и во время выполнения 15-минутного задания. Слюну собирали до и после тестирования.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерного пакета программ SPSS 26 (IBM Corp., США). В связи с тем, что подавляющее большинство изучаемых показателей не имели нормального распределения, использовали методы непараметрической статистики с вычислением медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Парное сравнение сопряжённых выборок проводили с помощью критерия Уилкоксона, для сравнения независимых выборок использовали критерий Краскела – Уоллиса, критерий Манна – Уитни. Оценку тесноты статистической связи между показателями осуществляли с помощью корреляционного анализа (коэффициент Спирмена). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обследование подростков проводилось в соответствии с решением комитета по биоэтике ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования» (протокол № 1 от 17.02.2023).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Статистический анализ не выявил различий изучаемых показателей как реакции вегетативной нервной и эндокринной систем, мозгового кровообращения в исходном состоянии, так и реакции на когнитивную нагрузку (корректирующая проба по таблицам Анфимова), выполняемую мальчиками и девочками на ноутбуке и планшете, поэтому результаты исследований были объединены в одну группу – электронные устройства, и не были разделены по признаку «пол».

Результаты нашего исследования показали, что интенсивность умственной работоспособности (N), т. е. общее количество просмотренных знаков при выполнении теста на электронных устройствах и бумаге, статистически значимо не различалась ($p = 0,652$) (рис. 1). Однако общее количество вычёркнутых (M) и верно выбранных (S) букв было в 1,5 раза больше на бумаге, чем на ЭУ ($p = 0,0001$) (рис. 2).

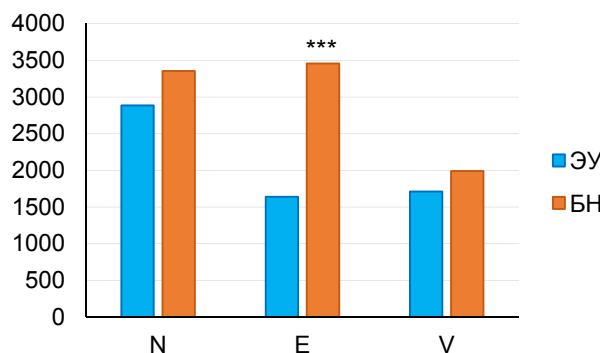


РИС. 1. Показатели умственной работоспособности, представленные в виде медианы: БН – бумажный носитель; N – общее количество просмотренных букв (знаки); E – коэффициент умственной продуктивности (знаки); V – объём переработки зрительной информации

FIG. 1. Indicators of mental performance presented as a median: БН – paper-based media; N – total number of letters viewed (signs); E – coefficient of mental productivity (signs); V – volume of visual information processing

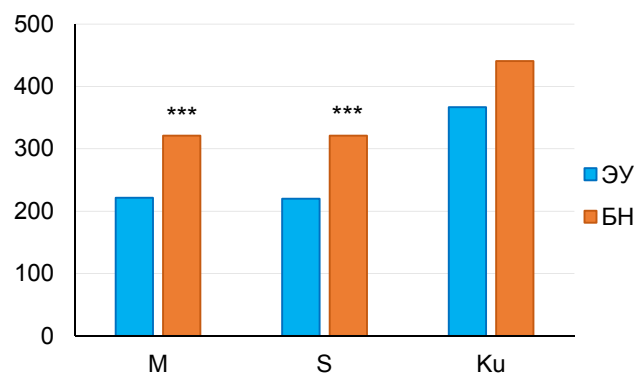


РИС. 2. Показатели умственной работоспособности, представленные в виде медианы: БН – бумажный носитель; M – количество вычёркнутых букв (знаки); S – количество верно выбранных букв (знаки); Ku – устойчивость концентрации внимания (у. е.)

FIG. 2. Indicators of mental performance presented as a median: БН – paper-based media; M – number of crossed out letters (signs); S – number of letters chosen correctly (signs); Ku – attention span (conventional units)

При анализе расчётных показателей умственной работоспособности выявлено, что значение таких показателей, как концентрация внимания (K, %), коэффициент умственной продуктивности (E, знаки) и умственная работоспособ-

ность (Au, знаков/с), в 1,7–2,0 раза выше при работе на бумаге, чем на ЭУ ($p = 0,0001$) (рис. 3). Между тем по ряду таких показателей, как устойчивость концентрации внимания (Ku, у. е.), объём и скорость переработки зрительной информации (V и Q, знаки), статистически значимых различий между ЭУ и бумагой выявлено не было ($p = 0,565–0,652$).

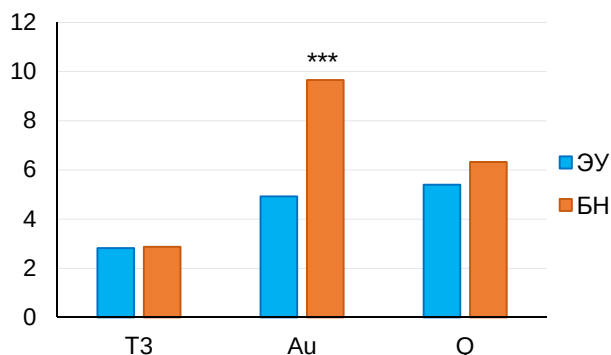


РИС. 3. Показатели умственной работоспособности, представленные в виде медианы: БН – бумажный носитель; Т3 – точность (у. е.); Au – умственная работоспособность (знаков/с); Q – скорость переработки зрительной информации (знаки)

FIG. 3. Indicators of mental performance presented as a median: БН – paper-based media; Т3 – accuracy (conventional units); Au – mental performance (signs/sec); Q – visual information processing rate (signs)

ТАБЛИЦА 1
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ КОГНИТИВНОГО ТЕСТА НА ЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВАХ И БУМАГЕ

Показатели	Электронные устройства, Ме (Q1; Q3)			Бумажный носитель, Ме (Q1; Q3)		
	исходное состояние	11–15 мин	<i>p</i>	исходное состояние	11–15 мин	<i>p</i>
ЧСС, уд./мин	85,40 (80,00–96,30)	91,80 (85,15–100,65)	0,001	82,10 (80,30–94,55)	95,00 (86,95–98,55)	0,001
TP, мс ²	3174,0 (1708,5–3922,0)	2201,0 (1492,0–3256,5)	0,010	2590,0 (1862,5–3861,5)	1832,0 (1305,0–3064,5)	0,294
VLF, мс ²	981,0 (469,5–1465,0)	812,0 (553,5–1079,5)	0,100	963,0 (586,5–1490,5)	739,0 (470,5–1332,5)	0,064
HF, мс ²	640,0 (421,5–1116,5)	343,0 (202,0–591,0)	0,000	642,0 (166,5–1050,0)	276,0 (166,0–425,0)	0,133
LF, мс ²	995,0 (577,0–1487,0)	841,0 (599,0–1435,5)	0,406	1005,0 (644,0–1242,0)	791,0 (579,5–1428,0)	0,753
HF nu	40,6 (26,90–50,70)	29,0 (16,75–41,05)	0,000	36,40 (25,40–49,90)	29,2 (20,05–33,00)	0,009
LF nu	59,4 (49,30–73,10)	71,0 (58,95–83,25)	0,000	63,6 (50,10–74,60)	70,8 (67,00–79,95)	0,009
LF/HF, у. е.	1,46 (0,97–2,72)	2,44 (1,43–4,96)	0,000	1,75 (1,02–2,94)	2,43 (2,04–4,08)	0,033
VLF%	33,8 (26,50–42,55)	37,4 (31,15–43,55)	0,532	42,2 (33,40–49,55)	39,5 (31,60–44,15)	0,421
HF%	27,5 (16,35–31,95)	16,6 (9,85–23,55)	0,001	22,7 (13,20–31,80)	18,1 (11,30–21,20)	0,196
LF%	37,9 (29,90–45,45)	45,6 (34,30–51,05)	0,030	36,1 (27,80–42,20)	43,1 (36,40–50,25)	0,039
SDNN, мс	57,0 (42,5–64,0)	45,0 (40,0–55,5)	0,008	50,0 (43,50–64,50)	43,0 (37,00–54,50)	0,135
RMSSD, мс	40,0 (27,0–49,5)	30,0 (21,0–40,0)	0,002	37,0 (23,50–52,00)	25,0 (20,50–35,50)	0,126
pNN50, %	15,7 (4,30–30,8)	6,10 (2,20–17,75)	0,003	37,0 (23,50–52,00)	5,00 (1,85–11,50)	0,001
CV, у. е.	8,00 (6,65–9,10)	7,26 (5,87–8,56)	0,056	7,30 (6,31–8,39)	6,49 (5,93–8,36)	0,507

Примечание. *p* – статистически значимые различия между исходным состоянием и нагрузкой.

Таким образом несмотря на то, что интенсивность умственной работоспособности при работе на ЭУ и бумаге была практически одинаковой, качественные показатели были выше на бумаге как на более привычном носителе информации.

Необходимо отметить, что наиболее выраженные изменения временных и частотных показателей вариабельности ритма сердца отмечались с 11-й по 15-ю минуту работы с таблицами Анфимова независимо от носителя информации.

Выполнение когнитивного задания на электронных устройствах у обучающихся 7-го класса приводило к статистически значимому снижению общей вариабельности сердечного ритма (уменьшение значений TP, RRNN, SDNN), выраженному снижению активности парасимпатического отдела ВНС (уменьшение значений HF nu, HF%) и сдвигу активности вегетативной нервной системы в сторону усиления симпатических влияний (увеличение значений LF nu, LF% и LF/HF). Колебания ВСП в диапазоне VLF-спектра, отражающие нейрогуморальный и метаболический уровень регуляции, статистически значимо не менялись (табл. 1).

При выполнении когнитивного теста на бумаге у подростков происходило повышение показателей низкочастотных колебаний и усиление симпатической активности на 11–15-й минуте выполнения теста (увеличение значений LF nu, LF% и LF/HF).

TABLE 1
DYNAMICS OF HEART RATE VARIABILITY WHEN PERFORMING A COGNITIVE TEST USING ELECTRONIC DEVICES AND PAPER-BASED MEDIA

В качестве объективного маркера для оценки активности симпатического отдела ВНС при когнитивной нагрузке используют КГР. При работе на ЭУ (рис. 4а) выявлена статистически значимая динамика изменений амплитуды (АМ, мкА) и интегративного показателя КГР-активности (СА, сНп/мин) левой руки на 11–15-й минуте когнитивной нагрузки по сравнению с исходным состоянием ($p = 0,023$ и $p = 0,015$ соответственно). При работе на бумаге (рис. 4б) происходило статистически значимое увеличение только интегративного показателя КГР-активности (СА, сНп/мин) левой руки ($p = 0,017$); значение амплитуды (АМ, мкА) в исходном состоянии и после когнитивной нагрузки статистически значимо не изменялось ($p = 0,087$).

Результаты исследования мозгового кровообращения при выполнении когнитивного задания на ЭУ и бумаге (табл. 2) показали, что у всех подростков независимо от вида носителя информации отмечается повышение тонуса сосудов в лобном отведении (А_арт., Ом) и снижение интенсивности мозгового кровотока в лобных отведениях (АЧП, у. е.).

Исследование функционального состояния коры надпочечников у подростков в целом по группе по уровню кортизола в слюне показало, что выполнение когни-

тивного задания на ЭУ и бумаге не сопровождалось статистически значимым изменением концентрации кортизола ($p = 0,537$ и $p = 0,311$ соответственно).

Между тем, индивидуальный анализ динамики кортизола позволили выявить два типа реакции: I тип (60 % подростков) – повышение уровня гормона (на 11 % при выполнении нагрузки на ЭУ, 17 % – при выполнении на бумаге); II тип (40 % подростков) – понижение уровня кортизола (на 17 % при выполнении нагрузки на ЭУ, 10 % – при выполнении на бумаге) (рис. 5).

На рисунках 6–8 представлены данные корреляционного анализа показателей variability сердечного ритма, мозгового кровообращения, уровня кортизола и умственной работоспособности при выполнении когнитивного задания на ЭУ и бумаге. Перед работой на электронных устройствах отмечается большее количество корреляционных связей между показателями variability ритма сердца, с одной стороны, и показателями мозгового кровообращения, уровнем кортизола – с другой, по сравнению с исходным состоянием перед работой на бумаге (рис. 6). Наиболее значимые корреляции отмечаются между общей мощностью спектра (TP, мс²) и её составляющими (HF, LF, VLF, мс²) с мозговым кровотоком (АЧП, у. е.) ($r = -0,392-0,410$; $p < 0,05$)

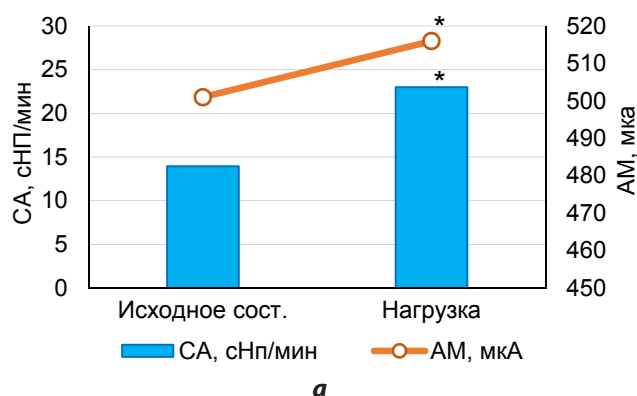


РИС. 4.
Показатели кожно-гальванической реакции в исходном состоянии и при выполнении когнитивной нагрузки на электронных устройствах (а) и на бумаге (б): * – различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению с исходным состоянием

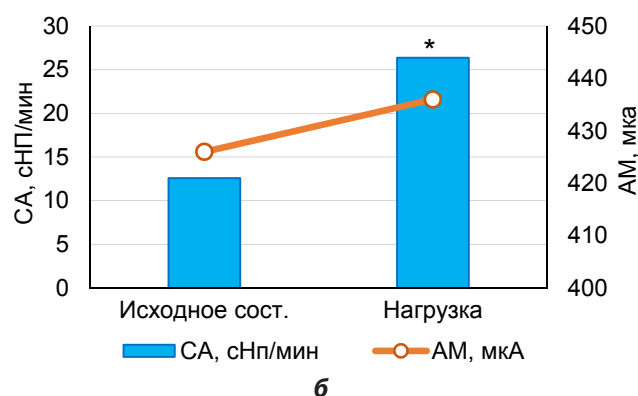


FIG. 4.
Galvanic skin response indicators in the initial state and when performing cognitive activity on electronic device (a) and paper-based media (b): * – statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the initial state

ТАБЛИЦА 2
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ КОГНИТИВНОГО ЗАДАНИЯ НА ЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВАХ И БУМАГЕ

Показатели	Электронные устройства, Ме (Q1; Q3)			Бумажный носитель, Ме (Q1; Q3)		
	исходное состояние	11–15 мин	<i>p</i>	исходное состояние	11–15 мин	<i>p</i>
А_арт, Ом (FF ₁)	0,18 (0,15–0,22)	0,13 (0,11–0,17)	0,000	0,15 (0,13–0,19)	0,10 (0,09–0,12)	0,023
АЧП, у. е. (FF ₁)	2,63 (2,10–2,95)	2,10 (1,82–2,43)	0,000	2,38 (1,90–2,61)	1,65 (1,39–1,92)	0,002

Примечание. *p* – статистически значимое различие между исходным состоянием и нагрузкой.

TABLE 2
DYNAMICS OF CEREBRAL CIRCULATION INDICATORS WHEN PERFORMING COGNITIVE TEST USING ELECTRONIC DEVICES AND PAPER-BASED MEDIA

и тонусом сосудов мелкого калибра (ДИК, %) ($r = 0,419-0,703$; $p < 0,05-0,01$).

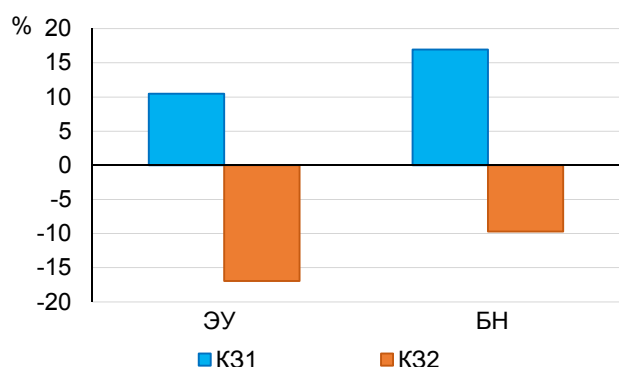


РИС. 5.

Динамика прироста концентрации кортизола в зависимости от типа реакции на когнитивное задание, выполняемое на электронных устройствах и бумаге: БН – бумажный носитель; K31 – I тип реакции; K32 – II тип реакции на когнитивное задание

FIG. 5.

Dynamics of increase in cortisol concentration depending on the type of reaction to a cognitive task performed on electronic devices and paper-based media: БН – paper-based media; K31 – type 1 of the reaction to a cognitive task; K32 – type 2 of the reaction to a cognitive task

При выполнении теста на ЭУ также отмечается большее количество связей по сравнению с бумажным носителем (рис. 7). Наиболее значимые связи отмечаются между показателями variability ритма сердца и тонусом крупных сосудов (a/RR) ($r = -0,449-0,491$; $p < 0,01$). Практически все корреляционные связи уровня кортизола с показателями ВСР исчезают, остаётся только отрицательная связь с волнами спектра HF ($r = -0,37$; $p < 0,05$). Статистически значимые взаимосвязи уровня кортизола с вышеперечисленными показателями как в исходном состоянии, так и в ходе выполнения задания на бумаге отсутствуют.

При выполнении когнитивного задания на ЭУ обнаружены корреляционные связи уровня кортизола с такими показателями умственной работоспособности, как количество верно выбранных букв (S), коэффициент умственной продуктивности (E), концентрация внимания (R), скорость переработки зрительной информации (Q) и умственная работоспособность (Au) ($r = 0,36-0,37$; $p < 0,05$). При выполнении когнитивного задания на бумаге выявлены тесные корреляционные связи ($r = 0,63-0,66$; $p < 0,05$) между теми же показателями умственной работоспособности и интегративным показателем КГР-активности (СА левой руки, сНп/мин), отражающим симпатическую активацию вегетативной нервной системы.

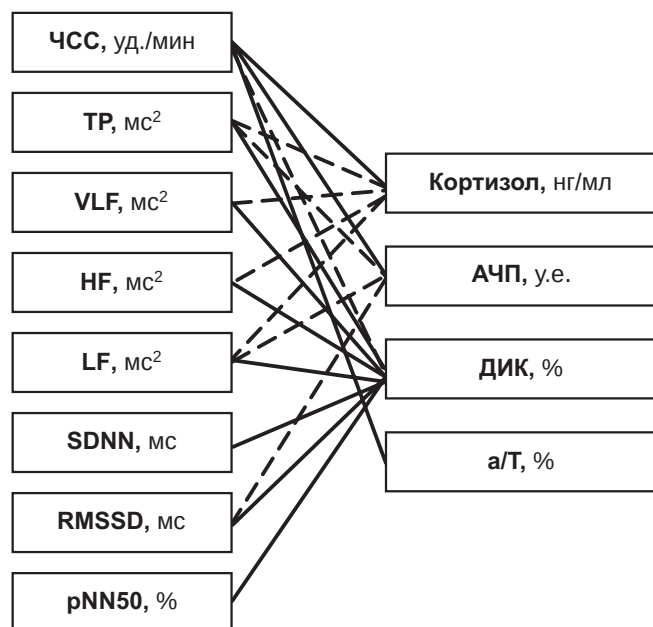


РИС. 6.

Корреляционные связи показателей variability сердечного ритма, мозгового кровообращения и уровня кортизола перед выполнением когнитивного задания на электронных устройствах (а) и на бумажном носителе (б) ($p < 0,05$): сплошная линия – прямая связь; пунктирная линия – обратная связь

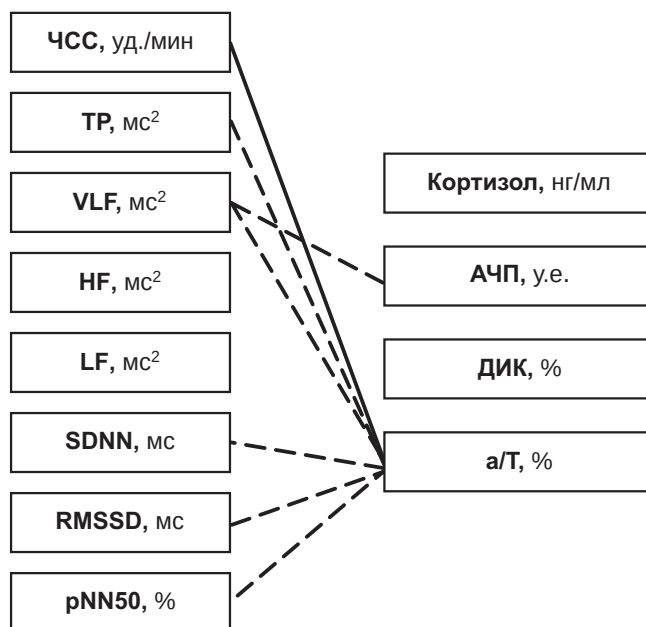


FIG. 6.

Correlations of heart rate variability, cerebral circulation and cortisol levels before performing cognitive task on electronic device (а) and on paper-based media (б) ($p < 0,05$): solid line – direct correlation; dotted line – inverse correlation

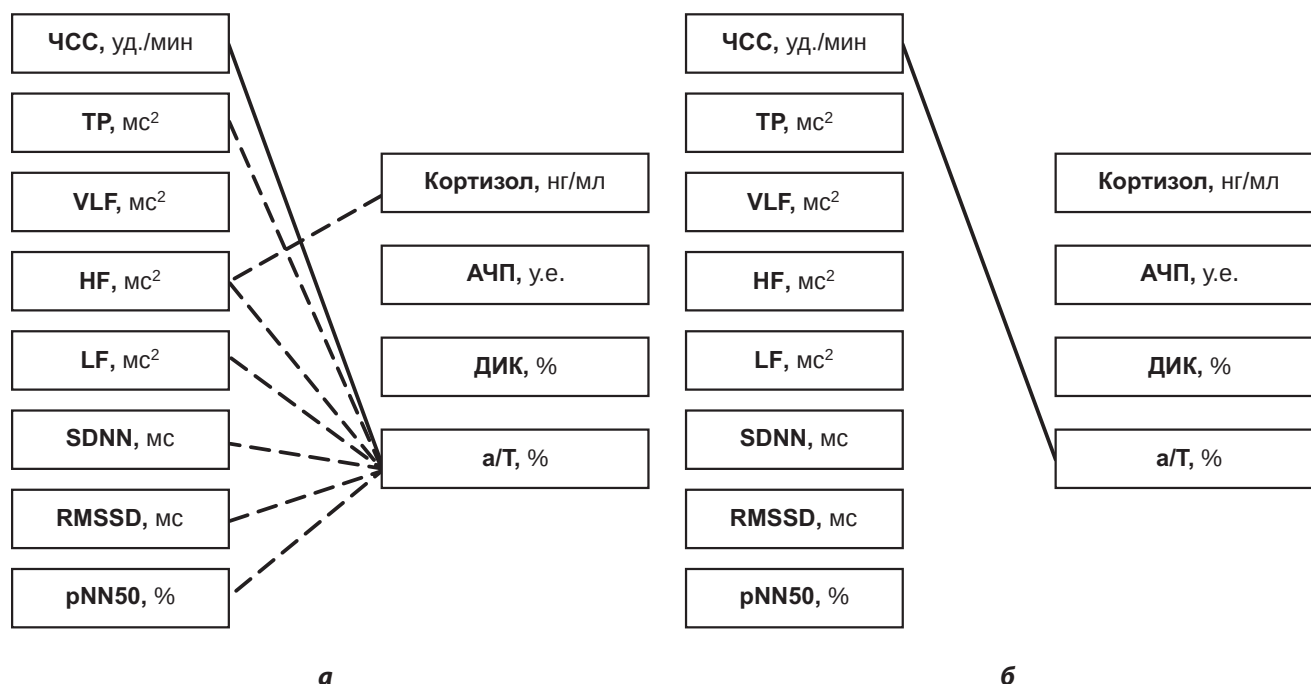


РИС. 7.

Корреляционные связи показателей вариабельности сердечного ритма, мозгового кровообращения и уровня кортизола при выполнении когнитивного задания на электронных устройствах (**а**) и на бумажном носителе (**б**) ($p < 0,05$): сплошная линия – прямая связь; пунктирная линия – обратная связь

FIG. 7.

Correlations of heart rate variability, cerebral circulation and cortisol levels when performing cognitive task on electronic device (**a**) and on paper-based media (**b**) ($p < 0.05$): solid line – direct correlation; dotted line – inverse correlation

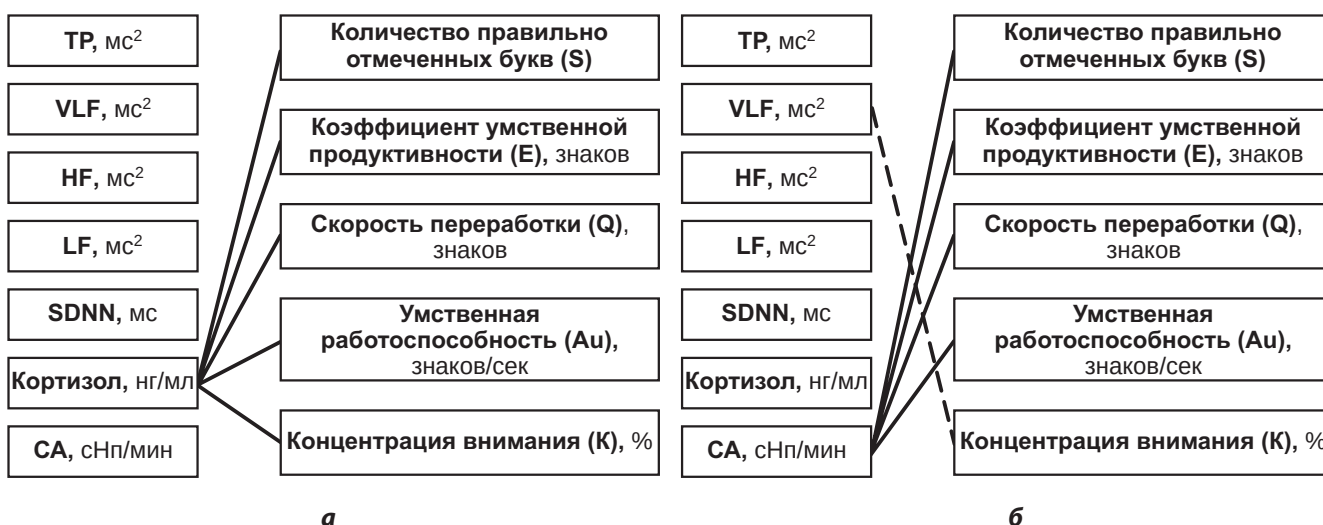


РИС. 8.

Корреляционные связи показателей вариабельности сердечного ритма, мозгового кровообращения и уровня кортизола при выполнении когнитивного задания на электронных устройствах (**а**) и на бумажном носителе (**б**) ($p < 0,05$): сплошная линия – прямая связь; пунктирная линия – обратная связь

FIG. 8.

Correlations of heart rate variability, cerebral circulation and cortisol levels when performing cognitive task on electronic device (**a**) and on paper-based media (**b**) ($p < 0.05$): solid line – direct correlation; dotted line – inverse correlation

ОБСУЖДЕНИЕ

Перемены, которые мы наблюдаем в современном образовании детей и подростков: внедрение в образовательную среду электронных устройств (компьютеров,

ноутбуков, планшетов и др.), – меняют характер учебной деятельности и влекут за собой необходимость в физиологической оценке оптимизации обучения подрастающего поколения. В связи с этим нами проведено исследование вегетативной регуляции сердечного рит-

ма, электродермальной активности, мозгового кровообращения и уровня кортизола в слюне при выполнении подростками когнитивного теста (таблицы Анфимова) на электронных устройствах (планшет, ноутбук) и бумажном носителе.

По данным исследования ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», проведённого в 2019 и 2022 годах, продолжительность непрерывного использования компьютера на уроке в 7-х классах (13,8 мин) и совокупное время использования электронных средств в день на уроках (38 мин) не превышают нормативных значений, разрешённых «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к организациям воспитания и обучения, отдыха и оздоровления детей и молодёжи» [10]. Таким образом, в нашем исследовании 15-минутная длительность выполнения когнитивного теста подростками не превышала допустимых значений.

Результаты исследования показали, что умственная работоспособность (общее количество вычеркнутых и верно выбранных букв, концентрация внимания, коэффициент умственной продуктивности, умственная работоспособность) была в 1,5–2,0 раза выше при работе на бумаге, чем на ЭУ. Из литературы известно, что дети и подростки школьного возраста лучше решают математические задачи, читают и выполняют тесты на бумаге, чем на электронных устройствах [11–14], т. е. большинство исследователей сходятся во мнении, что при восприятии и обработке информации первенство принадлежит традиционному носителю информации. Большее количество ошибок, которые допускают подростки при работе на ЭУ, может быть обусловлено разным углом зрения, под которым субъект смотрит на вертикальный экран ноутбука и/или на горизонтально расположенный бланк с заданием на рабочем столе [15]. Кроме того, выполнение заданий на компьютере повышает нагрузку на системы, которые участвуют в обработке информации [16], что также может сказываться на умственной работоспособности.

Выполнение когнитивного задания на электронных устройствах у обучающихся 7-го класса вызывало снижение общей variability сердечного ритма и парасимпатической активности, усиление симпатического влияния ВНС. В исследовании L. Mygind и соавт. (2018) [17] также наблюдали снижение тонуса блуждающего нерва у детей 10–12 лет при выполнении задания, аналогичного тесту «таблицы Анфимова». Известно, что быстрое снижение парасимпатической активности в ответ на факторы внешней среды приводит к эффективной мобилизации энергии и оперативному возвращению в состояние покоя [18], что свидетельствует о «парасимпатической гибкости» [19].

В ходе индивидуального анализа выявили два типа эндокринной реакции на когнитивную нагрузку: повышение или понижение уровня кортизола. В нашем исследовании у каждого четвёртого подростка концентрация кортизола в исходном состоянии была выше, чем после когнитивной нагрузки. В этом случае говорят об упреждающем возбуждении эндокринной системы [20], ко-

торая проявляется повышенным уровнем кортизола у взрослых лиц перед экзаменом [21], у детей перед поступлением в школу [22], что может быть связано с недостаточной регуляторной способностью [23]. Вероятно, когнитивная деятельность в цифровой среде для некоторых подростков была более стрессовой, чем традиционное тестирование на бумаге, поэтому их эндокринная система активизировалась уже до когнитивной нагрузки.

С помощью корреляционного анализа выявили большее количество корреляционных связей между показателями variability ритма сердца с параметрами мозгового кровообращения, уровнем кортизола перед работой на электронных устройствах. Согласно теории функциональных систем П.К. Анохина, для достижения полезного приспособительного результата происходит координированное взаимодействие отдельных физиологических систем. Другими словами, адаптационный потенциал обеспечивается комплексом изменений нескольких физиологических систем организма [24].

Наличие статистически значимых корреляционных связей между общей мощностью спектра и её составляющими с мозговым кровотоком (АЧП) и тонусом сосудов мелкого калибра (ДИК) в исходном состоянии свидетельствует о необходимости поддержания нормального кровоснабжения нервной ткани, при котором происходит снижение тонического напряжения церебральных артерий малого калибра, без вовлечения крупных сосудов, что является проявлением ауторегуляции мозгового кровотока [25]. Существование взаимосвязей между показателями вегетативной нервной системы и уровнем кортизола свидетельствует о более генерализованной реакции с вовлечением не только вегетативной, но и гуморальной регуляции в ситуации ожидания перед выполнением теста на электронных устройствах.

Изменение количества и направленности взаимосвязей между различными показателями организма характеризует протекание адаптационных процессов лучше, чем абсолютные значения этих параметров. Количество связей между изучаемыми параметрами в ходе когнитивной деятельности уменьшилось, однако при выполнении теста на ЭУ их число больше по сравнению с бумажным носителем. Наиболее значимые связи отмечаются между показателями variability сердечного ритма и тонусом крупных сосудов (а/Т, %). Повышенная потребность мозга в кислороде удовлетворяется главным образом за счёт увеличения кровотока, которое обусловлено снижением тонуса крупных сосудов [26]. Отрицательная связь уровня кортизола с показателями парасимпатической активности ВНС при работе на ЭУ может свидетельствовать о мобилизации резервов организма подростков в ходе адаптации к когнитивной деятельности. Такая взаимозависимость была обнаружена у подростков, публично выступающих перед незнакомой аудиторией [27].

При выполнении когнитивного задания на ЭУ были обнаружены корреляционные связи уровня кортизола с показателями умственной работоспособности. Это объясняется тем, что кортизол в ситуации от лёгкого до умеренного стресса оказывает благотворное вли-

яние на организм [28], увеличивает подвижность нервных процессов, усиливает работоспособность головного мозга [29], т. е. умеренное и непродолжительное повышение уровня кортизола способствует улучшению когнитивных функций, в нашем случае – повышению умственной работоспособности. При выполнении когнитивного теста на бумаге выявлена положительная связь между теми же показателями умственной работоспособности и симпатической активацией ВНС (по данным КГР), свидетельствующая об обеспечении когнитивных функций симпатической регуляцией [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование позволило выявить, что умственная работоспособность, оцениваемая по таким показателям, как общее количество вычеркнутых и верно выбранных букв, концентрация внимания, коэффициент умственной продуктивности, умственная работоспособность в 1,5–2,0 раза выше при работе на бумаге, чем на ЭУ, т. е. когнитивная деятельность при выполнении теста на привычном бумажном носителе информации является более продуктивной. При работе на электронных устройствах происходит значимое снижение парасимпатической (по данным ВСР) и увеличение симпатической активности (по данным ВСР и КГР); при работе на бумажном носителе эти физиологические изменения менее выражены. При когнитивной деятельности независимо от вида носителя информации отмечается снижение артериального кровотока и повышение тонуса сосудов в лобном отведении. Наличие большего количества корреляционных связей как в исходном состоянии, так и при выполнении когнитивного теста между показателями ВСР, с одной стороны, и концентрацией кортизола и показателями мозгового кровообращения, с другой, свидетельствует о сохранении жёсткой системы нейровегетативной и гуморальной регуляции сердечного ритма при использовании электронных устройств по сравнению с бумагой. Это может свидетельствовать о напряжении адаптации организма обучающихся 13–14 лет при когнитивной деятельности в цифровой среде.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Прудникова Т.А., Посакалова Т.А. Зарубежный опыт применения информационно-коммуникационных технологий в целях повышения учебной мотивации. *Современная зарубежная психология*. 2019; 8(2): 67-82. [Prudnikova TA, Poskakalova TA. The experience of application of information and communication

technologies (ICTS) as a tool to enhance learning motivation. *Journal of Modern Foreign Psychology*. 2019; 8(2): 67-82. (In Russ.)). doi: 10.17759/jmfp.2019080207

2. Queiroz LB, Lourenco B, Silva LEV, Lourenco DMR, Silva CA. Musculoskeletal pain and musculoskeletal syndromes in adolescents are related to electronic devices. *J Pediatr (Rio J)*. 2018; 94(6): 673-679. doi: 10.1016/j.jpmed.2017.09.006

3. Nastri MMF, Lourenço B, Queiroz LB, da Silva LEV, Lourenço DMR, Castro APBM, et al. Idiopathic musculoskeletal pain, musculoskeletal pain syndromes, and use of electronic devices in adolescents with asthma *J Pediatr (Rio J)*. 2022; 98(3): 270-275. doi: 10.1016/j.jpmed.2021.06.002

4. Ichhpujani P, Singh RB, Foulsham W, Thakur S, Lamba AS. Visual implications of digital device usage in school children: A cross-sectional study. *BMC Ophthalmology*. 2019; 19(1): 76. doi: 10.1186/s12886-019-1082-5

5. Maharjan U, Rijal S, Jnawali A, Sitaula S, Bhattarai S, Shrestha GB. Binocular vision findings in normally-sighted school aged children who used digital devices. *PLoS One*. 2022; 17(4): e0266068. doi: 10.1371/journal.pone.0266068

6. Александрова И.Э. Гигиенические принципы и технология обеспечения безопасных для здоровья школьников условий обучения в цифровой образовательной среде. *Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья*. 2018; 3: 23-33. [Aleksandrova IE. Hygienic principles and technology to ensure safety for health of pupils conditions of training in a digital educational environment. *Problems of School and University Medicine and Health*. 2018; 3: 23-33. (In Russ.)].

7. Trico D, Fanfani A, Varocchi F, Bernini G. Endocrine and haemodynamic stress responses to an arithmetic cognitive challenge. *Neuro Endocrinology Letters*. 2017; 38(3): 182-186.

8. Held J, Vislä A, Wolfer C, Messerli-Bürgy N, Flückiger C. Heart rate variability change during a stressful cognitive task in individuals with anxiety and control participants. *BMC Psychol*. 2021; 9(1): 44. doi: 10.1186/s40359-021-00551-4

9. 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

10. Постановление «Об утверждении санитарных правил СП 2.4.3648-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям воспитания и обучения, отдыха и оздоровления детей и молодежи». М.; 2020. [Decree "On the approval of sanitary rules SP 2.4.3648-20 "Sanitary and epidemiological requirements for organizations of education and training, recreation and health improvement for children and youth". Moscow; 2020. (In Russ.)]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/files/news/SP2.4.3648-20_deti.pdf [дата доступа: 10.06.2023].

11. Støle H, Mangen A, Schvippert K. Assessing children's reading comprehension on paper and screen: A mode-effect study. *Comput Educ*. 2020; 151: 103861. doi: 10.1016/j.compedu.2020.103861

12. McClelland T, Cuevas J. A comparison of computer based testing and paper and pencil testing in mathematics assessment. *Online J New Horizons Educ*. 2020; 10(2): 78-89.

13. Pengelley J. *A testing load: Comparing cognitive load in computer and paper-based testing*. Perth; 2022.

14. DiCarlo CF, Deris AR, Deris TP. mLearning versus paper and pencil practice for telling time: Impact for attention and ac-

curacy. *J Behav Educ.* 2023; 32(1): 127-145. doi: 10.1007/s10864-021-09442-5

15. Bailey SKT, Neigel AR, Dhanani LY, Sims VK. Establishing measurement equivalence across computer- and paper-based tests of spatial cognition. *Hum Factors.* 2018; 60(3): 340-350. doi: 10.1177/0018720817747731

16. Carpenter R, Alloway T. Computer versus paper-based testing: Are they equivalent when it comes to working memory? *J Psychoeduc Assess.* 2019; 37(3): 382-394. doi: 10.1177/0734282918761496

17. Mygind L, Stevenson MP, Leibst LS, Konvalinka I, Bentzen P. Stress response and cognitive performance modulation in classroom versus natural environments: A quasi-experimental pilot study with children. *Int J Environ Res Public Health.* 2018; 15(6): 1098. doi: 10.3390/ijerph15061098

18. Porges SW. The polyvagal perspective. *Biol Psychol.* 2007; 74(2): 116-143.

19. Shakiba N, Lynch SF, Propper CB, Mills-Koonce WR, Wagner NJ. Vagal flexibility moderates the links between observed sensitive caregiving in infancy and externalizing behavior problems in middle childhood. *Res Child Adolesc Psychopathol.* 2023; 51(10): 1453-1464. doi: 10.1007/s10802-023-01088-3

20. Roubinov DS, Boyce WT, Lee MR, Bush NR. Evidence for discrete profiles of children's physiological activity across three neurobiological system and their transitions over time. *Dev Sci.* 2021; 24(1): e12989. doi: 10.1111/desc.12989

21. Beltzer E. An ecological approach for investigations of the anticipatory cortisol stress response. *Biol Psychol.* 2022; 175: 108428. doi: 10.1016/j.biopsycho.2022.108428

22. Leblond M, Parent S, Castellanos-Ryan N, Lupien SJ, Fraser WD, Séguin JR. Transition from preschool to school: Children's pattern of change in morning cortisol concentration. *Psychoneuroendocrinol.* 2022; 140: 105724. doi: 10.1016/j.psyneuen.2022.105724

23. 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

24. Варич Л.А., Казин Э.М., Немолочная Н.В., Тарасова О.Л., Бедарева А.В., Васильченко И.Л. Возрастно-половые и типоло-

гические особенности вегетативного, гормонального и иммунного статуса старших подростков. *Физиология человека.* 2020; 46(5): 60-70. [Varich LA, Kazin EM, Nemolochnaya NV, Tarasova OL, Bedareva AV, Vasilchenko IL. Age-sex and typological features of vegetative, hormonal and immune status of older adolescents. *Human Physiology.* 2020; 46(5): 513-521. (In Russ.).] doi: 10.31857/S013116462004013X

25. Бабианц А.Я., Хананашвили Я.А. Мозговое кровообращение: физиологические аспекты и современные методы исследования. *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* 2018; 3: 46-54. [Babiyants AY, Khananashvili YA. Cerebral circulation: Physiological aspects and modern research methods. *Journal of Fundamental Medicine and Biology.* 2018; 3: 46-54. (In Russ.).]

26. Ozturk ED, Tan CO. Human cerebrovascular function in health and disease: Insights from integrative approaches. *Review J Physiol Anthropol.* 2018; 37(1): 4. doi: 10.1186/s40101-018-0164-z

27. Stam JV, Kallen VL, Westenberg PM. Associations between autonomic and endocrine reactivity to stress in adolescence: Related to the development of anxiety? *Healthcare.* 2023; 11(6): 869. doi: 10.3390/healthcare11060869

28. Sapolsky RM. Stress and the brain: Individual variability and the inverted-U. *Nat Neurosci.* 2015; 18(10): 1344-1346. doi: 10.1038/nn.4109

29. Варич Л.А., Федоров А.И., Немолочная Н.В., Блинова Н.Г. Взаимосвязь психофизиологических характеристик и уровня кортизола подростков, обучающихся в условиях лицея-интерната. *Вестник Новосибирского государственного педагогического университета.* 2018; 8(5): 230-244. [Varich LA, Fedorov AI, Nemolochnaya NV, Blinova NG. Correlation between psychophysiological characteristics and a cortizole level in boarding school adolescents. *Novosibirsk State Pedagogical University Bulletin.* 2018; 8(5): 230-244. (In Russ.).] doi: 10.15293/2226-3365.1805.14

30. Вецлер М.В., Черкасова В.Г., Муравьев С.В., Кулеш А.М., Чайников П.Н., Соломатина Н.В., и др. Особенности и взаимосвязь когнитивных функций и вегетативной регуляции у практически здоровых лиц молодого возраста. *Врач-аспирант.* 2018; 87(2): 11-18. [Wetzler MV, Cherkasova VG, Muravyev SV, Kulesh AM, Chainikov PN, Solomatina NV, et al. Features and correlation of cognitive function and autonomic regulation in healthy young adults. *Postgraduate Doctor.* 2018; 87(2): 11-18. (In Russ.).]

Сведения об авторах

Адамовская Оксана Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: krysyuk-19@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0197-3379>

Ермакова Ирина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: ermek61@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7430-4849>

Догадкина Светлана Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории комплексных исследований процессов адаптации, ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования», e-mail: almanac@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7387-9998>

Information about the authors

Oksana N. Adamovskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Developmental Physiology, Russian Academy of Education, e-mail: krysyuk-19@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0197-3379>

Irina V. Ermakova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Developmental Physiology, Russian Academy of Education, e-mail: ermek61@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7430-4849>

Svetlana B. Dogadkina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Complex Studies of Adaptation Processes, Institute of Developmental Physiology, Russian Academy of Education, e-mail: almanac@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7387-9998>

ОНКОЛОГИЯ ONCOLOGY

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКА РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ГЛИОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Регентова О.С.¹,
Пархоменко Р.А.^{1,2},
Щербенко О.И.¹,
Антоненко Ф.Ф.¹,
Зелинская Н.И.¹,
Сидибее Н.¹,
Полушкин П.В.¹,
Солодкий В.А.¹

¹ ФГБУ «Российский научный центр
рентгенодиагностики» Минздрава России
(117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 86,
Россия)

² ФГАОУ ВО «Российский университет
дружбы народов
имени Патриса Лумумбы» (117198,
г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Регентова Ольга Сергеевна,
e-mail: olgagraudensh@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Лечение злокачественных глиом головного мозга включает хирургическое вмешательство, лучевую терапию и химиотерапию с темозоломидом. Однако данное комплексное лечение не предотвращает рецидивы и прогрессирование опухоли, что обусловлено активностью опухолевых клеток и высокой мутационной нагрузкой. Исследователи экспериментируют с фокусированным ультразвуком (ФУЗ) различной интенсивности в лечении глиобластомы (ГБМ). ФУЗ показал обнадеживающие результаты в клинических исследованиях.

Цель исследования. В настоящем обзоре приводятся краткие данные об истории становления указанного метода, результатах его применения в экспериментах и клинических испытаниях, а также основные возможные направления его внедрения в нейроонкологию, в частности, для лечения глиобластом, в зависимости от параметров, включая частоту, мощность, длительность импульса и рабочий цикл.

Методы. Проведены анализ и интерпретация имеющихся публикаций, для поиска которых использовалась база данных PubMed и ключевые слова «focused ultrasound, glioma, HIFU, LIFU», а также поисковые системы Яндекс и Google и ключевые слова «фокусированный ультразвук, глиомы, HIFU, LIFU». **Результаты.** ФУЗ низкой интенсивности можно использовать для временного открытия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), который ограничивает диффузию большинства макромолекул и терапевтических агентов в мозг. Высокоинтенсивный ФУЗ может вызвать абляцию опухоли за счёт гипертермического эффекта, а также стимулировать иммунологическую атаку опухолевых клеток, активировать соносенсибилизаторы для оказания цитотоксического воздействия на опухолевую ткань и может повышать чувствительность опухолей к лучевой терапии. Гистотрипсия вызывает абляцию опухоли посредством акустической кавитации.

Заключение. Фокусированный ультразвук является многообещающим потенциальным методом лечения глиом. Дальнейшее изучение в виде клинических испытаний должно определить оптимальные параметры ультразвука для достижения эффективности лечения пациентов со злокачественными опухолями головного мозга.

Ключевые слова: онкология, фокусированный ультразвук различных интенсивностей, детская онкология, нейроонкология

Для цитирования: Регентова О.С., Пархоменко Р.А., Щербенко О.И., Антоненко Ф.Ф., Зелинская Н.И., Сидибее Н., Полушкин П.В., Солодкий В.А. Перспективы применения ультразвука различной интенсивности для лечения пациентов со злокачественными глиомами головного мозга. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 96-106. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.10

Статья поступила: 01.11.2023

Статья принята: 16.02.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

PROSPECTS FOR USING ULTRASOUND OF VARIOUS INTENSITY FOR THE TREATMENT OF PATIENTS WITH MALIGNANT BRAIN GLIOMAS

Regentova O.S.¹,
Parkhomenko R.A.^{1,2},
Shcherbenko O.I.¹,
Antonenko F.F.¹,
Zelinskaya N.I.¹,
Sidibe N.¹,
Polushkin P.V.¹,
Solodkiy V.A.¹

¹ Russian Scientific Center
of Roentgenoradiology
(Profsoyuznaya str. 86, Moscow 117997,
Russian Federation)

² Peoples' Friendship University of Russia
named after Patrice Lumumba
(Miklukho-Maklaya str. 6, Moscow 117198,
Russian Federation)

Corresponding author:
Olga S. Regentova,
e-mail: olgagraudensh@mail.ru

ABSTRACT

Background. Treatment for malignant brain gliomas includes surgery, radiation therapy, and chemotherapy with temozolomide. However, this complex treatment does not prevent tumor relapses and progression, which is caused by the activity of tumor cells and a high mutational burden. Researchers are experimenting with different intensity of focused ultrasound (FUS) in the treatment of glioblastoma (GBM). FUS has shown encouraging results in clinical studies.

The aim of the study. This review presents brief information on the history of the development of the studied method, the results of its application in experiments and clinical trials, as well as the main possible directions for its implementation in neuro-oncology, in particular, for the treatment of glioblastomas, depending on parameters, including frequency, power, pulse duration and duty cycle.

Methods. We carried out an analysis and interpretation of existing publications; for the search, we used the PubMed database and the keywords "focused ultrasound, glioma, HIFU, LIFU", as well as Yandex and Google search engines and the same keywords in Russian.

Results. Low-intensity FUS can be used to temporarily open the blood-brain barrier (BBB), which limits the diffusion of most macromolecules and therapeutic agents into the brain. High-intensity FUS can cause tumor ablation due to a hyperthermic effect, and also stimulate an immunological attack of tumor cells, activate sonosensitizers to exert a cytotoxic effect on tumor tissue, and can increase the sensitivity of tumors to radiation therapy. Histotripsy causes tumor ablation through acoustic cavitation.

Conclusion. Focused ultrasound is a promising potential treatment for gliomas. Further study in the form of clinical trials should determine the optimal ultrasound parameters to achieve effective treatment for patients with malignant brain tumors.

Key words: oncology, focused ultrasound of various intensity, pediatric oncology, neuro-oncology

Received: 01.11.2023
Accepted: 16.02.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Regentova O.S., Parkhomenko R.A., Shcherbenko O.I., Antonenko F.F., Zelinskaya N.I., Sidibe N., Polushkin P.V., Solodkiy V.A. Prospects for using ultrasound of various intensity for the treatment of patients with malignant brain gliomas. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 96-106. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.10

ВВЕДЕНИЕ

Глиомы высокой степени злокачественности у взрослых и детей являются опухолями с высокой степенью летальности. Из-за диффузного характера роста заболевания хирургическое вмешательство не всегда возможно. Химиотерапия имеет низкую эффективность из-за низкой проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Из-за низкой радиочувствительности лучевая терапия в основном является паллиативной. Неудовлетворительные результаты лечения злокачественных новообразований центральной нервной системы (ЦНС) в течение многих десятилетий заставляют исследователей искать альтернативные варианты повышения эффективности результатов лечения [1, 2], одними из которых являются иммунотерапия, онколитическая вирусотерапия, вакциноterapia. Иммунотерапия – это новая терапевтическая область, в которой используется множество различных методов для стимуляции существующего иммунного ответа организма на опухоль. Данная терапия продемонстрировала заметный успех при гематологических злокачественных новообразованиях, невосприимчивых к традиционным методам лечения, таким как хирургическое лечение, лучевая и химиотерапия. Одной из разновидностей иммунотерапии является Т-клеточная терапия химерным рецептором антигена (CAR, chimeric antigen receptor) – новая форма лечения рака, одобренная Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA, Food and Drug Administration). CAR является модифицированным поверхностным рецептором, который прибавляет специфичность Т-клеткам к предварительно определённой антигену-мишени, выставленной на опухолевых клетках. Эти синтетические рецепторы ретровирусно или лентивирусно интегрируются в Т-клетки, полученные от пациента, и повторно вводятся пациенту: таким образом, они представляют собой особый вид персонализированной терапии опухолей. Хотя CAR-Т-клеточная терапия позволяет добиться больших успехов в лечении гематологических опухолей, её эффективность остаётся не доказанной при лечении солидных опухолей, таких как глиобластома (ГБМ) [3, 4]. Исследования показали, что Т-клетки в опухолевом иммунном микроокружении глиобластомы представляют собой в основном Т-регуляторные (Treg) клетки и истощённые цитотоксические Т-клетки [5]. Таким образом, CAR-Т оказывает естественный иммуносупрессивный эффект при лечении глиобластомы. Сочетание CAR-Т и ингибиторов иммунных контрольных точек, таких как антитела PD-1, может быть эффективной стратегией решения [6]. Однако терапия CAR-Т-клетками может вызывать побочные эффекты, такие как болезни иммунной аутоагрессии, нейротоксичность и цитокиновый шторм. Кроме того, терапия CAR-Т-клетками также сталкивается со многими проблемами, такими как гетерогенность опухоли, нецелевой эффект и низкая эффективность инфильтрации опухоли [7].

Одним из перспективных направлений при поиске инновационных препаратов для лечения онкологиче-

ских заболеваний является применение онколитических (природных или генетически модифицированных) вирусов (ОЛВ) для избирательного действия на опухолевые клетки и их уничтожения, особенно в составе комбинированной терапии. Клинические испытания онколитических вирусов в этой группе пациентов показали многообещающие результаты, при этом пациенты достигли впечатляющих долгосрочных клинических ответов. Однако количество ответивших на ОЛВ остаётся низким. Считается, что это происходит из-за большой гетерогенности этих опухолей как с точки зрения молекулярного состава, так и с точки зрения их иммуносупрессивного микроокружения, что приводит к вариабельности ответов [8].

Вакциноterapia против рака показала большие перспективы как с профилактической, так и с терапевтической точки зрения [9]. Противораковые вакцины предназначены для нацеливания на связанные с опухолью антигены, чтобы вызвать иммунный ответ против опухолей. Учитывая, что антигены, специфичные для глиобластом, встречаются редко, мишенями являются антигены, ассоциированные с опухолью. Текущие результаты клинических испытаний вакцин против глиом высокой степени злокачественности не очень многообещающие, отсутствие ГБМ-специфического антигена и высокая гетерогенность опухолей создают проблемы для вакцинотерапии ГБМ. Поэтому изучение ДОСС на молекулярно-генетическом уровне является одной из актуальных задач в нейроонкологии. К сожалению, данные варианты лечения являются экспериментальными ввиду неоднозначных результатов.

Однако достижения в области разрушения ГЭБ при помощи сфокусированного ультразвука открыли новые способы доставки химиотерапевтических средств, что, по нашему мнению, может быть многообещающим методом, способным повысить эффективность лечения за счёт увеличения концентрации системно вводимых лекарственных препаратов в паренхиме головного мозга, тем самым позволяя потенциально увеличить выживаемость у данной группы больных.

ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Сам по себе метод фокусированного ультразвука (ФУЗ) не отличается особой новизной. Он предусматривает испускание установкой ультразвуковых волн с разных направлений, при этом волны сходятся в зоне интереса, оказывая в ней наиболее сильное воздействие. Экспериментальное изучение влияния высокоинтенсивного ультразвука на организм животных было проведено американскими исследователями R.W. Wood и A.L. Loomis ещё в 1927 году [цит. по 10].

В 1942 г. Уильям Фрай, физик-ветеран исследований военно-морских гидролокаторов, и его брат Франсис Фрай начали исследование в лаборатории биоакустических исследований (Университет Иллинойса), где разработали устройство фокусированного ультразвука, фокусирующее ультразвуковые волны частотой 840 кГц (пер-

вый аппарат фокусированного ультразвука). Они проводили воздействие на препарат ткани печени, получая эффект абляции. В то же время при попытке облучения головного мозга у животных им не удалось произвести на его патологическую ткань какой-либо значимый повреждающий эффект без применения максимальной возможной мощности, что, помимо прочего, сопровождалось также некрозом кожи и костей черепа. Однако двумя годами позже им всё же удалось добиться избирательного воздействия ультразвука на головной мозг путём создания для его применения трепанационного окна в черепе. Уже в 1950 г. им успешно удалось разрушить мелкий очаг в человеческом мозге без повреждения здоровых тканей у пациента с болезнью Паркинсона [цит. по 10].

В 1950-х годах прошлого столетия роль ультразвука как возможного метода лечения опухолей у человека и животных активно изучалась исследовательским коллективом под руководством Андрея Константиновича Букова с участием группы онкологов, возглавляемых академиком Николаем Николаевичем Блохиным. Фактически эти исследователи были первопроходцами в применении высокоинтенсивного ультразвука в онкологии. Результаты их работы до сих пор известны специалистам во всём мире, они легли в основу ряда последующих исследований. Разработанные ими источники ультразвуковых волн характеризовались большой мощностью: использовались нефокусированные ультразвуковые лучи частотой 1,5 МГц 200–500 Вт. Такими волнами однократно воздействовали на карциномы Брауна – Пирса (Brown – Pearse), которые трансплантировали в яички кроликов. В 60–80 % случаев опухоль либо исчезла полностью, либо подверглась рубцовому перерождению. Примечательно, что при этом наблюдался регресс не только первичной опухоли, но и её метастазов, на которые ультразвуком не воздействовали, что, вероятно, можно было объяснить опосредованным иммунным эффектом. При этом повторные перевивки опухоли подопытным животным становились невозможными. Возглавляемый А.К. Буковым коллектив испытал также данный метод в клинике: было пролечено 10 человек с терминальной стадией меланомы, у некоторых из них отмечено полное исчезновение опухоли [цит. по 10]. На сегодняшний день исследования в этой области российскими физиками активно продолжаются. Примером может служить лаборатория промышленного и медицинского ультразвука на кафедре акустики физического факультета Московского государственного университета им. Н.В. Ломоносова (руководители лаборатории Олег Александрович Сапожников, Вера Александровна Хохлова). Одним из главных направлений работы этой лаборатории является изучение мощного фокусированного ультразвука в терапии и неинвазивной хирургии, включая моделирование и измерение нелинейных полей медицинских ультразвуковых источников, исследование механизмов ультразвукового воздействия на биологические ткани, разработку мощных многоэлементных фазированных решёток для ультразвуковой хирургии [8].

Следует также подчеркнуть, что в настоящее время научные сотрудники лаборатории медицинского и промышленного ультразвука на кафедре акустики физического факультета Московского государственного университета им. Н.В. Ломоносова вместе с коллегами из Университета штата Вашингтон (Сиэтл) в составе международного коллектива проводят исследования по воздействию сфокусированного ультразвукового излучения на различные ткани и органы внутри тела человека, причём неинвазивно, то есть без обычного хирургического вмешательства. При этом данное активно развивающееся научное направление существует примерно четверть века и довольно быстро от чисто лабораторных экспериментов перешло к клиническому использованию. Так, в последние десять лет оно приобрело особую актуальность в связи с применением ФУЗ высокой интенсивности, при котором исследователи научились вызывать тепловой некроз опухолевых тканей в предстательной железе, почках, печени, молочной железе и даже в мозге, причём список этим перечислением не исчерпывается [11].

При этом хотелось бы отметить тот факт, что несомненный приоритет отечественных исследователей в данном направлении медицинской науки был обозначен следующим международным событием.

За вклад в междисциплинарные исследования в области биомедицинской и физической акустики в 2023 г. В.А. Хохлова была удостоена почётной награды Акустического общества Америки – Серебряной медали Рэлея – Гельмгольца. Этой наградой авторитетное сообщество акустиков отметило многолетние успешные исследования Веры Александровны и её единомышленников по использованию нелинейно-акустических эффектов в медицинских приложениях высокоинтенсивного ультразвука.

В конце XX века, а именно в 1991 г., А. Гуткельч, К. Хининен и соавт. сообщили о лечении злокачественных опухолей головного мозга с помощью фокусированной ультразвуковой гипертермии и облучения, а уже в 1992 г. К. Хининен и соавт. впервые предложили использовать неинвазивный сфокусированный ультразвук с применением магнитно-резонансной томографии (МРТ) для контроля и наблюдения за повреждением тканей. При этом впервые был предложен термин «фокусированный ультразвук под магнитно-резонансным контролем» (MRgFUS, MRI-guided focused ultrasound). В 2001 г. было создано первое Международное общество терапевтического ультразвука (ISTU, International Society for Therapeutic Ultrasound) с целью расширения и распространения знаний о терапевтическом ультразвуке среди научного и медицинского сообщества. В этом же году Г. Клемент и К. Хининен продемонстрировали неинвазивную фокусировку через человеческий череп с использованием фазированной решётки и алгоритма планирования на основе компьютерной томографии, а в 2006 г. М. Киношита и соавт. продемонстрировали при опухолях головного мозга доставку антител через гематоэнцефалитический барьер с помощью MRgFUS [цит. по 10].

Значительный опыт в применении ультразвуковой абляции для лечения новообразований различной локализации: рака простаты, молочной железы, печени, опухолей костной ткани, опухолей головного мозга, – накоплен в Китае [10, 12–14].

ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКОИНТЕНСИВНЫМ УЛЬТРАЗВУКОМ

На сегодняшний день фокусированный ультразвук с наведением под контролем МРТ или ультразвукового исследования (УЗИ) применяется для абляции определённых участков головного мозга при лечении ряда неврологических заболеваний: эссенциального тремора, болезни Паркинсона с преобладанием тремора, невропатической боли, – а также для остановки кровотечения, дробления конкрементов почек. Кроме того, термальная абляция высокоинтенсивным ультразвуком официально одобрена в различных странах для лечения злокачественных и доброкачественных опухолей молочной железы, простаты, печени, а также фибромиом матки, первичных и вторичных опухолевых поражений костей скелета [15–20].

Высокоинтенсивный ультразвук воздействует на ткани посредством их разогревания. Он проникает через здоровые ткани, вызывая в месте фокусировки кратковременное, порядка одной секунды, повышение температуры за счёт поглощения ультразвуковых волн и кавитации, достаточное для развития коагуляционного некроза [13]. Другими словами, суть таких технологий использования мощного фокусированного ультразвука (HIFU, high intensity focused ultrasound) состоит в том, что энергия ультразвукового пучка, проникающего в организм человека из внешнего источника, поглощается в участке поражённого органа, в результате чего происходит тепловая денатурация [14]. Таким образом, не нарушая целостности окружающих тканей, высокоинтенсивный фокусированный ультразвук позволяет разрушать ткань опухоли, то есть осуществлять «неинвазивную операцию». Для достижения этого эффекта используются звуковые волны частотой 0,8–4 МГц с интенсивностью 100–10000 Вт/см². Интенсивность ультразвука, применяемого с терапевтической целью, подразделяется на высокую (1000–10000 Вт/см²), среднюю и низкую (< 3 Вт/см²). Для сравнения: при ультразвуковой диагностике мощность воздействия на ткани колеблется от 0,004 до 7,5 Вт/см² [20, 21].

На IV Международном симпозиуме по фокусированному ультразвуку в 2014 г было представлено два случая применения аппарата ExAblate Neuro 4000 для термодеструкции с помощью ультразвука интракраниальных новообразований – глиобластомы (в области таламуса) и метастаза. В обоих наблюдениях при МРТ после процедуры продемонстрирована частичная деструкция опухолевой ткани [22]. О попытках использовать абляцию опухолей головного мозга в клинике сообщалось и ранее, в 1996–2010 гг. [23], но это были лишь единичные случаи или испытания I фазы на сериях до 15 больных,

в этих работах не было представлено достаточно сведений о долгосрочном наблюдении, в частности о динамике размеров опухолей. Как будет показано ниже, основное внимание последующих исследователей в этой области сосредоточилось не на абляции, а на применении низкоомощностного ФУЗ.

По мере применения абляции с помощью высокоинтенсивного ультразвука в ряде областей онкологии были выявлены определённые недостатки, например, риск ожогов кожи и костей на пути ультразвуковой волны к фокусу, трудность визуализации облучаемых участков в режиме реального времени с использованием диагностических ультразвуковых аппаратов, а также возможность повреждения костей и сосудов вокруг облучаемого участка в результате диффузии тепла от области фокуса. Поэтому были предложены альтернативные методы механического разрушения ткани, или гистотрипсии, которые позволяют преодолеть указанные недостатки и обладают также некоторыми другими преимуществами. Одним из таких методов является так называемая, гистотрипсия с кипением. А.Р. Duryea и соавт. [24] приводят следующее определение: гистотрипсия – технология пульсирующего сфокусированного ультразвука, когда инициирование и контроль акустической кавитации позволяют проводить точную механическую фрагментацию тканей. От излучателя распространяются высокоинтенсивные ультразвуковые импульсы миллисекундной длительности, которые фокусируются внутри определённого органа. За счёт нелинейных акустических эффектов профиль волны по мере распространения от излучателя искажается, в результате чего в фокусе на каждом периоде волны образуется ударный фронт. При поглощении энергии такой нелинейно искажённой волны с ударным фронтом происходит быстрый локализованный нагрев ткани в фокусе, ведущий к её вскипанию во время каждого импульса. При этом образуется паровая полость миллиметровых размеров, заметно превышающая объём перегретой области ткани. Взаимодействие ударной волны с этой полостью приводит к образованию акустического фонтана и, соответственно, к раздроблению ткани на мелкие фрагменты субклеточных размеров. То есть основное повреждающее воздействие оказывает именно «фонтан», а разогрев играет роль лишь «спускового крючка», при этом устраняется риск повреждения здоровых тканей на пути ультразвука [15]. За счёт появления паровых полостей участок абляции легко визуализируется при УЗИ как гиперэхогенная зона.

К настоящему времени проведены единичные работы по применению гистотрипсии у животных. Так, в экспериментах на свиньях удалось создавать зоны некроза в коре головного мозга размерами до 1 см без существенных осложнений [25]. Не выявлено существенных осложнений и при гистотрипсии мышинной модели глиом в работе S.W. Choi и соавт. [26]. Гистотрипсия с помощью фокусированного ультразвука у мышей с глиобластомами приводит к высвобождению антигенов опухоли и повышает число иммунных клеток в её микроокружении; кроме того, на мышинных моделях гистотрипсия

раков печени, почек, поджелудочной железы, а также нейробластомы и меланомы приводит к существенно-му повышению выживаемости животных [26, 27]. Клинические испытания гистотрипсии при опухолях головного мозга пока не проводились.

Относительно низкие мощности ультразвука используют не для абляции, а для осуществления различных способов улучшения доставки в зону опухоли лекарственных препаратов [17, 21].

ПОВЫШЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

В качестве одной из причин малой эффективности химиотерапии глиом головного мозга высокой степени злокачественности рассматривают наличие гематоэнцефалического барьера, функция которого состоит в защите головного мозга от токсических веществ [28]. ГЭБ формируется эндотелиоцитами, отростками астроцитов, перицитов, нейронов, макрофагов микроглии, кроме того, включает внеклеточный матрикс и гликокаликс [16, 29, 30].

Известно, что ГЭБ местами нарушается в глиобластомах (в так называемых leaky («прохудившихся») участках), о чём свидетельствуют зоны накопления контрастного препарата при МРТ; тем не менее, в других частях опухоли при этом ГЭБ остаётся интактным [31, 32]. Такой «пестротой» проницаемости ГЭБ при глиобластомах способствует разнообразие механизмов ангиогенеза [31]. ГЭБ в тех местах опухоли, где он не нарушен, препятствует проникновению большинства противоопухолевых препаратов. Так, в работе J. Portnow и соавт. [33] показано, что в головном мозге больных с глиобластомой или метастазами злокачественных опухолей средняя концентрация Темозоломида после его перорального приёма приблизительно в 5 раз ниже, чем в плазме.

В качестве исключения можно назвать препарат Эрлотиниб (Tarceva), ингибитор тирозинкиназы рецепторов эпидермального фактора роста HER1/EGFR, который используется для лечения метастазов в головной мозг при немелкоклеточном раке лёгкого. Этот препарат обладает рядом необходимых для этого свойств: он растворим в жирах; не обладает зарядом; его молекула меньше 500 D; не наблюдается быстрого выведения данного препарата из ЦНС [16]. Хирургическое лечение и лучевая терапия способствуют нарушению ГЭБ, однако, очевидно, этого эффекта при злокачественных глиомах недостаточно, принимая во внимание низкую эффективность большинства химиопрепаратов [16]. Конечно, для преодоления ГЭБ можно было бы рассматривать непосредственное введение противоопухолевого препарата в опухоль либо интратекальные введения, однако эти методики сопряжены с нейротоксичностью, и с их помощью трудно обеспечить длительное воздействие препаратом на ткань опухоли [34].

В связи с вышеизложенными проблемами была создана методика применения низкоинтенсивного фокусированного ультразвука (НФУЗ). Как показали доклини-

ческие и клинические исследования, она способна временно (на 24–72 часа) без повреждения тканей открывать ГЭБ, способствуя проникновению противоопухолевых препаратов в зону расположения глиомы, причём возможны повторные сеансы её проведения. Данная методика предусматривает использование ультразвуковых волн низкой мощности в сочетании с вводимыми внутривенно микропузырьками. Когда проходящие по кровеносному руслу микропузырьки подвергаются воздействию НФУЗ, они начинают периодически расширяться и сокращаться. Этот процесс носит название стабильной кавитации, он оказывает механическое воздействие на стенки сосудов, приводя к реорганизации белков с плотными контактами и усилению проникновения лекарственных препаратов через ГЭБ. При этом благодаря указанному феномену кавитации, для нарушения ГЭБ требуется меньшая мощность ультразвука, что обеспечивает её безопасность, показанную в ряде экспериментов на мелких и крупных животных. В то же время НФУЗ замедляет выведение противоопухолевых препаратов из ткани головного мозга [16, 33, 35]. Кроме того, временное нарушение ГЭБ при воздействии НФУЗ может вызывать острую воспалительную реакцию, приводящую к активации элементов иммунной системы в микроокружении глиобластомы [34].

В клинических исследованиях для оценки степени открытия ГЭБ применяется T1-взвешенная и динамическая МРТ с контрастированием. Однако пока ещё не окончательно решена задача, как подтвердить повышенное накопление лекарственного препарата в опухоли при локальном использовании НФУЗ [14].

В обзоре J.W. Roberts и соавт. [17] зафиксировано 10 недавно завершённых или продолжающихся в настоящее время клинических исследований по открытию ГЭБ ультразвуком при лечении глиобластомы у взрослых пациентов, которые проводятся в ряде стран: США, Канада, Южная Корея, Тайвань, Франция, Швейцария, Бельгия (NCT03712293, NCT03744026, NCT04417088, NCT04446416 и др.). Данная методика в них применяется для повышения эффективности следующих препаратов: карбоплатин, темозоломид, паклитаксел, бевацизумаб. Одна из этих работ – NCT04614493 (Франция). В этом исследовании I фазы, проведённом на 19 больных с рецидивирующей глиобластомой, ультразвуковое воздействие осуществлялось имплантируемым устройством (SonoCloud-1; CarThera, Франция) перед внутривенным введением карбоплатина.

У тех 11 пациентов, у которых по данным МРТ при этом удалось достичь явного нарушения ГЭБ, показатели выживаемости оказались несколько выше, чем у тех, у кого такого нарушения не было или оно было незначительным: общая выживаемость составила 12,9 и 8,6 месяца, выживаемость без прогрессирования – 4,1 и 2,7 месяца соответственно. В целом процедура воздействия ФУЗ (так называемой сонификации) переносилась удовлетворительно; отмечено 2 случая отёка в зоне опухоли, проявления которого были купированы стероидами [35]. Результаты остальных упомянутых работ пока не опубликованы. Кроме того, в Цен-

тре детской онкологии принцессы Максими (г. Утрехт, Нидерланды) осуществляется доклиническое испытание действия низкоинтенсивного ФУЗ по повышению проницаемости ГЭБ при срединных глиомах головного мозга для препаратов из группы малых молекул и моноклональных антител [36]. В работе этой группы на мышинной модели глиомы мозга головного мозга показано более чем 5-кратное увеличение биодоступности Олапариба благодаря открытию ГЭБ с помощью ФУЗ, что замедлило развитие опухоли на фоне проведения радиотерапии, хотя и не привело к повышению выживаемости животных. Авторы делают вывод о необходимости продолжения доклинических исследований [37].

СЕЛЕКТИВНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Несомненный интерес представляет работа D.R. Mittelstein и соавт. [38], проведённая *in vitro* на клеточных моделях рака молочной железы, толстой кишки и лейкоза, которая продемонстрировала, что применение низкоинтенсивного ультразвука $< 5 \text{ Вт/см}^2$, с частотой 0,5–0,67 МГц, длительностью импульсов $> 20 \text{ мс}$ приводит к селективному повреждению клеток названных злокачественных опухолей без значительного влияния на здоровые иммунные клетки или эритроциты. Физические эксперименты показали, что при такого рода воздействиях акустические стоячие волны и кавитация ведут к нарушению цитоскелета, повышению экспрессии маркеров апоптоза и гибели именно опухолевых клеток. Селективность воздействия на опухолевые клетки, по мнению авторов, выгодно отличает эту методику от абляции с помощью высокоинтенсивного ультразвука. Методика нуждается в дальнейшей апробации.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТА ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФОКУСИРОВАННОГО УЛЬТРАЗВУКА

Умеренная гипертермия тканей, возникающая под действием ФУЗ, способна привести к усилению их оксигенации и перфузии, тем самым повышая чувствительность к радиотерапии [39, 40]. В настоящее время на Тайване проводится первое в мире клиническое исследование по использованию ФУЗ для радиосенсибилизации при глиобластоме [17].

СОНОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

Разрабатывается т. н. сонодинамическая терапия (СДТ), при которой ФУЗ локально преобразует неактивное в отношении опухоли вещество в противоопухолевый препарат. В качестве соносенсибилизирующего вещества применяют, например, препараты 5-ALA и Флуоросцеин. Эти препараты селективно накапливаются в опухолях, таких как глиобластома, и применяются в на-

стоящее время для улучшения визуализации опухоли во время нейрохирургического вмешательства, поскольку они активируются не только звуком, но и светом. Ультразвук путём не совсем понятных механизмов, взаимодействуя с указанными препаратами, приводит к образованию активных форм кислорода, которые вызывают апоптоз. В настоящее время проводятся два клинических исследования (одно – в США, одно – в Италии) по применению сонодинамической терапии при злокачественных глиомах [17]. Большинство аккредитованных теорий включают эффекты кавитации, генерацию активных форм кислорода (АФК), индукцию апоптоза в раковых клетках, улучшение противоопухолевого иммунитета, сдерживание ангиогенеза и индукцию гипертермии [41].

1. Кавитационный эффект

Механизм кавитации предполагает образование и расширение микропузырьков, заполненных газовой или жидкой средой. Пузырьки, как правило, образуются из газов, растворённых в среде, или из ранее существовавших ядер, например, микропузырьки, вводимые в качестве ультразвуковых контрастных веществ. Отрицательные «разреженные» компоненты ультразвуковых волн позволяют расширять небольшие стабилизированные газонаполненные «полости» или пузырьки внутри жидкой среды [42]. Под воздействием ультразвукового давления эти пузырьки начинают колебаться, вызывая колебания клеточной мембраны или, если применяется ультразвук более высокой интенсивности, сильные ударные волны, сжимаясь и вызывая тем самым механические повреждения окружающих тканей. Это явление способствует распаду молекул воды и последующему образованию гидроксильных радикалов и атомов водорода

2. Генерация активных форм кислорода

Научная основа СДТ во многом опирается на генерацию АФК посредством одновременного сочетания ультразвука низкой интенсивности, молекулярного кислорода и сенсибилизирующего препарата [42]. Генерация АФК в СДТ, по-видимому, тесно связана с эффектом кавитации: максимальное расширение газовых пузырьков и последующая быстрая имплозия высвобождают значительную энергию, что приводит к повышению температуры и давления в окружающей микросреде. Было высказано предположение, что эти экстремальные температуры и давления в момент взрыва действуют как «звухимический» реактор, способный генерировать АФК в присутствии воды и кислорода; эти нестабильные молекулы, если образуются внутриклеточно, могут оказывать сильные цитотоксические эффекты, такие как окислительный стресс, повреждение ДНК и апоптоз, и могут индуцировать перекисное окисление липидов, если образуются вблизи клеточной мембраны. Образование АФК в этом процессе в основном объясняется механизмами сонолюминесценции и пиролиза.

3. Индукция апоптоза в раковых клетках

В нормальных условиях клетки способны очищать определённое количество АФК, поскольку они обычно

вырабатываются в организме во время дыхания; однако во время СДТ генерируется избыток АФК, который не может быть немедленно выведен и вызывает окислительный стресс внутри клеток. Окислительный стресс влияет на потенциал митохондриальной мембраны, что в конечном итоге может привести к апоптозу [42].

4. Улучшение противоопухолевого иммунитета

В целом эффекты, оказываемые СДТ путём воздействия на микроокружение опухоли и опухолевые клетки (как на инфильтрирующие иммунные, так и на опухолевые клетки), могут повысить иммуногенность опухоли.

5. Ограничение ангиогенеза

Даже если этот механизм до сих пор не ясен, антиангиогенные эффекты СДТ с 5-АЛК наблюдались V. Choi и соавт. как *in vitro*, так и *in vivo*; они, в частности, заметили, что СДТ с использованием ультразвука низкой интенсивности значительно ингибирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток *in vitro*, а также способность формировать капиллярные сети; соответственно, в исследовании *in vivo* на модели ксенотрансплантата рака языка человека на грызунах показано, что экспрессия фактора роста эндотелия сосудов, критического проангиогенного фактора, была значительно снижена после лечения СДТ по сравнению с субъектами, получавшими только ультразвук, или контрольной группой [42, 43].

6. Индукция гипертермии

В некоторых предварительных исследованиях было показано, что гипертермия, индуцированная ультразвуком, усиливает эффект СДТ, хотя точный механизм этого эффекта до сих пор не ясен [41].

ФОКУСИРОВАННЫЙ УЛЬТРАЗВУК И ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ

Y. Meng и соавт. [44] после воздействия низкомощным ФУЗ на зоны опухоли у 9 больных с глиобластомами отметили повышение в крови биомаркеров головного мозга и опухоли, в частности внеклеточной циркулирующей ДНК, профиль метилирования которой указывал на возможное её происхождение из опухоли. Этот эффект авторы объясняют временным открытием ГЭБ под действием ультразвука. Ранее аналогичные эффекты были продемонстрированы в экспериментах на животных [45, 46]. На основании этих данных можно сделать вывод о перспективности использования ФУЗ для повышения информативности жидкостной биопсии при злокачественных глиомах головного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведённые данные литературы свидетельствуют о том, что фокусированный ультразвук различной интенсивности рассматривается исследователями ряда стран

как один из перспективных путей повышения эффективности лечения в онкологии, в частности при опухолях головного мозга. Однако следует подчеркнуть, что исследования в данной области велись до настоящего времени в основном в виде фундаментальных физических изысканий и экспериментов на клеточных моделях и на животных. Испытания же в клинике пока весьма немногочисленны и не перешагнули в целом I фазы проведённых исследований. Тем не менее, нельзя не отметить тот факт, что в нашей стране имеется вполне определённая база для проведения исследований по применению ФУЗ в клиническом плане. При этом существенный опыт ряда отечественных клиник в лечении злокачественных опухолей ЦНС с использованием современных общепринятых высокотехнологичных противоопухолевых методов как у взрослых, так и у детей, а также наличие современного оборудования для проведения МРТ и ультразвуковой диагностики, в том числе и жидкостной биопсии, и, наряду с этим, наличие оригинальных разработок российских физиков позволяют не только продолжить, но и интенсифицировать исследования, направленные на глубокое понимание точных механизмов, участвующих, в частности, в фокусированном ультразвуковом разрушении ГЭБ.

Вместе с тем в настоящее время исследования по использованию соносенсибилизаторов и ультразвука для сонодинамического лечения глиом находятся на самой ранней стадии. При этом прежде чем ФУЗ станет рутинным вариантом лечения опухолей ЦНС, необходимы исследования, требующие подтверждения сонодинамического эффекта на других доклинических моделях глиомы, помимо наиболее часто используемой клеточной линии глиомы крысы С6. Более того, первоочередными являются и дальнейшие исследования для определения оптимальных параметров ультразвуковых волн, необходимых для индукции сонодинамического эффекта в злокачественных клетках, не вызывая при этом повреждения здоровых тканей головного мозга. В целом результаты, полученные в таких экспериментах, могут иметь неоценимое значение для планирования дальнейших доклинических исследований *in vivo*, а в будущем – и клинических испытаний, прежде чем ФУЗ станет рутинным вариантом лечения опухолей ЦНС.

В то же время опубликованные на сегодняшний день предварительные клинические данные, по-видимому, открывают захватывающую перспективу нового метода специального лечения глиомы, который может быть селективным по отношению к злокачественным клеткам и в то же время практически неинвазивным, что позволит в будущем применять его в первую очередь среди детских пациентов, а также при его повторной реализации при рецидивах заболевания, особенно после ранее уже проведённой радиотерапии.

Конфликт интересов

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

Финансирование

Авторы заявляют о финансировании проведённого исследования из собственных средств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Parekh K, LeBlang S, Nazarian J, Mueller S, Zacharoulis S, Hynynen K, et al. Past, present and future of focused ultrasound as an adjunct or complement to DIPG/DMG therapy: A consensus of the 2021 FUSF DIPG meeting. *Neoplasia*. 2023; 37: 100876. doi: 10.1016/j.neo.2023.100876
- Озеров С.С., Рыжова М.В., Кумирова Э.В. Диффузные опухоли ствола головного мозга у детей. Биология опухоли и надежда на лучший исход. Современное состояние проблемы. *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. 2021; 4: 77-86. [Ozerov SS, Ryzhova MV, Kumirova EV. Diffuse brainstem tumors in children. Tumor biology and hope for a better outcome. Current state of the problem. *Zhurnal Voprosy Neurokhirurgii Imeni N.N. Burdenko*. 2021; 4: 77-86. (In Russ.)]. doi: 10.17116/neiro20218504177
- Feldman L, Brown C, Badie B. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for glioblastoma. *Neuromolecular Med*. 2022; 2021: 1-6. doi: 10.1007/s12017-021-08689-5
- Yoo HJ, Harapan BN. Chimeric antigen receptor (CAR) immunotherapy: Basic principles, current advances, and future prospects in neuro-oncology. *Immunologic Res*. 2021; 69(6): 471-486. doi: 10.1007/s12026-021-09236-x
- Fu W, Wang W, Li H, Jiao Y, Huo R, Yan Z, et al. Single-cell atlas reveals complexity of the immunosuppressive microenvironment of initial and recurrent glioblastoma. *Front Immunol*. 2020; 11: 835. doi: 10.3389/fimmu.2020.00835
- Shen SH, Woroniecka K, Barbour AB, Fecci PE, Sanchez-Perez L, Sampson JH, et al. CAR T cells and checkpoint inhibition for the treatment of glioblastoma. *Expert Opin Biol Ther*. 2020; 20(6): 579-591. doi: 10.1080/14712598.2020.1727436
- Xiong Q, Zhu J, Zhang Y, Deng H. CAR-NK cell therapy for glioblastoma: What to do next? *Front Oncol*. 2023; 13: 1192128. doi: 10.3389/fonc.2023.1192128
- Stavarakaki E, Dirven CMF, Lamfers MLM. Personalizing oncolytic virotherapy for glioblastoma: In search of biomarkers for response. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(4): 614. doi: 10.3390/cancers13040614
- Saxena M, van der Burg SH, Melief CJM, Bhardwaj N. Therapeutic cancer vaccines. *Nat Rev Cancer*. 2021; 21(6): 360-378. doi: 10.1038/s41568-021-00346-0
- ter Haar G. The history of focused ultrasound. URL: <https://www.fusfoundation.org/posts/the-history-of-focused-ultrasound> [date of access: 11.03.2021].
- Лаборатория медицинского и промышленного ультразвука. [Laboratory for Industrial and Medical Ultrasound. (In Russ.)]. URL: <http://limu.msu.ru> [дата доступа: 1.11.2023].
- Назаренко Г.И., Чен В.Ш., Джан Л., Хитрова А.Н., Пашченко Н.В. Ультразвуковая абляция как высокотехнологичная органосохраняющая альтернатива хирургической операции. [Nazarenko GI, Chen VS, Dzhan L, Khitrova AN, Paschenko NV. Ultrasonic ablation as a high-tech organ-preserving an alternative to surgery. (In Russ.)] URL: https://oncology.ru/specialist/journal_oncology/archive/0209/018.pdf [дата доступа: 31.10.2023].
- Yang Q, Zhou Y, Chen J, Huang N, Wang Z, Cheng Y. Gene therapy for drug-resistant glioblastoma via lipid-polymer hybrid nanoparticles combined with focused ultrasound. *Int J Nanomedicine*. 2021; 16: 185-199. doi: 10.2147/IJN.S286221
- Zheng Q, Xia B, Huang X, Luo J, Zhong S, Li X. Nanomedicines for high intensity focused ultrasound cancer treatment and theranostics (review). *Exp Ther Med*. 2023; 25(4): 170. doi: 10.3892/etm.2023.11869
- Пономарчук Е.М., Буравков С.В., Ванг Я.Н., Хохлова Т.Д., Хохлова В.А. Морфологический анализ разрушений биологической ткани при облучении мощными фокусированными ультразвуковыми импульсами с ударными фронтами. *Ученые записки физического факультета МГУ*. 2016; 4: 164701 [Ponomarchuk EM, Buravkov SV, Wang YaN, Khokhlova TD, Khokhlova VA. Morphological analysis of biological tissue lesions induced by high intensity focused ultrasound pulses containing shock fronts. *Memoirs of the Faculty of Physics Lomonosov Moscow State University*. 2016; 4: 164701. (In Russ.)].
- Lamsam L, Johnson E, Connolly ID, Wintermark M, Hayden Gephart M. A review of potential applications of MR-guided focused ultrasound for targeting brain tumor therapy. *Neurosurg Focus*. 2018; 44(2): 10. doi: 10.3171/2017.11.FOCUS17620
- Roberts JW, Powlovich L, Sheybani N, LeBlang S. Focused ultrasound for the treatment of glioblastoma. *J Neurooncol*. 2022; 157(2): 237-247. doi: 10.1007/s11060-022-03974-0
- Галимова Р.М., Иллариошкин С.Н., Бузаев И.В., Качемаева О.В. Терапия двигательных нарушений методом фокусированного ультразвука под контролем магнитно-резонансной томографии. Рекомендации для врачей-неврологов по отбору пациентов. *Новые технологии*. 2020; 1: 9-15. [Galimova RM, Illarioshkin SN, Buzaev IV, Kachemaeva OV. Therapy of motor disorders by focused ultrasound under the control of magnetic resonance imaging. Recommendations for neurologists on patient selection. *Novye tekhnologii*. 2020; 1: 9-15. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2226-079X-2020-12168
- Janwadkar R, Leblang S, Ghanouni P, Brenner J, Ragheb J, Hennekens CH, et al. Focused ultrasound for pediatric diseases. *Pediatrics*. 2022; 149(3): e2021052714. doi: 10.1542/peds.2021-05271
- Москвичева Л.И. Применение HIFU-терапии в онкологии (2000–2021 гг.). *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2022; 11(1): 64-74. [Moskvicheva LI. Application of HIFU therapy in oncology (2000–2021). *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2022; 11(1): 6474. (In Russ.)]. doi: 10.17116/onkolog20221101164
- Bachu VS, Kedda J, Suk I, Green JJ, Tyler B. High-intensity focused ultrasound: A review of mechanisms and clinical applications. *Ann Biomed Eng*. 2021; 49(9): 1975-1991. doi: 10.1007/s10439-021-02833-9
- Галкин М.В. Применение транскраниального фокусированного ультразвука в лечении патологии ЦНС. *Журнал «Вопросы нейрохирургии» имени Н.Н. Бурденко*. 2016; 80(2): 108-118. [Galkin MV. The use of transcranial focused ultrasound in CNS diseases. *Zhurnal Voprosy Neurokhirurgii Imeni N.N. Burdenko*. 2016; 80(2): 108-118. (In Russ.)]. doi: 10.17116/neiro2016802108-118
- Paun L, Moiraghi A, Jannelli G, Nouri A, DiMeco F, Pallud J, et al. From focused ultrasound tumor ablation to brain blood barrier opening for high grade glioma: A systematic review. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(22): 5614. doi: 10.3390/cancers13225614

24. Duryea AP, Hall TL, Maxwell AD, Zhen X, Cain CA, et al. Histotripsy erosion of model urinary calculi. *J Endourol.* 2011; 25(2): 341-344. doi: 10.1089/end.2010.0407
25. Sukovich JR, Cain CA, Pandey AS, Chaudhary N, Camelo-Piragua S, Allen SP, et al. *In vivo* histotripsy brain treatment. *J Neurosurg.* 2018; 131(4): 1-8. doi: 10.3171/2018.4.JNS172652
26. Choi SW, Duclos S, Camelo-Piragua S, Chaudhary N, Sukovich J, Hall T, et al. Histotripsy treatment of murine brain and glioma: Temporal profile of magnetic resonance imaging and histological characteristics post-treatment. *Ultrasound Med Biol.* 2023; S0301-5629(23)00148-5. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2023.05.002
27. Hendricks-Wenger A, Hutchison R, Vlaisavljevich E, Allen IC. Immunological effects of histotripsy for cancer therapy. *Front Oncol.* 2021; 11: 681629. doi: 10.3389/fonc.2021.681629
28. Deligne C, Hachani J, Duban-Deweert S, Meignan S, Leblond P, Carcaboso AM, et al. Development of a human *in vitro* blood-brain tumor barrier model of diffuse intrinsic pontine glioma to better understand the chemoresistance. *Fluids Barriers CNS.* 2020; 17: 37. doi: 10.1186/s12987-020-00198-0
29. Angeli E, Nguyen TT, Janin A, Bousquet G. How to make anticancer drugs cross the blood-brain barrier to treat brain metastases. *Int J Mol Sci.* 2019; 21(1): 22. doi: 10.3390/ijms21010022
30. Воропаева Е.Н., Карпова В.С., Пospelova Т.И., Максимов В.Н., Воронцова Е.В. Современные представления о роли гематоэнцефалического барьера в развитии лимфом центральной нервной системы. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2022; (2): 131-147. [Voropaeva EV, Karpova VS, Pospelova TI, Maksimov VN, Vorontsova EV. Current research on the role of the blood-brain barrier in the central nervous system lymphomas development. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2022; (2): 131-147. (In Russ.)]. doi: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-131-147
31. Brighi C, Reid L, White AL, Genovesi LA, Kojic M, Millar A, et al. MR-guided focused ultrasound increases antibody delivery to nonenhancing high-grade glioma. *Neurooncol Adv.* 2020; 2(1): vdaa030. doi: 10.1093/oaajnl/vdaa030
32. Bunevicius A, McDannold NJ, Golby AJ. Focused ultrasound strategies for brain tumor therapy. *Oper Neurosurg (Hagerstown).* 2020; 19(1): 9-18. doi: 10.1093/ons/ozp374
33. Portnow J, Badie B, Chen M, Liu A, Blanchard S, Synold TW. The neuropharmacokinetics of temozolomide in patients with resectable brain tumors: Potential implications for the current approach to chemoradiation. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 7092-7098. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1349
34. Bérard C, Truillet C, Larrat B, Dhermain F, Estève MA, Correard F, et al. Anticancer drug delivery by focused ultrasound-mediated blood-brain/tumor barrier disruption for glioma therapy: From benchside to bedside. *Pharmacol Ther.* 2023; 250: 108518. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108518
35. Alli S, Figueiredo CA, Golbourn B, Sabha N, Wu MY, Bondoc A, et al. Brainstem blood brain barrier disruption using focused ultrasound: A demonstration of feasibility and enhanced doxorubicin delivery. *J Control Release.* 2018; 281: 29-41. doi: 10.1016/j.jconrel.2018.05.005
36. van Vuurden. Van Vuurden group. The Princess Maxima Center. URL: <https://research.prinsesmaximacentrum.nl/en/research-groups/van-vuurden-group> [date of access: 31.10.2023].
37. t' Hart E, Bianco J, Bruin MAC, Derieppe M, Besse HC, Berkhout K, et al. Radiosensitisation by olaparib through focused ultrasound delivery in a diffuse midline glioma model. *J Control Release.* 2023; 357: 287-298. doi: 10.1016/j.jconrel.2023.03.058
38. Mittelstein DR, Ye Jian, Schibber EF, Roychoudhury A, Martinez LT, Fekrazad MH, Ortiz M, et al. Selective ablation of cancer cells with low intensity pulsed ultrasound. *Appl Phys Lett.* 2020; 116(1): 013701 doi: 10.1063/1.5128627
39. Zhu L, Altman MB, Laszlo A, Straube W, Zoberi I, Halahan Dennis E, et al. Ultrasound hyperthermia technology for radiosensitization. *Ultrasound Med Biol.* 2019; 45: 1025-1043. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.12.007
40. Schneider CS, Woodworth GF, Vujaskovic Z, Mishra MV. Radiosensitization of high-grade gliomas through induced hyperthermia: Review of clinical experience and the potential role of MR-guided focused ultrasound. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol.* 2020; 142: 43-51. doi: 10.1016/j.radonc.2019.07.017
41. D'Ammando A, Raspagliesi L, Gionso M, Franzini A, Porto E, Di Meco F, et al. Sonodynamic therapy for the treatment of intracranial gliomas. *J Clin Med.* 2021; 10(5): 1101. doi: 10.3390/jcm10051101
42. Choi V, Rajora MA, Zheng G. Activating drugs with sound: mechanisms behind sonodynamic therapy and the role of nanomedicine. *Bioconjugate Chemistry.* 2020; 31(4): 967-989.
43. Venter RL. Effects of low intensity bio-resonance focused ultrasound on destroying cancerous cells: A literature review of low intensity bio-resonance focused on destroying cells. *IAJPS.* 2021; 08(05): 125-144. doi: 10.5281/zenodo.4752632
44. Meng Y, Pople CB, Suppiah S, Llinas M, Huang Y, Sahgal A, et al. MR-guided focused ultrasound liquid biopsy enriches circulating biomarkers in patients with brain tumors. *Neuro Oncol.* 2021; 23(10): 1789-1797. doi: 10.1093/neuonc/noab057
45. Zhu L, Nazeri A, Pacia CP, Yue Y, Chen H. Focused ultrasound for safe and effective release of brain tumor biomarkers into the peripheral circulation. *PLoS One.* 2020; 15(6): e0234182. doi: 10.1371/journal.pone.0234182
46. Pacia CP, Zhu L, Yang Y, Yue Y, Nazeri A, Gach M, et al. Feasibility and safety of focused ultrasound-enabled liquid biopsy in the brain of a porcine model. *Sci Rep.* 2020; 10(1):7449. doi: 10.1038/s41598-020-64440-3

Сведения об авторах

Резентова Ольга Сергеевна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением лучевой терапии детей с кожными онкологиями, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России, e-mail: olgagraudensh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>

Пархоменко Роман Алексеевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России; профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики Медицинского института, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: mailbox@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9249-9272>

Щербенко Олег Ильич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России, e-mail: mailbox@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0786-5448>

Антоненко Федор Федорович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, e-mail: antonenkoff@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5900-6755>

Зелинская Наталья Ивановна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, e-mail: natzelinskaya49@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-5380-2056>

Сидибэ Нелли – врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, e-mail: nellysidibe@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5556-0166>

Полушкин Павел Владимирович – кандидат медицинских наук, врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, e-mail: ppolushkin.93@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6661-0280>

Солодкий Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, e-mail: mailbox@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1641-6452>

Information about the authors

Olga S. Regentova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Pediatric Radiation Oncology with oncology beds, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: olgagraudensh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0219-7260>

Roman A. Parkhomenko – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Radiation Therapy and Complex Methods for Cancer Treatment, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology; Professor at the Department of Oncology and Radiology, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, e-mail: mailbox@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9249-9272>

Oleg I. Shcherbenko – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Radiation Therapy and Complex Methods for Cancer Treatment, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: mailbox@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0786-5448>

Fedor F. Antonenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Laboratory of Radiation Therapy and Complex Methods for Cancer Treatment, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: antonenkoff@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5900-6755>

Natalia I. Zelinskaya – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Radiation Therapy and Complex Methods for Cancer Treatment, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: natzelinskaya49@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-5380-2056>

Nelly Sidibe – Radiation Oncologist at the Department of Pediatric Radiation Oncology with oncology beds, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: nellysidibe@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5556-0166>

Pavel V. Polushkin – Cand. Sc. (Med.), Radiation Oncologist at the Department of Pediatric Radiation Oncology with oncology beds, Research Officer at the Laboratory of Radiation Therapy and Complex Methods for Cancer Treatment, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: ppolushkin.93@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6661-0280>

Vladimir A. Solodkiy – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of RAS, Director, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, e-mail: mailbox@rncrr.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1641-6452>

Вклад авторов

Регентова О.С. – концепция и дизайн исследования; сбор и анализ информации; окончательное утверждение для публикации рукописи.

Пархоменко Р.А. – сбор и анализ информации; написание текста.

Щербенко О.И. – сбор и анализ информации.

Антоненко Ф.Ф. – сбор и анализ информации.

Зелинская Н.И. – сбор и анализ информации.

Сидибэ Н. – сбор и анализ информации.

Полушкин П.В. – редактирование текста.

Солодкий В.А. – концепция и дизайн исследования.

ПОСТКАСТРАЦИОННЫЙ СИНДРОМ: АКТУАЛЬНОСТЬ, ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО ЖИЗНИ, МЕТОДЫ КОРРЕКЦИИ

**Зиганшин А.М.,
Тагиров М.Р.,
Бабоян Д.О.**

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный
медицинский университет»
Минздрава России (450008, г. Уфа,
ул. Ленина, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Зиганшин Айдар Миндиярович,
e-mail: zigaidar@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Аспекты современной медицины охватывают огромное количество заболеваний, в том числе посткастрационный синдром, возникающий в результате эндокринной дисфункции яичек у мужчин. Актуальность данного состояния велика, так как она возникает вследствие многих причин и является основанием для неполноценной жизни у мужчин. В обзоре показано влияние данного заболевания на качество жизни и методы его терапии. При написании данного обзора были использованы данные о методах кастрации и её коррекции по материалам, опубликованным в базах eLibrary и PubMed. Поиск проводился по ключевым словам: «кастрация», «посткастрационный синдром», «рак предстательной железы». При кастрации наблюдается снижение уровня тестостерона в сыворотке, так как андрогены стимулируют рост рака предстательной железы. На сегодня гормональная терапия является альтернативой кастрации при лечении пациентов с раком предстательной железы. Хирургическая кастрация является «золотым стандартом»; с её помощью можно подавить пролиферацию опухолевых клеток и индуцировать апоптоз опухоли, но она вызывает значительные нарушения качества жизни. В материале представлены характеристика лекарственных препаратов, показания, противопоказания и побочные эффекты от проводимой гормональной терапии. Качество жизни мужчин с дефицитом тестостерона клинически связано с развитием метаболического синдрома, проявляющимся ожирением, стеатозом печени и сахарным диабетом 2-го типа. Многочисленные исследования отечественных и зарубежных учёных подтверждают влияние кастрации у мужчин на организм, при котором повышается риск развития инсульта, депрессии, когнитивных расстройств и болезни Альцгеймера. Таким образом, несмотря на значительные успехи современной медицины в терапии злокачественных заболеваний предстательной железы посткастрационный синдром остаётся до конца не изученной проблемой, что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения и разработки эффективных средств терапии.

Ключевые слова: рак предстательной железы, рак яичка, орхиэктомия, посткастрационный синдром, кастрация

Статья поступила: 26.10.2022

Статья принята: 15.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Зиганшин А.М., Тагиров М.Р., Бабоян Д.О. Посткастрационный синдром: актуальность, влияние на качество жизни, методы коррекции. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 107-115. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.11

POST-CASTRATION SYNDROME: RELEVANCE, IMPACT ON QUALITY OF LIFE, METHODS OF CORRECTION

**Ziganshin A.M.,
Tagirov M.R.,
Baboyan D.O.**

Bashkir State Medical University
(Lenina str. 3, Ufa 450008,
Russian Federation)

Corresponding author:
Aidar M. Ziganshin,
e-mail: zigaidar@yandex.ru

ABSTRACT

Aspects of modern medicine cover a huge number of diseases, including post-castration syndrome, which occurs as a result of endocrine testicular dysfunction in men. The relevance of this condition is great, since it is caused by many reasons and is the basis for an inferior life in men. The review shows the impact of this disease on the quality of life and the methods for its treatment. When writing this review, we used data on castration methods and its correction based on materials published in the eLibrary and PubMed databases. The search was carried out using the key-words: "castration", "post-castration syndrome", "prostate cancer". With castration, there is a decrease in serum testosterone levels, as androgens stimulate the growth of prostate cancer. Today, hormone therapy is an alternative to castration in the treatment of prostate cancer. Surgical castration is the gold standard; it can suppress tumor cell proliferation and induce tumor apoptosis, but it causes significant impairment of quality of life. The article presents characteristics of medications, indications, contraindications and side effects of hormone therapy. The quality of life of men with testosterone deficiency is clinically associated with the development of metabolic syndrome, manifested by obesity, hepatic steatosis and type 2 diabetes mellitus. Numerous studies by domestic and foreign scientists confirm the effect of castration in men on their body, which increases the risk of stroke, depression, cognitive disorders and Alzheimer's disease. Thus, despite the significant advances of modern medicine in the treatment of malignant diseases of prostate, post-castration syndrome remains a completely unexplored problem, which indicates the need for further study and the development of effective therapy.

Key words: prostate cancer, testicular cancer, orchiectomy, post-castration syndrome, castration

Received: 26.10.2022
Accepted: 15.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Ziganshin A.M., Tagirov M.R., Baboyan D.O. Post-castration syndrome: relevance, impact on quality of life, methods of correction. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 107-115. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.11

ВВЕДЕНИЕ

Посткастрационный синдром (ПКС) у мужчин – симптомокомплекс, характеризующийся эндокринными, обменными и нервно-психическими нарушениями, развивающийся вследствие эндокринной дисфункции яичек в результате операций, травмы, заболеваний, радиационного излучения и деструкции тканей после инфекционных заболеваний. В структуре смертности онкологические заболевания находятся на втором месте, уступая заболеваниям сердечно-сосудистой системы, и являются причиной до 11 % всех смертей в мире. Ежегодно заболевают раком 18,1 млн человек, из них 9,6 млн погибают; таким образом, в сутки от онкологических заболеваний умирают 27 000 человек. По данным Росстата, за 2018 г. от злокачественных новообразований умерли 41,1 мужчин на 1 тыс. человек в возрасте от 16 до 59 лет (96,2 мужчин на 100 тыс. населения); несмотря на некоторое снижение в 2019 г. (соответственно до 38,8 и 91,9 мужчин), в целом количество случаев данной патологии не имеет тенденции к снижению [1, 2].

Все эндокринные железы подвержены неопластическому росту, однако последствия влияния на здоровье данных новообразований разнообразны. Опухоли гипофиза широко распространены, и в подавляющем большинстве случаев они протекают доброкачественно, но отличаются при этом широким спектром различного влияния на организм. Пролактиномы, вызывая повышение концентрации пролактина в крови, оказывают своё влияние на функцию половых желёз через гипоталамус, способствуя развитию гипогонадотропного гипогонадизма. Микропролактиномы наиболее часто встречаются у женщин, вызывая бесплодие и нарушения менструального цикла (вторичная аменорея), а у мужчин, наоборот, чаще наблюдается макропролактинома [3].

Доля урогенитальных травм в мирное время составляет 1–3,5 % от общего количества случаев, из них 35–60 % составляют травмы с вовлечением почки, 30–41 % затрагивают мошонку и другие части половых органов. Значительную часть в группе больных с ПКС занимает рак предстательной железы (РПЖ), который является основной причиной смертности среди мужчин. Ежегодно в мире у 1,6 млн мужчин обнаруживается РПЖ, и 366 000 мужчин (22,88 %) умирают. Многочисленные литературные данные свидетельствуют о значительном снижении качества жизни мужчин, что свидетельствует о необходимости проведения у них постоянной реабилитации. В структуре онкологической заболеваемости мужчин в Российской Федерации РПЖ занимает 4-е место, причём за последние 10 лет заболеваемость увеличилась более чем в 2 раза, а темпы её роста на сегодня являются максимальными среди всех онкологических заболеваний у лиц мужского пола [4].

Наибольшую распространённость РПЖ имеет в развитых странах; так, вероятность диагностики в возрасте 79 лет составляет 1:47 случаев в странах с низким и/или со средним социально-демографическим индексом. В США РПЖ является основной причиной заболеваемости и смертности от ПКС; по оценкам специалистов,

в 2016 г. было диагностировано 180 890 новых случаев. Соотношение заболеваемости и смертности значительно различается в мире: самое высокое соотношение – в Северной Америке (10:1), более низкое – в Австралии (2:1), почти одинаковое – в некоторых странах Карибского бассейна и некоторых частях Африки (1,2:1). Проводимое радикальное лечение РПЖ способно оказать негативное влияние и вызвать не только расстройства функции мочеиспускания, кишечника, сексуального нарушения, но и качества жизни, что заставляет специалистов задуматься над поиском новых методов терапии.

Несмотря на высокую заболеваемость, распространённость и продолжительность, этот вид рака имеет самую высокую 5-летнюю выживаемость, составляя 25 % всех случаев заболевания.

Другой причиной для развития ПКС являются травмы яичка, вызванные операциями по смене пола, врождёнными пороками и аномалиями развития, другими онкологическими, соматическими заболеваниями и осложнениями после оперативных вмешательств. Для оценки заболеваемости и статистической обработки количества травм в США рекомендуют использование критерия Стьюдента, который позволяет собрать клиничко-анамнестические данные о пациентах, включающие возраст, пол и сопутствующие заболевания на догоспитальном этапе. Догоспитальные сопутствующие заболевания включали сердечно-сосудистую недостаточность, артериальную гипертензию, заболевания периферических сосудов, инфаркт миокарда, вредные привычки (курение, алкоголь), почечную недостаточность, болезни лёгких и нарушение мозгового кровообращения. Сведения о профиле травмы включали шкалу оценки тяжести и механизма травмы.

В исследование также были включены сведения о любых травмах почек, мочевого пузыря, уретры, мочеочечников, надпочечников, полового члена, таза, позвоночника и черепно-мозговые травмы. Анализ травм мошонки и яичек у пациентов из США выявил, что среди 8030 пациентов всего лишь 19 (0,23 %) имели повреждения мошонки/яичек, из которых только в 8 (44,6 %) случаях они были связаны с тупой травмой. При этом проникающий механизм травмы имел место в 50,5 % случаев, и наиболее частой причиной (75,8 %) было нападение с применением огнестрельного оружия. Средний возраст пациентов составил $31 \pm 3,6$ года. У большинства пациентов (74,5 %) была изолированная травма мошонки или яичка, при которой в 48,3 % случаев потребовалось оперативное лечение, направленное на восстановление разрыва (37,3 %). Одной из причин травм яичка явились случаи, когда пациенты попадали в аварию на мотоцикле; у данной группы в половине случаев (48,3 %) была выполнена операция на мошонке/яичке, но наиболее частой операцией была коррекция разрыва мошонки или яичка (в 37,3 % случаев) с последующей односторонней орхиэктомией в 23,4 % случаев [5].

За рубежом в силу определённых психологических и физиологических факторов часто выполняются операции в косметических целях: например, операция по смене пола для трансгендерных женщин. Гендерная дисфо-

рия представляет собой состояние, при котором пол человека, присвоенный ему при рождении, и пол, с которым он себя идентифицирует, не совместимы. Годовой отчёт специалистов Американского общества пластической хирургии показал, что в 2016 г. выполнено 1759 трансфеминных и 1497 транс мужских операций пациентам, которые прошли процедуру подтверждения пола, что на 27 % и 10 % соответственно больше по сравнению с 2015 г. Недавний опрос почти 28 000 трансгендеров показал, что среди людей, которым при рождении был назначен женский пол, 21 % перенесли операцию по реконструкции грудной клетки, 8 % – гистерэктомию, 1 % – метойдиопластику, 1 % – фаллопластику. Среди лиц, отнесённых к мужскому полу при рождении, 10 % подверглись вагинопластике или лабиопластике, 9 % – орхиэктомии, 8 % – увеличивающей маммопластике, 6 % – лицевой хирургии [6–8].

Нередки случаи развития ПКС при перекрутке яичка – ситуация, которая является острой урологической неотложной ситуацией, поражающей 1 из 4000 мужчин в возрасте до 25 лет. Возникает она из-за ротации семенного канатика, когда вращение и последующее сужение артерии приводят к ишемии, вызывая повреждение ткани яичка, что также является состоянием, требующим неотложной хирургической помощи. Ультразвуковая сонография яичек в данном случае является основой для оценки кровотока и выраженности сосудистых изменений для решения вопроса сохранения органа [9].

Операции при врождённых аномалиях и пороках развития при неопустившемся яичке (МКБ-10: Q53.9) – ситуация, при которой также может потребоваться орхиэктомия; наблюдается она в случае, когда яички расположены в брюшной полости, и их необходимо хирургическим путём переместить в мошонку. При непоправимом повреждении хирург может удалить одно или оба яичка, поэтому для исключения врачебных ошибок необходимо провести тщательную мануальную диагностику. Для этого, уложив пациента, необходимо тёплыми пальцами пальпировать орган от проекции пахового канала к лобку в положении пациента лёжа на спине. Пах, мошонка, внутренняя поверхность бедра, бедренная кость, промежность и область полового члена также должны быть пропальпированы для обнаружения эктопического яичка. Визуализирующие исследования (ультразвуковое исследование) могут повлиять на тактику лечения, а диагностическая лапароскопия неизбежна для независимой оценки результатов [10, 11].

Гормональная терапия (ГТ) имеет значительные преимущества, в отличие от хирургической кастрации (ХК), так как может назначаться короткими или длительными курсами, но также имеет неблагоприятные последствия для организма – она способна вызывать снижение мышечной массы, сексуальную дисфункцию, физическую слабость, психологическую травму и снижать качество жизни (КЖ). Неблагоприятные метаболические последствия ГТ часто связаны с повышенным риском развития сердечно-сосудистых и нервно-психических заболеваний. Непосредственные симптомы при местнораспространённом и/или метастатическом раке включают: боль,

гиперкальциемию, компрессию спинного мозга и патологические переломы костей, которые также оказывают негативное влияние на общее состояние здоровья. Поэтому проведение консервативной терапии у пациентов с РПЖ позволяет улучшить КЖ, сохранить и восстановить функции органов мочеиспускания, дефекации и половых органов [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При написании данного обзора были использованы данные о ПКС, методах его коррекции, опубликованные в базах eLibrary, PubMed. Поиск производился по ключевым словам: «кастрация», «посткастрационный синдром», «рак предстательной железы». В результате детальной проверки достоверности источников непосредственно для цитирования было отобрано 60 статей, включённых в обзор для исследования.

Кастрация, определяется как «лишение (самца животного или человека) яичек» и имеет далёкие корни. Хирургическая кастрация посредством орхиэктомии (удаления яичек) нередко проводилась в древнем Китае. Исследование евнухов в Китае показало, что в результате кастрации у 21 из 26 мужчин предстательная железа почти не прощупывалась, что свидетельствует о необходимости постоянного присутствия андрогенов на протяжении всей жизни для функционирования железы. Исчезновение (уменьшение размеров) простаты может быть функциональным (после кастрации) и возрастным, когда происходит естественное уменьшение яичек. Кастрация сегодня может быть выполнена хирургическим и химическим путём [12].

Отсутствие андрогенной стимуляции опухолевых клеток при хирургической или фармакологической кастрации ведёт к подавлению их пролиферации и индуцирует апоптоз опухоли. Хирургическая кастрация – «золотой стандарт», с которым сравниваются все остальные методы ГТ; удаление яичек уже через 24 часа приводит снижению уровня тестостерона в сыворотке крови до минимальных значений. На сегодня орхиэктомия больше не является основным методом лечения, в основном из-за общественного мнения, которое считает данный метод варварским, способным не только приводить к изменению внешнего вида, но и оказывать выраженное психологическое воздействие ввиду необратимости процедуры. Единственными преимуществами данного метода являются простота исполнения, дешевизна и отсутствие осложнений, однако данный метод не пользуется популярностью у пациентов из-за выраженного отрицательного психологического эффекта от перенесённой операции и необратимости процесса. Для этого всё более широко применяют фармакологическую кастрацию, терапию агонистами лютеинизирующего гормона рилизинг-гормона (ЛГРГ) – аналогами естественного ЛГРГ человека, с помощью которых достигается обратимая медикаментозная кастрация, – и антиандрогенами, обладающими способностью создать максимальную андрогенную блокаду и интермиттирующую андроген-

ную супрессию. Однако несмотря на многообразие существующих подходов и огромный клинический опыт ГТ, «идеального» метода андрогенной депривации пока не найдено. В последнее время на фармакологическом рынке появились новые группы лекарственных средств для ГТ РПЖ – антагонисты ЛГРГ [13–15]. При данном виде кастрации наблюдается снижение уровня тестостерона в сыворотке, поскольку известно, что андрогены стимулируют рост рака предстательной железы; поэтому ГТ может быть использована для лечения пациентов даже с поздно выявленным РПЖ [16, 17].

Одним из видов ГТ является проведение андроген-депривационной терапии (АДТ); у мужчин с метастатическим РПЖ она вызывает противоопухолевую реакцию и «улучшает связанные со злокачественным процессом нарушения костного метаболизма». АДТ можно назначать в течение различного периода времени, она может сочетаться с дистанционной лучевой терапией или брахитерапией (интерстициальное облучение). Курс ГТ обычно зависит от заболевания, побочных эффектов, осложнений и противопоказаний, сопровождающих терапию, способности изменять уровень тестостерона и эстрогенов у мужчин. На сегодня существует несколько различных типов ГТ, состоящих из химических и хирургических средств. Химическая кастрация осуществляется тремя группами фармакологических средств [18, 19].

К первому типу относятся агонисты или антагонисты ЛГРГ; агонисты ЛГРГ иногда могут вызывать «вспышки тестостерона», которых можно избежать с помощью антагонистов. Агонисты ЛГРГ включают лейпрорелин, гозерелин и трипторелин; антагонисты ЛГРГ – дегареликс, ингибиторы CYP17 и абиратерон [20].

Ко второй группе относятся антиандрогены, которые участвуют в блокировании эффектов андрогенов непосредственно на клетках, обычно посредством блокады самого андрогенового рецептора. К ним относятся флутамид, бикалутамид, нилутамид, энзалутамид, апарлутамид и даролутамид. Данные пероральные препараты делятся в зависимости от своей химической структуры на стероидные (ципротерон, мегестрол и медроксипрогестерон) и нестероидные, или чистые (нилутамид, флутамид и бикалутамид) [21, 22].

К третьей группе относят препараты женских половых гормонов – эстрогенов. Эстрогены действуют через механизм обратной связи, отключая выработку андрогенов и опосредованно снижают уровень тестостерона. Основным побочный эффект связанный с введением эстрогена, заключается в том, что его высокая активность (из-за наличия рецепторов эстрогена на тромбоцитах) может привести к серьёзным или даже фатальным венозным тромбообразованиям (ВТЭ) [21].

Основные преимущества АДТ заключаются в том, что в результате терапии происходит снижение уровня тестостерона, которое является быстрым и эффективным, нехирургическим, обратимым и имеет возможность для перорального или подкожного введения, в отличие от современных препаратов химиотерапии, вводимых внутривенно. Однако побочные эффекты, воз-

никающие в результате ГТ, значительны и часто могут приводить к тому, что пациенты прекратят её использование или будут использовать её с перерывами. Основными ограничениями являются приливы, потеря либидо, усталость, остеопороз, эректильная дисфункция и многое другое. Одним из самых больших ограничений для использования ГТ является то обстоятельство, что после неё нередко наблюдаются рецидивы заболевания с развитием кастрационно-резистентного рака предстательной железы (КРРПЖ) [22, 23].

Аналоги ЛГРГ длительного действия стали основной формой ГТ при ПКС. Препараты представляют собой синтетические аналоги ЛГРГ, в основном вводимые как депо-инъекции один раз в 1, 2, 3, 6 или 12 месяцев. После введения одной дозы они стимулируют ЛГРГ-рецепторы, вызывая транзиторное повышение выброса ЛГ и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). В свою очередь это вызывает повышение синтеза тестостерона («волны» тестостерона или эффект «вспышки»), которое начинается через 2–3 дня после первой инъекции и продолжается в течение примерно одной недели. Эффект «вспышки» может привести к потенциально пагубному воздействию и проявляется повышением боли в костях, остро развивающейся инфравезикальной обструкцией, постренальной почечной недостаточностью, компрессией спинного мозга и летальными осложнениями со стороны сердечно-сосудистой системы, связанными с состоянием гиперкоагуляции. Риск развития клинических «вспышек» повышен у пациентов с симптоматическими метастазами в кости большого объёма. Сопутствующая терапия антиандрогенами снижает частоту клинических «вспышек», но полностью не исключает вероятность их возникновения [24, 25].

Антагонисты ЛГРГ способны немедленно связываться с рецепторами ЛГРГ в передней доле гипофиза. В результате этого быстро снижаются уровни ЛГ, ФСГ и тестостерона без развития «вспышек», что улучшает результаты терапии и комплаентность со стороны пациентов. Недостатком и практическим ограничением использования препаратов считается отсутствие депо-форм длительного действия, так как в настоящее время доступны только препараты для ежемесячного введения [26].

Одним из препаратов данной группы является антагонист ЛГРГ «Дегареликс», который вводится подкожно один раз в месяц. Стандартная доза «Дегареликса» составляет 240 мг в первый месяц с последующим введением по 80 мг ежемесячно. Показанием для применения данного препарата является прогрессирующий гормонозависимый РПЖ; побочные эффекты включают снижение либидо, головные боли, депрессию, тошноту, диарею, мышечные боли, усиленное потоотделение, учащённое мочеиспускание, анемию, что надо учитывать при назначении препарата [27].

К группе стероидных ингибиторов фермента CYP17 относится препарат «Абиратерон», который применяют для лечения метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (в комбинации с преднизолоном). Побочные эффекты включают инфекции мочевыводящих путей, гепатотоксичность,

артериальную гипертензию, диспепсию, периферические отеки [28].

Стероидные антиандрогены представляют собой синтетические производные гидроксипрогестерона. Побочные эффекты развиваются при назначении препаратов данной группы развиваются, вторично приводя к снижению уровня тестостерона (гинекомастия встречается достаточно редко), а нефармакологические включают осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы (4–40 % для ципротерона) и гепатотоксичность. Ципротерон обычно назначается в режиме двух- или трёхкратного приёма по 100 мг; показанием для его назначения являются коррекция патологических отклонений в сфере полового поведения (при необходимости снижения сексуальной активности), метастазирующий или неоперабельный РПЖ. К побочным эффектам относятся гинекомастия, изменение массы тела, депрессия, усталость, кашель, одышка [29, 30].

Нестероидные антиандрогены не подавляют секрецию тестостерона, поэтому при терапии антиандрогенами сохраняются либидо, общее физическое самочувствие и минеральная плотность костной ткани (МПКТ) [31, 32]. Однако при назначении препаратов данной группы могут наблюдаться нефармакологические побочные эффекты: расстройства зрения (замедленная адаптация к темноте), непереносимость алкоголя, тошнота, гепатотоксичность и интерстициальная пневмония (иногда летальная) и головная боль [33, 34].

Эстрогены снижают уровень тестостерона, но использование их вызывает тяжёлые побочные эффекты в виде тромбэмболических осложнений даже при минимально низких дозах, поэтому данная группа не рассматривается для терапии [35, 36].

При оценке КЖ у мужчин с дефицитом тестостерона выявлена клиническая связь с формированием метаболического синдрома, который проявляется развитием ожирения, стеатоза печени и сахарным диабетом 2-го типа. Доказательством этого являются экспериментальные исследования на самцах крыс, подтверждающие влияние дефицита тестостерона, вызванного кастрацией и развитием ожирения тела. Многочисленные исследования отечественных и зарубежных учёных подтверждают влияние кастрации у мужчин на организм, при котором повышается риск развития инсульта, депрессии, когнитивных расстройств и болезни Альцгеймера. При этом у мужчин, у которых кастрация была проведена до полового созревания, сохраняются препубертатные черты, такие как высокий голос и отсутствие растительности на лице; при проведении кастрации после полового созревания, наоборот, сохраняется растительность на лице, низкий голос, но мужчины испытывают физические изменения, такие как выпадение волос на теле, некоторую гинекомастию и уменьшение размеров полового члена. Побочные эффекты кастрации могут наблюдаться при длительном применении агониста ЛГРГ, когда в дополнение к феминизирующим признакам наблюдается прибавка в весе до 10 %, в основном за счёт жира

в области живота и бёдер, потеря мышечной массы в среднем на 3–4 %, лёгкая анемия, остеопороз, приливы. При этом более 85 % мужчин с дефицитом андрогенов отмечают снижение либидо и эректильную дисфункцию. При дифференциальной диагностике депрессивные расстройства у больных РПЖ, перенёсших ХК и лишённых воздействия андрогенов трудно отличить от таковых при неэффективной терапии рака и старении [37–40].

Депрессивные расстройства у пациентов с онкологическими заболеваниями способны оказывать целый ряд негативных эффектов, к которым относятся: повышенный риск суицида, снижение качества жизни, сокращение продолжительности жизни, неудовлетворительная комплаентность пациентов и увеличение длительности пребывания в онкологическом стационаре. Было несколько исследований, где выявлено, что у одиноких и не состоящих в браке мужчин шансы совершить самоубийство составляют 65 %. Причём вероятность самоубийств самая высокая в группе пациентов, где диагноз установлен в более ранние сроки, что, вероятно, связано с увеличением продолжительности влияния риска на психику пациента. К другим важным факторам, оказывающим влияние на частоту депрессивных расстройств, относятся: соматические заболевания в зависимости от степени тяжести; осложнения, связанные с моно- или полиорганными поражениями органов и систем, побочными эффектами препаратов (цитостатики, гормональные средства, лучевая терапия и др.).

Значительное влияние на частоту и выраженность депрессивных расстройств оказывает стадия онкологического заболевания. Одними из факторов риска для развития депрессивных расстройств являются тяжесть и травматичность хирургического вмешательства при проведении оперативного лечения. Чаще всего она представлена формирующимися на фоне стойкой гипотимии (подавленность, пессимистическая оценка будущих перспектив) полиморфными опасениями и нозофобиями, тесно связанными с ситуацией онкологического заболевания [41, 42].

Различные изменения эмоционального поведения отмечаются у мужчин и транссексуалов, перешедших из мужчины в женщину. Несмотря на смену пола, мужчинам нелегко иметь дело с наступившими изменениями внешности, которые не всегда отвечают требованиям и влияют на способность сексуально функционировать. Многие исследования показывают, что физические и психологические последствия АДТ являются серьёзными, что делает пациентов бессильными в борьбе с депрессией, когнитивными расстройствами и резко сниженным КЖ. При сниженном либидо многие впоследствии отказываются от секса, любви и физического контакта со стороны своих партнёров. Они смущаются из-за наступивших изменений внешности, глубоко переживают и не хотят обсуждать данную тему, даже с врачами, что приводит к фрустрации и депрессии у партнёров, а в дальнейшем – к разрыву супружеских отношений [43–45].

При этом клиника развития ПКС значительно различается в зависимости от возраста. При сравнении больных, кастрированных по поводу РПЖ, и добровольных евнухов последние сообщают о более высоком уровне сексуального интереса, несмотря на то, что они были в среднем на два десятилетия моложе больных раком. С точки зрения обеих групп, их самооценка физического здоровья была явно выше, чем у пациентов с РПЖ, чему также способствовал тот факт, что они не были обременены диагнозом рака. Тем не менее, эти данные свидетельствуют о том, что указанные биологические факторы – возраст, здоровье, гормоны и психологические ожидания – также влияют на сексуальность у мужчин, лишённых андрогенов. При этом стоит отметить, что евнухи в истории имели более высокое КЖ, которое зависело от культурных норм, времени и места жительства.

Добровольные евнухи имели более высокий уровень психического здоровья и социального взаимодействия, при этом не менее 49 % сообщили, что до кастрации они испытывали депрессию большой или малой степени, и лишь 38 % опрошенных сообщили о депрессии после проведения кастрации, что свидетельствует о перенесённом стрессе. Исследования, проведённые за рубежом, подтверждают, что только 17 % евнухов, перенёвших ХК, как основную причину называют своё желание быть женщиной, а 15 % при этом заявили, что они использовали данный метод для предоставления удовольствия своему партнёру. Добровольные евнухи имеют одну общую черту с пациентами с РПЖ – они прячутся от посторонних глаз, и лишь немногие способны открыто говорить о своём кастрированном статусе в повседневной жизни. При этом только 8 % хирургических евнухов сообщают, что у них эта операция была выполнена вопреки мнению ближайших друзей, родственников и членов семьи. Всё это предполагает, что большинство кастрированных индивидуумов скрывают свою морфологическую и эмоциональную окраску из-за страха унижения в обществе [46–49].

Таким образом, несмотря на значительные успехи современной медицины в терапии злокачественных заболеваний рака предстательной железы, посткастрационный синдром остаётся малоизученной проблемой. Анализ материала свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения и разработки новых качественных препаратов, способных влиять на течение злокачественного процесса и в то же время мало влиять на качество жизни. При этом важной является разработка лекарственных средств, способных медикаментозно корректировать андрогенодефицит у пациентов, для устранения возможных физических и психологических изменений, улучшения качества жизни и состояния здоровья больных, страдающих злокачественным заболеванием.

Конфликт интересов

Авторы заявляют о том, что представленная статья, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Пушкарь Д.Ю., Говоров А.В., Васильев А.О., Колонтарев К.Б., Прилепская Е.А., Ковылина М.В., и др. Московская программа ранней диагностики и лечения рака предстательной железы. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2019; 27(Спецвып.): 677–686. [Pushkar DY, Govorov AV, Vasilyev AO, Kolontarev KB, Prilepskaya EA, Kovyulina MV, et al. Moscow program of early detection and treatment of prostate cancer. *Problems of Social Hygiene, Public Health and History of Medicine*. 2019; 27(Spec. Iss.): 677–686. (In Russ.)]. doi: 10.32687/0869-866X-2019-27-si1-677-686
2. Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM, Mucci LA. The epidemiology of prostate cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018; 8(12): a030361. doi: 10.1101/cshperspect.a030361
3. Melmed S, Kaiser UB, Lopes MB, Bertherat J, Syro LV, Raverot G, et al. Clinical biology of the pituitary adenoma. *Endocr Rev*. 2022; 43(6): 1003–1037. doi: 10.1210/endo/bnac010
4. Agarwal A, Dayal A, Kircher SM, Chen RC, Royce TJ. Analysis of price transparency via National Cancer Institute-designated cancer centers' chargemasters for prostate cancer radiation therapy. *JAMA Oncol*. 2020; 6(3): 409–412. doi: 10.1001/jama-oncol.2019.5690
5. Grigorian A, Livingston JK, Schubl SD, Hasjim BJ, Mayers D, Kuncir E, et al. National analysis of testicular and scrotal trauma in the USA. *Res Rep Urol*. 2018; 10: 51–56. doi: 10.2147/RRU.S172848
6. Bizic MR, Jevtovic M, Pusica S, Stojanovic B, Dui-sin D, Vujovic S, et al. Gender dysphoria: Bioethical aspects of medical treatment. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 9652305. doi: 10.1155/2018/9652305
7. Tollinche LE, Walters CB, Radix A, Long M, Galante L, Goldstein ZG, et al. The perioperative care of the transgender patient. *Anesth Analg*. 2018; 127(2): 359–366. doi: 10.1213/ANE.0000000000003371
8. Salas-Humara C, Sequeira GM, Rossi W, Dhar CP. Gender affirming medical care of transgender youth. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2019; 49(9): 100683. doi: 10.1016/j.crpeds.2019.100683
9. Jacobsen FM, Rudlang TM, Fode M, Østergren PB, Sønksen J, Ohl DA, et al. The impact of testicular torsion on testicular function. *World J Mens Health*. 2020; 38(3): 298–307. doi: 10.5534/wjmh.190037
10. Shin J, Jeon GW. Comparison of diagnostic and treatment guidelines for undescended testis. *Clin Exp Pediatr*. 2020; 63(11): 415–421. doi: 10.3345/cep.2019.01438
11. Gurney JK, McGlynn KA, Stanley J, Merriman T, Signal V, Shaw C, et al. Risk factors for cryptorchidism. *Nat Rev Urol*. 2017; 14(9): 534–548. doi: 10.1038/nrurol.2017.90
12. Steele CB, Li J, Huang B, Weir HK. Prostate cancer survival in the United States by race and stage (2001–2009): Findings from the CONCORD-2 study. *Cancer*. 2017; 123(Suppl 24): 5160–5177. doi: 10.1002/cncr.31026
13. Ritch C, Cookson M. Recent trends in the management of advanced prostate cancer. *F1000Res*. 2018; 7: F1000 Faculty Rev-1513. doi: 10.12688/f1000research.15382.1
14. Burdett S, Boevé LM, Ingleby FC, Fisher DJ, Rydzewska LH, Vale CL, et al. Prostate radiotherapy for metastatic hormone-sensitive prostate cancer: A STPCAP systematic review

and meta-analysis. *Eur Urol.* 2019; 76(1): 115-124. doi: 10.1016/j.eururo.2019.02.003

15. Itty S, Getzenberg RH. How do we define "castration" in men on androgen deprivation therapy? *Asian J Androl.* 2020; 22(5): 441-446. doi: 10.4103/aja.aja_139_19

16. James ND, Sydes MR, Clarke NW, Mason MD, Dearnaley DP, Spears MR, et al. Addition of docetaxel, zoledronic acid, or both to first-line long-term hormone therapy in prostate cancer (STAMPEDE): Survival results from an adaptive, multiarm, multistage, platform randomised controlled trial. *Lancet.* 2016; 387(10024): 1163-1177. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01037-5

17. Penson DF, Armstrong AJ, Concepcion R, Agarwal N, Olsson C, Karsh L, et al. Enzalutamide versus bicalutamide in castration-resistant prostate cancer: The STRIVE trial. *J Clin Oncol.* 2016; 34(18): 2098-2106. doi: 10.1200/JCO.2015.64.9285

18. Hussain M, Fizazi K, Saad F, Rathenborg P, Shore N, Ferreira U, et al. Enzalutamide in men with nonmetastatic, castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2018; 378(26): 2465-2474. doi: 10.1056/NEJMoa1800536

19. Yecies T, Bandari J, Schneck F, Cannon G. Direction of rotation in testicular torsion and identification of predictors of testicular salvage. *Urology.* 2018; 114: 163-166. doi: 10.1016/j.urology.2017.11.034

20. Mellick LB, Sinex JE, Gibson RW, Mears K. A systematic review of testicle survival time after a torsion event. *Pediatr Emerg Care.* 2019; 35(12): 821-825. doi: 10.1097/PEC.0000000000001287

21. Gravis G, Boher JM, Chen YH, Liu G, Fizazi K, Carducci MA, et al. Burden of metastatic castrate naive prostate cancer patients, to identify men more likely to benefit from early docetaxel: Further analyses of CHAARTED and GETUG-AFU15 studies. *Eur Urol.* 2018; 73(6): 847-855. doi: 10.1016/j.eururo.2018.02.001

22. Tucci M, Leone G, Buttigliero C, Zichi C, Di Stefano RF, Pignataro D, et al. Hormonal treatment and quality of life of prostate cancer patients: New evidence. *Minerva Urol Nefrol.* 2018; 70(2): 144-151. doi: 10.23736/S0393-2249.17.03066-1

23. Boevé LMS, Hulshof MCCM, Vis AN, Zwinderman AH, Twisk JWR, Witjes WPJ, et al. Effect on survival of androgen deprivation therapy alone compared to androgen deprivation therapy combined with concurrent radiation therapy to the prostate in patients with primary bone metastatic prostate cancer in a prospective randomised clinical trial: Data from the HORRAD trial. *Eur Urol.* 2019; 75(3): 410-418. doi: 10.1016/j.eururo.2018.09.008

24. Vale CL, Fisher DJ, White IR, Carpenter JR, Burdett S, Clarke NW, et al. What is the optimal systemic treatment of men with metastatic, hormone-naïve prostate cancer? A STOPCAP systematic review and network meta-analysis. *Ann Oncol.* 2018; 29(5): 1249-1257. doi: 10.1093/annonc/mdy071

25. Srivatsav A, Balasubramanian A, Butaney M, Thirumavalavan N, McBride JA, Gondokusumo J, et al. Patient attitudes toward testicular prosthesis placement after orchiectomy. *Am J Mens Health.* 2019; 13(4): 1557988319861019. doi: 10.1177/1557988319861019

26. Anderson E, Pascoe C, Sathianathan N, Katz D, Murphy D, Lawrentschuk N. Subinguinal orchiectomy – A minimally invasive approach to open surgery. *BJUI Compass.* 2020; 1(5): 160-164. doi: 10.1002/bco.2.33

27. Clifford TG, Burg ML, Hu B, Loh-Doyle J, Huguenin CM, Cai J, et al. Satisfaction with testicular prosthesis after radical

orchiectomy. *Urology.* 2018; 114: 128-132. doi: 10.1016/j.urology.2017.12.006

28. Baird DC, Meyers GJ, Hu JS. Testicular cancer: Diagnosis and treatment. *Am Fam Physician.* 2018; 97(4): 261-268.

29. Elenkov A, Giwercman A. Testicular dysfunction among cancer survivors. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2022; 51(1): 173-186. doi: 10.1016/j.ecl.2021.11.014

30. Leone G, Tucci M, Buttigliero C, Zichi C, Pignataro D, Bironzo P, et al. Antiandrogen withdrawal syndrome (AAWS) in the treatment of patients with prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2018; 25(1): R1-R9. doi: 10.1530/ERC-17-0355

31. Scialpi M, Improta A, Carpinì DD, Tonto M, Nicola R, Manciole F. Biparametric magnetic resonance imaging in the surveillance of testicular tumors following radical orchiectomy. *Turk J Urol.* 2020; 46(6): 436-441. doi: 10.5152/tud.2020.20353

32. Hana T, Raveendran L, Grober E, Potter E, Blodgett N, Krakowsky Y. Initial clinical experience with simple orchiectomy procedures in the context of transition-related surgeries. *Int J Transgend Health.* 2020; 21(4): 403-409. doi: 10.1080/26895269.2020.1774030

33. Canner JK, Harfouch O, Kodadek LM, Pelaez D, Coon D, Offodile AC 2nd, et al. Temporal trends in gender-affirming surgery among transgender patients in the United States. *JAMA Surg.* 2018; 153(7): 609-616. doi: 10.1001/jamasurg.2017.6231

34. Orakwe DE, Tijani KH, Jeje EA, Ogunjimi MA, Rufus WO, Alabi TO. Bilateral subcapsular orchiectomy versus bilateral total orchiectomy: Comparison of the quality of life post-orchiectomy. *Niger Postgrad Med J.* 2018; 25(1): 43-47. doi: 10.4103/npmj.npmj_169_17

35. Topuz B, Sarıkaya S, Korkmaz C, Baykal B, Kaya E, Ebiloğlu T, et al. Examination of clinical data and semen analysis results of patients undergoing orchiectomy for testicular tumor. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2021; 67(4): 577-584. doi: 10.1590/1806-9282.20201096

36. Kajitani N, Takahashi J, Honda H, Hamahara J, Ando S. Severe visceral obesity, fatty liver and diabetes after orchiectomy for prostate cancer. *Intern Med.* 2020; 59(18): 2281-2285. doi: 10.2169/internalmedicine.4653-20

37. Baik M, Jeong JY, Park SJ, Yoo SP, Lee JO, Lee JS, et al. Testosterone deficiency caused by castration increases adiposity in male rats in a tissue-specific and diet-dependent manner. *Genes Nutr.* 2020; 15(1): 14. doi: 10.1186/s12263-020-00673-1

38. Robert J, Gomes FE, Porter I, Sumner JP. Orbital apex syndrome secondary to an orbital sarcoma in a dog. *Can Vet J.* 2021; 62(1): 27-31.

39. Armstrong AJ, Szmulewitz RZ, Petrylak DP, Holzbeierlein J, Villers A, Azad A, et al. ARCHES: A randomized, phase III study of androgen deprivation therapy with enzalutamide or placebo in men with metastatic hormone-sensitive prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2019; 37(32): 2974-2986. doi: 10.1200/JCO.19.00799

40. Bansal D, Reimers MA, Knoche EM, Pachynski RK. Immunotherapy and immunotherapy combinations in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Cancers (Basel).* 2021; 13(2): 334. doi: 10.3390/cancers13020334

41. Zaorsky NG, Zhang Y, Tuanquin L, Bluethmann SM, Park HS, Chinchilli VM. Suicide among cancer patients. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 207. doi: 10.1038/s41467-018-08170-1

42. McFarland DC, Walsh L, Napolitano S, Morita J, Jaiswal R. Suicide in Patients with cancer: Identifying the risk factors. *Oncology (Williston Park).* 2019; 33(6): 221-6.

43. Crawford ED, Heidenreich A, Lawrentschuk N, Tombal B, Pompeo ACL, Mendoza-Valdes A, et al. Androgen-targeted therapy in men with prostate cancer: Evolving practice and future considerations. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2019; 22(1): 24-38. doi: 10.1038/s41391-018-0079-0
44. Armstrong AJ, Lin P, Tombal B, Saad F, Higano CS, Joshua AM, et al. Five-year survival prediction and safety outcomes with enzalutamide in men with chemotherapy-naïve metastatic castration-resistant prostate cancer from the PREVAIL trial. *Eur Urol.* 2020; 78(3): 347-357. doi: 10.1016/j.eururo.2020.04.061
45. Fallara G, Gedeborg R, Bill-Axelsson A, Garmo H, Stattin P. A drug comorbidity index to predict mortality in men with castration resistant prostate cancer. *PLoS One.* 2021; 16(7): e0255239. doi: 10.1371/journal.pone.0255239
46. Catalona WJ. Prostate cancer screening. *Med Clin North Am.* 2018; 102(2): 199-214. doi: 10.1016/j.mcna.2017.11.001
47. Teo MY, Rathkopf DE, Kantoff P. Treatment of advanced prostate cancer. *Annu Rev Med.* 2019; 70: 479-499. doi: 10.1146/annurev-med-051517-011947
48. Bandarkar AN, Blask AR. Testicular torsion with preserved flow: Key sonographic features and value-added approach to diagnosis. *Pediatr Radiol.* 2018; 48(5): 735-744. doi: 10.1007/s00247-018-4093-0
49. Sindhu II, Noor N, Mansoor R. Choriocarcinoma syndrome: A rare presentation of testicular germ cell tumour. *J Pak Med Assoc.* 2021; 71(8): 2090-2092. doi: 10.47391/JPMA.234

Сведения об авторах

Зиганшин Айдар Миндиярович – доктор медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом ИДПО, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: zigaidar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5474-1080>

Тагиров Максим Рустамович – студент, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: maxim.tagirov00@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3887-1330>

Бабоян Дохик Оганесовна – студентка, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: dokhik@icloud.com, <https://orcid.org/0009-0001-4153-5402>

Information about the authors

Aidar M. Ziganshin – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology with the course of Continuing Professional Education, Bashkir State Medical University, e-mail: zigaidar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5474-1080>

Maksim R. Tagirov – Student, Bashkir State Medical University, e-mail: maxim.tagirov00@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3887-1330>

Dokhik O. Baboyan – Student, Bashkir State Medical University, e-mail: dokhik@icloud.com, <https://orcid.org/0009-0001-4153-5402>

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

ВИРТУАЛЬНЫЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ НОВЫХ БИОИЗОСТЕРОВ МЕЛАТОНИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЛАУКОМЫ

Бабков Д.А.¹,
Таран А.С.^{1,2},
Шевченко А.А.²,
Науменко Л.В.¹,
Жуковская О.Н.³,
Ефремов А.М.⁴,
Безсонова Е.Н.⁴,
Лозинская Н.А.⁴,
Спасов А.А.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1, Россия)

² ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр» (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1, Россия)

³ Научно-исследовательский институт физической и органической химии, ФГАУ ВО «Южный федеральный университет» (344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки, 194/2, Россия)

⁴ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бабков Денис Александрович,
e-mail: dababkov@volgmed.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Мелатонин является эндогенным регулятором внутриглазного давления (ВГД), но эффективность его применения в качестве лекарственного средства при глаукоме ограничена.

Цель исследования. Разработка и валидация метода виртуального скрининга для выявления биоизостерических аналогов мелатонина, перспективных для изучения в качестве средств, снижающих внутриглазное давление.

Результаты. Была создана база данных, содержащая информацию о структуре и экспериментальном средстве 48 отдельных эталонных соединений. Оценка риска мутагенной, канцерогенной, раздражающей и репродуктивной токсичности была выполнена в DataWarrior на основе подструктурного анализа и идентификации фрагментов, которые являются маркерами соответствующей токсичности. Был проведён виртуальный скрининг 2457 структур и 25 соединений из числа отобранных были экспериментально изучены на предмет их влияния на ВГД у интактных крыс. Было обнаружено, что 10 из 25 приоритизированных соединений способны значимо снижать ВГД; соединение RU-398 снижало уровень ВГД на 40 %, K-165 – на 40,9 %, а RU-615 снижало глаукому на 33,3 %.

Заключение. Результативность виртуального скрининга после экспериментальной валидации составила 40 %. Выявленные активные соединения являются перспективными для дальнейшего изучения и разработки в качестве средств для лечения глаукомы.

Ключевые слова: изостер, мелатонин, глаукома, внутриглазное давление, виртуальный скрининг

Для цитирования: Бабков Д.А., Таран А.С., Шевченко А.А., Науменко Л.В., Жуковская О.Н., Ефремов А.М., Безсонова Е.Н., Лозинская Н.А., Спасов А.А. Виртуальный и экспериментальный скрининг новых биоизостеров мелатонина для лечения глаукомы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1):116-128. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.12

Статья поступила: 12.05.2023

Статья принята: 15.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

VIRTUAL AND EXPERIMENTAL SCREENING OF NEW MELATONIN BIOISOSTERES FOR THE TREATMENT OF GLAUCOMA

Babkov D.A.¹,
Taran A.S.^{1,2},
Shevchenko A.A.²,
Naumenko L.V.¹,
Zhukovskaya O.N.³,
Efremov A.M.⁴,
Bezsonova E.N.⁴,
Lozinskaya N.A.⁴,
Spasov A.A.^{1,2}

¹ Volgograd State Medical University
(Pavshikh Bortsov square 1,
Volgograd 400131, Russian Federation)

² Volgograd Medical Scientific
Center (Pavshikh Bortsov square 1,
Volgograd 400131, Russian Federation)

³ Research Scientific Institute
of Physical and Organic Chemistry,
Southern Federal University
(Stachki Ave. 194/2, Rostov-on-Don 344090,
Russian Federation)

⁴ Lomonosov Moscow State University
(Leninskie Gory 1, Moscow 119991,
Russian Federation)

Corresponding author:

Denis A. Babkov,

e-mail: dababkov@volgmed.ru

ABSTRACT

Background. Melatonin is an endogenous regulator of intraocular pressure (IOP), but its effectiveness as a drug for glaucoma treatment is limited.

The aim of the study. To develop and to validate a virtual screening method to identify bioisosteric analogs of melatonin that are promising for study as agents that reduce intraocular pressure.

Results. A database containing structural and experimental affinity information for 48 individual reference compounds was created. Risk assessments for mutagenic, carcinogenic, irritant and reproductive toxicity were performed in DataWarrior based on substructural analysis and identification of fragments that are markers of relevant toxicity. A virtual screening of 2457 structures was carried out and 25 compounds from the selected ones were experimentally studied for their effect on intraocular pressure (IOP) in intact rats. 10 of the 25 prioritized compounds were found to significantly reduce IOP; compound RU-398 reduced IOP by 40 %, K-165 – by 40.9 %, and RU-615 reduced glaucoma by 33.3 %.

Conclusion. The effectiveness of virtual screening after experimental validation was 40 %. The identified active compounds are promising for further study and development as the agents for the treatment of glaucoma.

Key words: isostere, melatonin, glaucoma, intraocular pressure, virtual screening

For citation: Babkov D.A., Taran A.S., Shevchenko A.A., Naumenko L.V., Zhukovskaya O.N., Efremov A.M., Bezsonova E.N., Lozinskaya N.A., Spasov A.A. Virtual and experimental screening of new melatonin bioisosteres for the treatment of glaucoma. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 116–128. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.12

Received: 12.05.2023

Accepted: 15.01.2024

Published: 26.03.2024

ВВЕДЕНИЕ

Глаукома – это мультифакториальная хроническая прогрессирующая оптическая нейропатия, характеризующаяся повреждением зрительного нерва и слоя нервных волокон сетчатки, что может привести к необратимой потере периферического или центрального зрения [1]. В настоящее время глаукома является собирательным термином для группы нейродегенеративных процессов, поражающих весь зрительный путь, характеризующихся прогрессирующим, необратимым разрушением и гибелью ганглиозных клеток сетчатки [2].

Одним из перспективных классов для поиска антиглаукомных препаратов являются аналоги мелатонина. Мелатонин является гормоном, ответственным за регуляцию циркадных и сезонных ритмов. Эта молекула была впервые обнаружена и описана в шишковидной железе, но в настоящее время известно, что она синтезируется во многих тканях организма, включая глаз и глазные структуры, в частности в сетчатке, радужной оболочке, цилиарном теле, хрусталике и слёзной железе, где она регулирует важные процессы. Его действие на внутриглазное давление (ВГД) опосредуется через MT_1 , MT_2 и предполагаемый рецептор мелатонина MT_3 , расположенный в цилиарном теле, что приводит к уменьшению оттока хлоридов из непигментированных эпителиальных клеток за счёт увеличения циклического аденозинмонофосфата. Снижение этого от-

тока вызывает уменьшение выработки водянистой влаги и, наконец, снижение ВГД [3].

Поиск новых аналогов мелатонина, отличающихся большей метаболической стабильностью и длительностью действия, является активным направлением исследований. Описаны соединения разнообразной структуры, обладающие аффинностью к рецепторам мелатонина [4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка и валидация метода виртуального скрининга для выявления биоизостерических аналогов мелатонина, перспективных для изучения в качестве средств, снижающих внутриглазное давление.

МЕТОДЫ

Соблюдение этических стандартов

Экспериментальную работу проводили в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009, ГОСТ Р ИСО 5725-2002 и правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации в соответствии с ГОСТ Р 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 1.04.2016 «Об утверждении правил

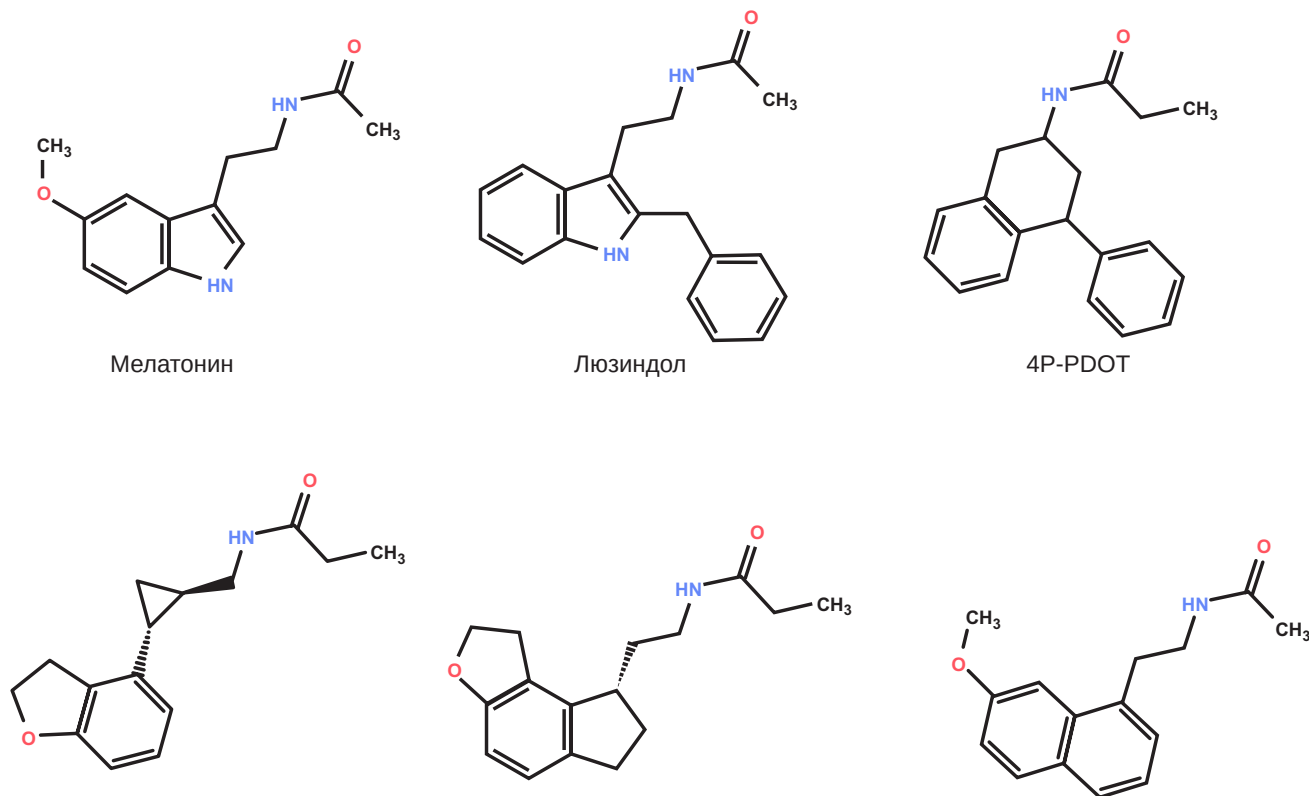


РИС. 1.
Мелатонин и некоторые его биоизостеры

FIG. 1.
Melatonin and some of its bioisosteres

надлежащей лабораторной практики», с соблюдением директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Подготовка данных

При подготовке базы данных по структуре доступных для исследования соединений выполнены удаление дубликатов, солевых остатков и стандартизация структур. Создана база данных, содержащая 2457 исследуемых соединений.

Эталонные структуры

В качестве источника валидированных лигандов, обладающих аффинностью к мелатониновым рецепторам 1-го и 2-го типа человека (MT₁ и MT₂), были использованы сведения из фармакологической базы IUPHAR [5].

Расчёт молекулярных свойств

Для каждого соединения выполнен расчёт характеристик, относящихся к лекарственному подобию, включая молекулярный вес M , показатель липофильности $cLogP$, количество доноров и акцепторов водородных связей N_{donors} и $N_{acceptors}$, количество атомов галогенов $N_{halogens}$, количество тяжёлых атомов N_{heavy} , площадь полярной поверхности PSA (polar surface area). Все описанные расчёты выполнены с помощью программы OSIRIS DartaWarrior (Idorsia Inc., Швейцария) [6].

Оценка подструктурных маркеров специфической токсичности

Оценка риска проявления мутагенных, канцерогенных, раздражающих свойств и репродуктивной токсичности выполнена в DataWarrior на основе подструктурного анализа и выявления фрагментов, известных как маркеры соответствующих видов токсичности.

Интегральный показатель лекарственной пригодности DrugScore

DrugScore является интегральным показателем, включающим подструктурное лекарственное подобие, липофильность, растворимость, молекулярный вес и риск проявления специфической токсичности (канцерогенности, мутагенности, местнораздражающего действия и репродуктивной токсичности). Расчёт произведён согласно [6].

Расчёт проницаемости роговицы для соединений

Расчёт показателя проницаемости роговицы глаза для соединений *LogPapp* выполнен в соответствии с двумя ранее опубликованными QSAR-моделями [7, 8] по уравнениям:

$$LogPapp_1 = -4,002 - 0,169 \times (N_{acceptors} + N_{donors}) + 0,265 \times LogP;$$

$$LogPapp_2 = 4,6823 - 0,767 \times (Log(PSA)) - 0,1346 \times N_{donors} + 3,0024 \times \frac{N_{halogens}}{N_{heavy}};$$

$$LogPapp = (LogPapp_1 + LogPapp_2)/2.$$

Расчёт молекулярного подобия

В качестве описания молекул при расчёте молекулярного подобия использовался 3D-фармакофорный дескриптор DataWarrior *Flexophore*. Вычисление дескриптора *Flexophore* начинается с создания репрезентативного набора до 250 конформеров с использованием алгоритма, основанного на самоорганизации, для построения небольших жёстких фрагментов молекулы, которые затем соединяются с учётом вероятных торсионных углов. Затем обнаруживаются и классифицируются атомы молекулы, которые потенциально могут каким-либо образом взаимодействовать с атомами белка. Для описания атомов как точки взаимодействия используется расширенное типирование атомов MM2. Количественной метрикой сходства между исследуемыми соединениями и соединениями-эталонами служил коэффициент Танимото. Для каждого соединения учитывался максимальный выявленный коэффициент молекулярного сходства по фармакофорному дескриптору *Max(Flexophore)*.

Расчёт общего показателя перспективности

Интегральная оценка перспективности соединения F рассчитывалась исходя из показателя *DrugScore*, расчётной проницаемости роговицы *LogPapp* и максимального фармакофорного сходства к эталонам *Max(Flexophore)*, конвертированных в диапазоне от 0 до 1 с точкой перегиба сигмовидной кривой при заданном граничном значении параметра и наклоне кривой и весе параметра в соответствии с таблицей и формулой (см. табл. 2):

$$p = 1/[1 + e^{(a \times p + b)}].$$

Измерение внутриглазного давления

Изучение влияния на внутриглазное давление проводили на беспородных интактных крысах обоих полов массой 220–400 г, в возрасте 2 месяца (питомник «Рапполово», Ленинградская область). Все животные были разделены на опытные группы и группы препаратов сравнения по 6 животных в каждой. В 9:00 утра у животных всех групп измеряли исходное ВГД в обоих глазах. Для определения ВГД использовали ветеринарный тонометр ICARE TonoVet (Финляндия) для ранней диагностики глаукомы в ветеринарии [9, 10]. После измерения животным опытных групп проводили инстилляцию 0,4%-х водных растворов изучаемых соединений в объёме 50 мкл в правый глаз (тестовый). Животным групп препарата сравнения в тестовый глаз инстиллировали мелатонин (Sigma, США; фармацевтический стандарт). Левый глаз (контрольный, коллатеральный) служил для определения возможного резорбтивного эффекта. Последующие измерения ВГД в тестовом и коллатеральном глазах проводили через 60, 120, 180 мин.

Анализ данных

Хемоинформатические расчёты выполнены в программе DataWarrior (Idorsia Inc., Швейцария). Обработка расчётных данных выполнена в RStudio 2022.07.1.

Статистическую обработку экспериментальных данных производили с помощью программного обеспечения MS Office (Microsoft Corp., США) и Prism 7.0 (GraphPad Software, США) с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Соединения-эталонные

В результате поиска и обработки информации фармакологической базы IUPHAR [5] создана база данных, содержащая информацию о структуре и экспериментальной аффинности 48 индивидуальных эталонных соединений-изостеров мелатонина. Данные структуры были подвергнуты фармакоформному анализу и использовались как эталоны при оценке исследуемых молекул, как это описано ниже.

Алгоритм поиска

Общая схема оценки перспективности соединений изображена на рисунке 2. Всего анализируемая база данных содержала 2457 индивидуальных соединений (рис. 3). Расчётные величины физико-химических характеристик использовались для оценки лекарственного подобия и биодоступности при местном применении в виде глазных капель (рис. 4, 5). Подструктурный анализ использовался для выявления маркеров специфической токсичности (табл. 1). Соединения ранжировались по вероятности наличия мутагенных, канцерогенных, местно-раздражающих свойств и репродуктивной токсичности

на три уровня: нет риска, низкий риск и высокий риск, – что учитывалось при расчёте интегрального показателя лекарственной перспективности *DrugScore* наряду с характеристиками лекарственного подобия.

Молекулярные фармакоформные дескрипторы служили описаниями молекул при оценке сходства с эталонными агонистами мелатониновых рецепторов, учитывались максимальные значения (рис. 3, 5). Были отсеяны соединения, которые, согласно хотя бы одному дескриптору, обладали сходством с референсными антагонистами или обратными агонистами MT_1 и MT_2 рецепторов (рис. 6).

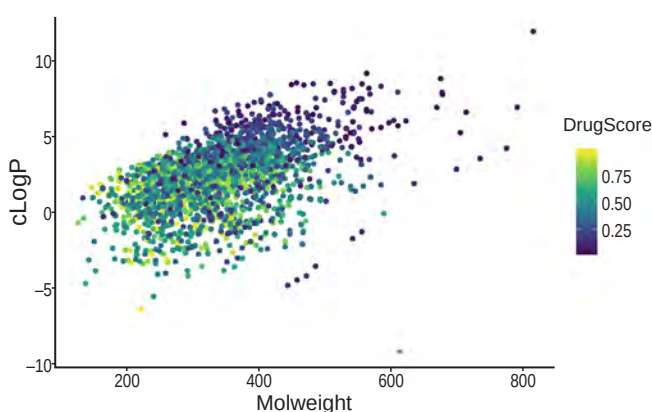


РИС. 3.

Библиотека анализируемых соединений

FIG. 3.

Library of studied compounds

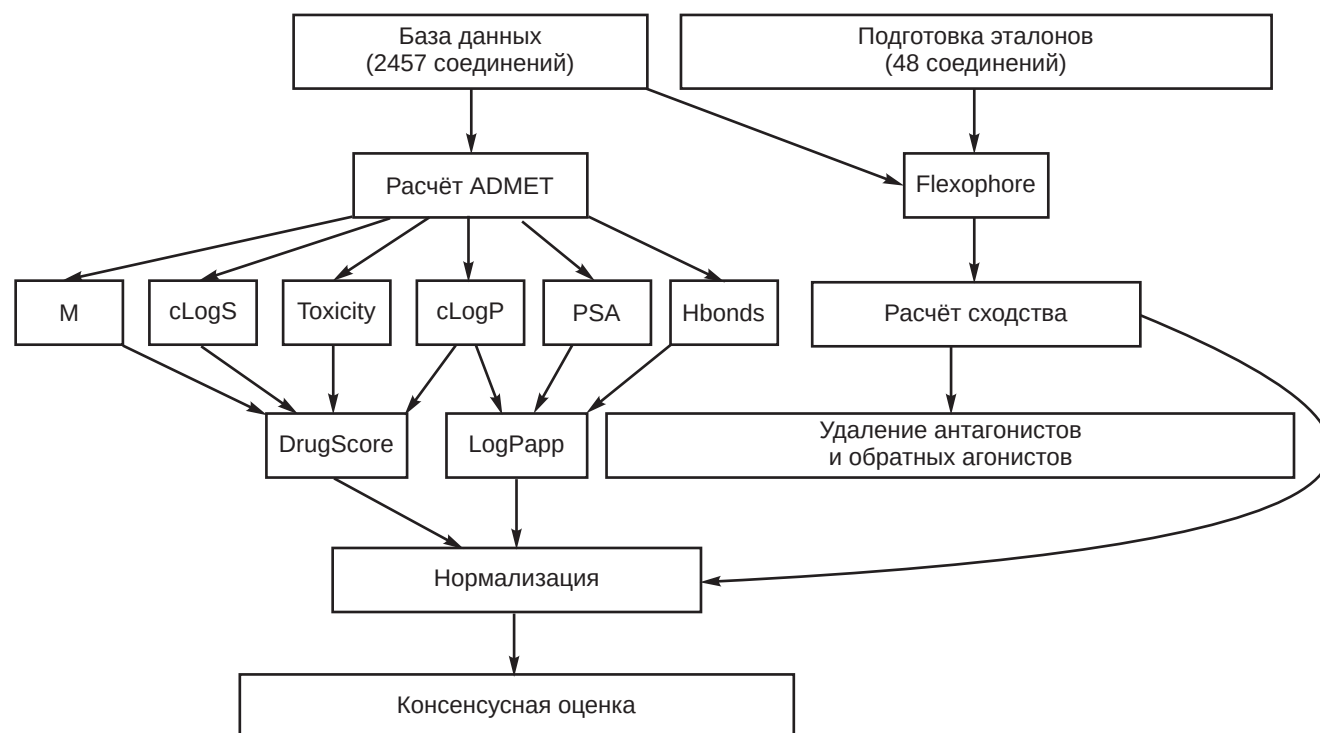


РИС. 2.

Алгоритм оценки соединений

FIG. 2.

Algorithm for compound assessment

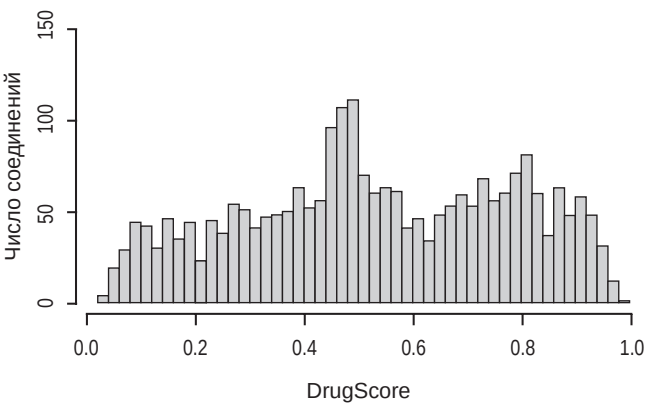


РИС. 4.
Распределение соединений по лекарственному подобию
FIG. 4.
Distribution of compounds by drug likeness

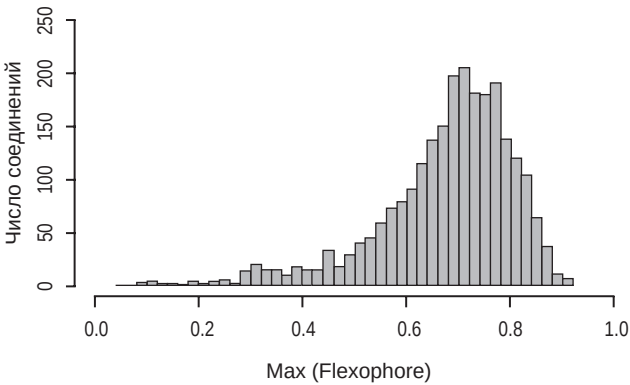


РИС. 6.
Распределение соединений по фармакофорной схожести к эталонам
FIG. 6.
Distribution of compounds by pharmacophore similarity to the reference compounds

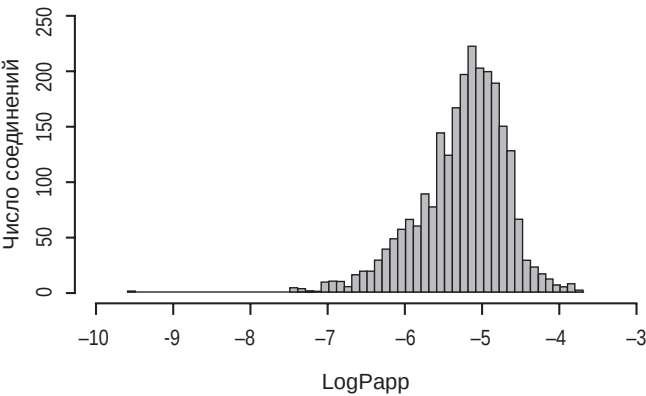


РИС. 5.
Распределение соединений по расчётной проницаемости роговицы
FIG. 5.
Distribution of compounds according to the calculated permeability of the cornea

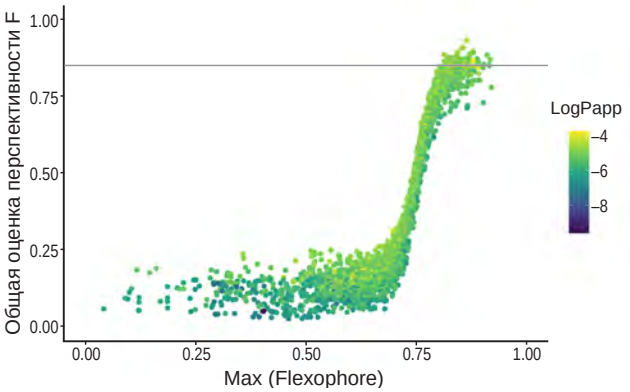


РИС. 7.
Вклад фармакофорного сходства к эталонам Max(Flexophore) и расчётной проницаемости роговицы LogPapp в общую оценку перспективности F
FIG. 7.
Contribution of pharmacophore similarity to the reference compounds Max(Flexophore) and calculated corneal permeability LogPapp to the overall score F

ТАБЛИЦА 1
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВИДОВ
ТОКСИЧНОСТИ ИССЛЕДУЕМЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Вид токсичности	Количество соединений (n)		
	высокий риск	низкий риск	риск отсутствует
Мутагенность	204	60	2193
Канцерогенность	249	84	2124
Репродуктивная	135	131	2191
Местнораздражающее действие	333	63	2061

ТАБЛИЦА 2
ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ РЕШАЮЩЕГО ПРАВИЛА

Показатель, <i>p</i>	Условие, <i>a</i>	Наклон кривой, <i>b</i>	Вес, <i>k</i>
DrugScore	> 0,5	0,1	0,25
LogPapp	≥ 5	0,35	0,25
Max(Flexophore)	> 0,75	1,0	1,0

TABLE 1
PREDICTED RISKS OF SPECIFIC TYPES OF TOXICITY
FOR THE STUDIED COMPOUNDS

Type of toxicity	Number of compounds (n)		
	high risk	low risk	risk is absent
Mutagenicity	204	60	2193
Carcinogenicity	249	84	2124
Reproductive	135	131	2191
Local irritant effect	333	63	2061

TABLE 2
VALUES OF PARAMETERS USED FOR SCORING

Indicator, <i>p</i>	Condition, <i>a</i>	Slope of curve, <i>b</i>	Weight, <i>k</i>
DrugScore	> 0,5	0,1	0,25
LogPapp	≥ 5	0,35	0,25
Max(Flexophore)	> 0,75	1,0	1,0

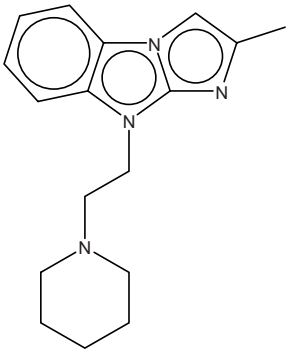
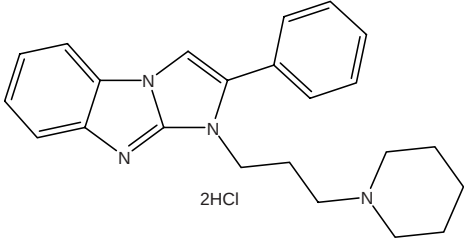
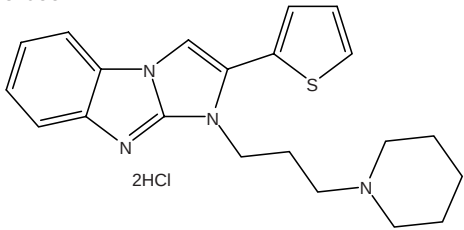
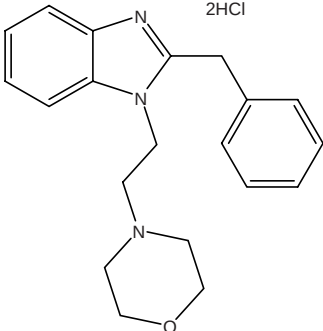
Общая оценка перспективности *F* складывалась из оценки максимального фармакофорного сходства к эталону (вес фактора 1,0) с учётом показателя лекарственной пригодности *DrugScore* (вес фактора 0,25) и расчётной проницаемости роговицы *LogPapp* (вес фактора 0,25) для учёта местного применения в виде глазных капель (табл. 2). Показатель *F* может принимать значения от 0 (минимальная перспективность) до 1 (максимальная перспективность).

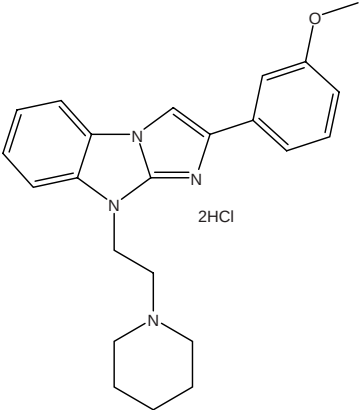
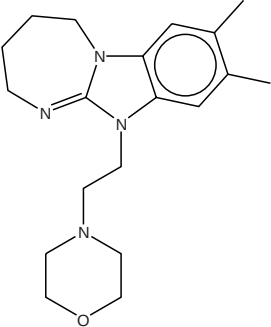
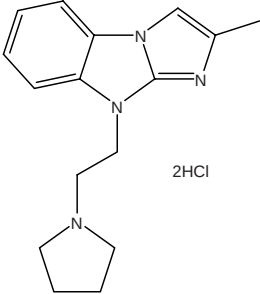
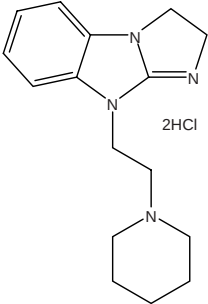
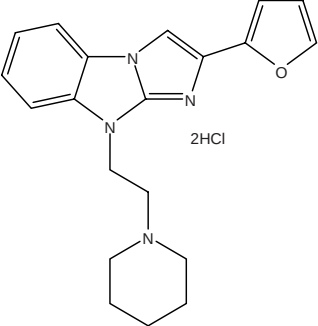
Визуализация вклада фармакофорного сходства к аналогам мелатонина и расчётной проницаемости роговицы *LogPapp* в общую оценку перспективно-

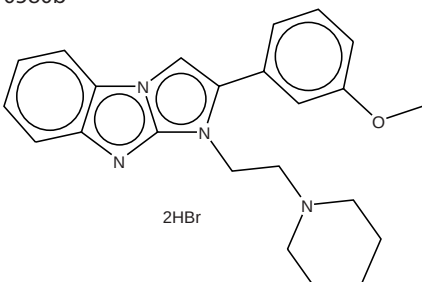
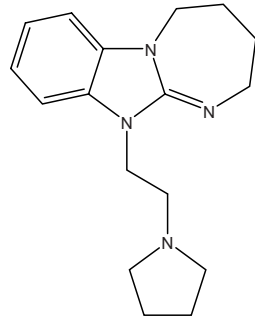
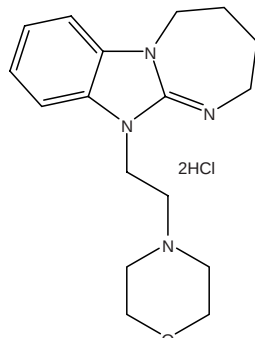
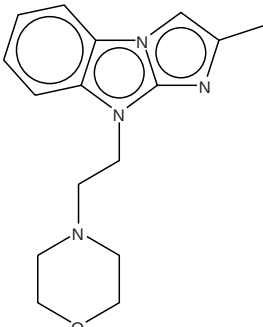
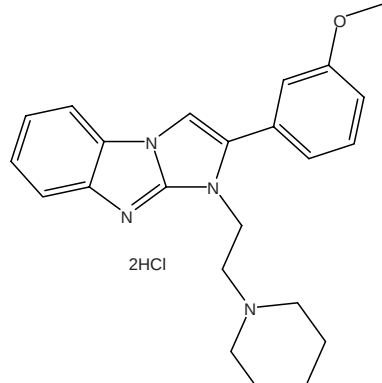
сти *F* изображена на рисунке 7. Ранжированные, согласно комплексной оценке перспективности, соединения с *F* > 0,85 приведены в таблице 3. Их отличает комплекс благоприятных прогнозных характеристик: не ожидается проявления специфических видов токсичности (мутагенных, канцерогенных, местнораздражающих свойств и репродуктивной токсичности); расчётная проницаемость роговицы *LogPapp* превышает –5,43; фармакофорная схожесть к соединениям-эталонам составляет от 0,81 до 0,91, согласно коэффициенту Танимото.

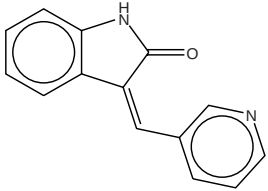
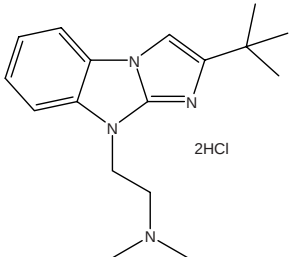
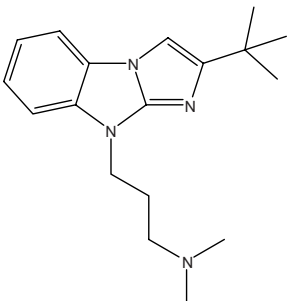
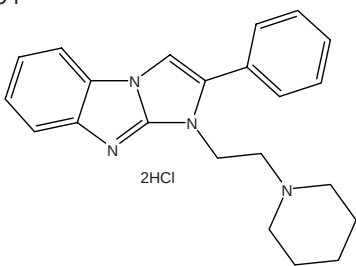
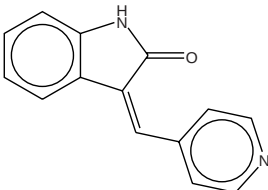
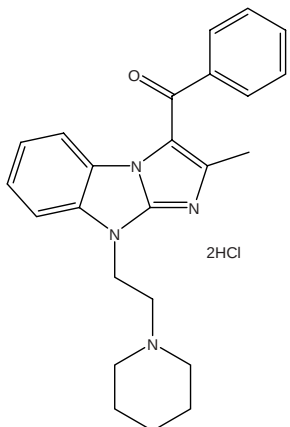
ТАБЛИЦА 3
СОЕДИНЕНИЯ С МАКСИМАЛЬНОЙ ОЦЕНКОЙ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ И ИХ ВГД-СНИЖАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ

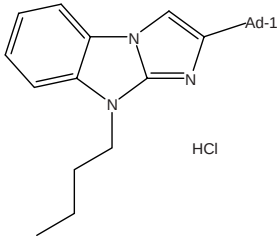
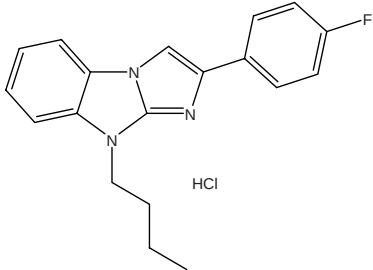
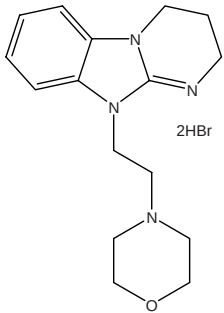
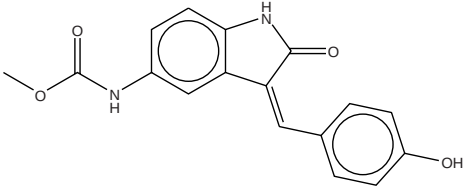
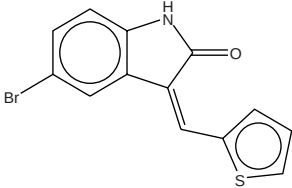
TABLE 3
COMPOUNDS WITH MAXIMUM CONSENSUS SCORES AND THEIR IOP-REDUCING ACTIVITY

№	Шифр и структура	<i>DrugScore</i> ¹	Консенсусная оценка <i>F</i>	Изменение ВГД, % от исходного
1	RU-1331 	0,889	0,895	–20,3 ± 3,54*
2	RU-0721 	0,724	0,890	–8,9 ± 9,62
3	RU-0882 	0,732	0,877	–17,2 ± 14,29
4	RU-0536 	0,860	0,874	–8,3 ± 7,54

№	Шифр и структура	DrugScore ¹	Консенсусная оценка F	Изменение ВГД, % от исходного
5	RU-0615 	0,751	0,874	-33,3 ± 4,40*
6	DAB-0034 	0,799	0,873	-24,5 ± 4,44*
7	RU-0026 	0,743	0,872	-11,9 ± 7,83
8	RU-0255 	0,865	0,872	-12,4 ± 8,60
9	RU-0155 	0,823	0,871	-2,5 ± 2,12

№	Шифр и структура	DrugScore ¹	Консенсусная оценка F	Изменение ВГД, % от исходного
10	RU-0580b  <chem>COc1cccc(c1)C2=C3C=CC=C3N2CCN4CCCCC4</chem> 2HBr	0,751	0,871	-10,1 ± 1,70
11	DAB-0021  <chem>C1=CN2C(=C1)C3=CC=CC=C3N2CCN4CCCC4</chem>	0,677	0,870	-17,3 ± 2,40*
12	DAB-0023  <chem>C1=CN2C(=C1)C3=CC=CC=C3N2CCN4CCOCC4</chem> 2HCl	0,861	0,870	-20,5 ± 1,43*
13	RU-1332  <chem>CC1=CN2C(=C1)C3=CC=CC=C3N2CCN4CCOCC4</chem>	0,930	0,870	-24,3 ± 4,60*
14	RU-0580  <chem>COc1ccc(cc1)C2=C3C=CC=C3N2CCN4CCCCC4</chem> 2HCl	0,751	0,869	-16,7 ± 8,33

№	Шифр и структура	DrugScore ¹	Консенсусная оценка F	Изменение ВГД, % от исходного
15	OIP-H-0003 	0,903	0,866	-5,6
16	RU-0470 	0,804	0,865	-10,26 ± 10,26
17	RU-0398 	0,819	0,864	-40,0 ± 4,15*
18	RU-0354 	0,771	0,863	-27,0 ± 5,18*
19	OIP-H-0004 	0,903	0,862	-26,11 ± 3,15*
20	RU-0514 	0,722	0,862	-2,5 ± 6,75

№	Шифр и структура	DrugScore ¹	Консенсусная оценка F	Изменение ВГД, % от исходного
21	RU-0012 	0,576	0,861	-6,1 ± 3,09
22	RU-1256 	0,541	0,858	-15,71 ± 17,93
23	RU-0837 	0,909	0,856	-5,8 ± 3,02
24	K-00165 	0,298	0,856	-40,9 ± 3,52*
25	OIP-Br-S-1 	0,734	0,851	-13,8 ± 9,09

Примечание. ¹ – интегральный показатель, учитывающий лекарственное подобие, растворимость, риск проявления мутагенных, канцерогенных, раздражающих свойств и репродуктивной токсичности; * – $p < 0,05$ относительно исходного ВГД (t-тест; $n = 6$).

Валидация в эксперименте *in vivo*

После проведения виртуального скрининга 2457 структур 25 отобранных соединений с максимальной оценкой перспективности *F* были экспериментально изучены для определения влияния на внутриглазное давление интактных крыс. Выявлено 10 соединений, статистически значимо снижающих ВГД интактных крыс. При этом выявлено, что новые биоизостеры мелатонина – соединения РУ-398 и К-165 – по своей способности снижать ВГД превосходили сам мелатонин, а соединение РУ-615 не уступало по своей активности мелатонину. Так, вещество РУ-398 снижало уровень ВГД на 40 %,

К-165 – на 40,9 %, а РУ-615 и мелатонин – на 33,3 %. Соединения РУ-398 и РУ-615 также приводили к снижению ВГД в контрольном глазу, что может свидетельствовать о возможном системном действии соединений, чего не выявлено у вещества К-165.

ОБСУЖДЕНИЕ

Мультипараметрическая оптимизация является одной из центральных и наиболее сложных проблем в разработке новых лекарственных средств. Чтобы иметь шан-

сы дойти до стадии клинических испытаний, молекула должна обладать целым рядом оптимальных характеристик, определяемых её структурой – не только аффинностью к биологической мишени, но и селективностью действия, достаточной растворимостью, способностью проникать через тканевые барьеры, метаболической стабильностью, низкой токсичностью. Предложенный нами подход отличается простотой, доступностью, гибкостью. С использованием методов хемоинформатики приоритизируются соединения с низкой расчётной токсичностью, высоким лекарственным подобием и проникаемостью через роговицу глаза и, в первую очередь, фармакофорно близкие к известным модуляторам, агонистам мелатониновых рецепторов, с последующей валидацией путём экспериментального скрининга.

К ограничениям настоящего исследования следует отнести ограниченность выборки библиотеки исходных структур для исследования. Кроме того, экспериментальная валидация проводилась путём фенотипического скрининга по способности снижать внутриглазное давление. Отсутствие проверки влияния на сами рецепторы мелатонина не исключает возможности иных механизмов действия активных соединений, отличных от механизма действия самого мелатонина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен гибкий вычислительный подход приоритизации соединений, обладающих высоким лекарственным подобием, низкой расчётной токсичностью и схожестью к мишень-ориентированной библиотеке референсных соединений. Эффективность предложенной системы поиска подтверждена выявлением новых химических классов и скаффолдов биоизостеров мелатонина, перспективных для дальнейшего изучения в качестве антиглаукомных средств.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках регионально-го проекта Российского научного фонда от 25.03.2022 № 22-15-20025 «Синтез и исследование эффективности биоизостеров мелатонина».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Бабков Денис Александрович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории метаболитных лекарственных средств Научного центра инновационных лекарственных средств, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: dababkov@volgmed.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9645-3324>

Таран Алёна Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии Научного центра инновационных лекарственных средств, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии, ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», e-mail: alena-beretta-taran@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8477-254X>

Шевченко Алина Андреевна – аспирант кафедры фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: alina.shewchenko2014@yandex.ru

Науменко Людмила Владимировна – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: milanaumenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2119-4233>

Благодарности

Благодарим сотрудников лаборатории органического синтеза Научно-исследовательского института физической и органической химии Кузьменко Т.А. и Диваеву Л.Н. за предоставление соединений серии DAB.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Stein JD, Khawaja AP, Weizer JS. Glaucoma in adults – screening, diagnosis, and management: A review. *JAMA*. 2021; 325(2): 164. doi: 10.1001/jama.2020.21899
2. Rieck J. The pathogenesis of glaucoma in the interplay with the immune system. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(3): 2393. doi: 10.1167/iovs.12-9781
3. Martínez-Águila A, Martín-Gil A, Carpena-Torres C, Patrana C, Carracedo G. Influence of circadian rhythm in the eye: Significance of melatonin in glaucoma. *Biomolecules*. 2021; 11(3): 340. doi: 10.3390/biom11030340
4. Boutin JA, Witt-Enderby PA, Sotriffer C, Zlotos DP. Melatonin receptor ligands: A pharmaco-chemical perspective. *J Pineal Res*. 2020; 69(3): e12672. doi: 10.1111/jpi.12672
5. Cardinali DP, Delagrange P, Dubocovich ML, Jockers R, Krause DN, Markus RP, et al. Melatonin receptors (version 2019.3) in the IUPHAR/BPS guide to pharmacology database. *IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE*. 2019; 2019(3). doi: 10.2218/gtopdb/F39/2021.3
6. López-López E, Naveja JJ, Medina-Franco JL. DataWarrior: An evaluation of the open-source drug discovery tool. *Exp Opin Drug Discov*. 2019; 14(4): 335-341. doi: 10.1080/17460441.2019.1581170
7. Ekinci D, Karagoz L, Ekinci D, Senturk M, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors: *In vitro* inhibition of α isoforms (hCA I, hCA II, bCA III, hCA IV) by flavonoids. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2013; 28(2): 283-288. doi: 10.3109/14756366.2011.643303
8. Thombre AG, Himmelstein KJ. Quantitative evaluation of topically applied pilocarpine in the precorneal area. *J Pharmacol Sci*. 1984; 73(2): 219-222. doi: 10.1002/jps.2600730219
9. Spasov A, Ozerov A, Vassiliev P, Kosolapov V, Gurova N, Kucheryavenko A, et al. Synthesis and multifaceted pharmacological activity of novel quinazoline NHE-1 inhibitors. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 24380. doi: 10.1038/s41598-021-03722-w
10. Marcus AJ, Iezhitsa I, Agarwal R, Vassiliev P, Spasov A, Zhukovskaya O, et al. Data on the effects of imidazo[1,2-a]benzimidazole and pyrimido[1,2-a]benzimidazole compounds on intraocular pressure of ocular normotensive rats. *Data Brief*. 2018; 18: 523-554. doi: 10.1016/j.dib.2018.03.01

Жуковская Ольга Николаевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории органического синтеза, Научно-исследовательский институт физической и органической химии, ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», e-mail: zhukowskaia.ol@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9928-694X>

Ефремов Александр Михайлович – аспирант кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: sash-ka.e@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1777-7081>

Безсонова Елена Николаевна – аспирант кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: elena.bezsonova@chemistry.msu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9804-5447>

Лозинская Наталья Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: natalylozinskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2518-3694>

Спасов Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий отделом фармакологии, заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии, ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», e-mail: aspasov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7185-4826>

Information about the authors

Denis A. Babkov – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Metabotropic Agents of the Scientific Centre for Innovative Drugs, Volgograd State Medical University, e-mail: dababkov@volgmed.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9645-3324>

Alena S. Taran – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Toxicology of the Scientific Centre for Innovative Drugs, Volgograd State Medical University; Junior Research Officer at the Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Medical Scientific Center, e-mail: alena-beretta-taran@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8477-254X>

Alina A. Shevchenko – Postgraduate at the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, e-mail: alina.shew4enko2014@yandex.ru

Lyudmila V. Naumenko – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, e-mail: milanaumenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2119-4233>

Olga N. Zhukovskaya – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Organic Synthesis, Research Scientific Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University, e-mail: zhukowskaia.ol@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9928-694X>

Alexander M. Efremov – Postgraduate at the Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, e-mail: sash-ka.e@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1777-7081>

Elena N. Bezsonova – Postgraduate at the Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, e-mail: elena.bezsonova@chemistry.msu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9804-5447>

Natalia A. Lozinskaya – Cand. Sc. (Chem.), Associate Professor at the Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, e-mail: natalylozinskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2518-3694>

Alexander A. Spasov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University; Head of the Department of Pharmacology, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Medical Scientific Center, e-mail: aspasov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7185-4826>

ИЗМЕНЕНИЕ НАРУШЕНИЙ АККОМОДАЦИИ У ДЕТЕЙ С АНИЗОМЕТРОПИЧЕСКОЙ АМБЛИОПИЕЙ И ГИПЕРМЕТРОПИЕЙ

Куликова И.Л.^{1, 2},
Александрова К.А.¹

¹ Чебоксарский филиал
ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия
глаза» имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (428028, г. Чебоксары,
просп. Тракторостроителей, 10, Россия)

² ГАУ ЧР ДПО «Институт
усовершенствования врачей»
Минздрава Чувашской Республики
(428028, г. Чебоксары,
ул. Михаила Сеспеля, 27, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Александрова Ксения Андреевна,
e-mail: a-ksusha93@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Нарушение аккомодации у детей с гиперметропией является одним из главных факторов нарушения процесса эметропизации и поддержания расфокусировки изображения. Наиболее тяжёлые изменения аккомодации наблюдаются у детей с анизометропией и гиперметропией.

Цель работы. Оценить изменения аккомодационной функции глаза у детей с гиперметропией, амблиопией, которым была выполнена рефракционная лазерная операция (РЛО), а также у детей с очковой и контактной коррекцией в сочетании с плеоптическим лечением.

Материал и методы. В 1-ю группу вошли 30 детей после РЛО, во 2-ю группу – 29 детей с очковой коррекцией, в 3-ю группу – 26 детей с контактной коррекцией; все дети получали плеоптическое лечение. Клиническое исследование включало анализ объективных запасов относительной аккомодации (ЗОА) и объективного аккомодационного ответа (ОАО) на авторефрактометре открытого поля, результатов аккомодограммы на аккомодографе.

Результаты. Через 1,5 года отмечались статистически значимые изменения коэффициента аккомодационного ответа (КАО) амблиопичного глаза между 1-й и 2-й группами, где он составил $0,12 \pm 0,02$ и $0,00 \pm 0,1$ усл. ед. соответственно ($p = 0,01$). Аналогичные статистически значимые изменения были получены среди ОАО и объективных ЗОА амблиопичного глаза. В конце наблюдения ОАО 1-й группы составил $-2,1 \pm 0,67$ дптр, объективные ЗОА – $-2,1 \pm 0,67$ дптр, во 2-й группе ОАО составил $-1,38 \pm 0,19$ дптр ($p = 0,01$), объективные ЗОА – $-1,38 \pm 0,19$ дптр ($p = 0,01$). Статистически значимых изменений данных показателей амблиопичного глаза между 1-й и 3-й группами зарегистрировано не было.

Заключение. Рефракционная лазерная и контактная коррекция обеспечивают снижение аккомодационных нарушений у детей с анизометропией, амблиопией и гиперметропией. После РЛО отмечена тенденция к более близким к норме показателям КАО, ОАО и объективных ЗОА за счёт снижения рефракционных показателей амблиопичного глаза.

Ключевые слова: аккомодация, амблиопия, гиперметропия, анизометропия, рефракционная лазерная хирургия

Статья поступила: 27.09.2022

Статья принята: 10.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Куликова И.Л., Александрова К.А. Изменение нарушений аккомодации у детей с анизометропической амблиопией и гиперметропией. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 129-135. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.13

CHANGES IN ACCOMMODATION DISORDERS IN CHILDREN WITH ANISOMETROPIC AMBLYOPIA AND HYPERMETROPIA

Kulikova I.L.^{1,2},
Aleksandrova K.A.¹

¹ Cheboksary Branch of the S. Fyodorov
Eye Microsurgery Federal State Institution
(Traktorstroiteley ave. 10, Cheboksary
428028, Russian Federation)

² Postgraduate Doctors' Training
Institute (Mikhaila Sespelya str. 27,
Cheboksary 428018, Russian Federation)

Corresponding author:
Ksenia A. Aleksandrova,
e-mail: a-ksusha93@mail.ru

ABSTRACT

Background. Accommodation disorders in children with hypermetropia is one of the main factors in emmetropization disorders and maintenance of image defocusing. The most severe changes in accommodation are observed in children with anisometropia and hyperopia.

The aim of the work. To evaluate the changes in the accommodative function of the eye in children with hyperopia, amblyopia, who underwent refractive laser surgery (RLS), as well as in children with spectacle and contact lens correction in combination with pleoptic treatment.

Methods and materials. Group 1 consisted of 30 children after RLS; group 2 consisted of 29 children who had spectacle correction; group 3 consisted of 26 children who had soft contact lens correction; all children received pleoptic treatment. Clinical examination included the analysis of objective reserves of relative accommodation (RRA) and objective accommodative response (OAR) with an open field autorefractometer, and the results of accommodation measurement.

Results. In 1.5 years, statistically significant changes were observed in the coefficient of accommodation response (CAR) of the amblyopic eye between the groups 1 and 2 – 0.12 ± 0.02 and 0.00 ± 0.1 relative units, respectively ($p = 0.01$). Similar statistically significant changes were obtained in OAR and objective RRA of the amblyopic eye. OAR in the group 1 was -2.1 ± 0.67 dpt, in the group 2 – -1.38 ± 0.19 dpt ($p = 0.01$). At the end of the observation, the OAR in the group 1 was -2.1 ± 0.67 dpt, the objective RRA – -2.1 ± 0.67 dpt; in the group 2 the OAR was -1.38 ± 0.19 dpt ($p = 0.01$), the objective RRA – -1.38 ± 0.19 dpt ($p = 0.01$). There were no statistically significant changes in these parameters of the amblyopic eye between the groups 1 and 3.

Conclusion. There was an improvement of accommodation disorders in children with anisometropia, hyperopia and amblyopia after refractive laser surgery and in children with contact lens correction. Due to a decrease in the refractive indices of the amblyopic eye, the values of CAR, OAR and objective RRA after refractive laser surgery tended to be closer to the normal values.

Key words: accommodation, amblyopia, hyperopia, anisometropia, refractive laser surgery

Received: 27.09.2022
Accepted: 10.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Kulikova I.L., Aleksandrova K.A. Changes in accommodation disorders in children with anisometropic amblyopia and hypermetropia. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 129-135. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.13

АКТУАЛЬНОСТЬ

Аномалии рефракции являются первостепенной причиной снижения остроты зрения [1]. На распространённость гиперметропии влияет широкий круг факторов, включая этническую принадлежность и социально-экономическое развитие [2]. Подходы к лазерной коррекции гиперметропии требуют комплексной оценки [3]. Тактика коррекции гиперметропии у детей среди врачей неоднозначна и включает в себя назначение полной и частичной недостаточной коррекции. У детей с гиперметропией коррекция, как правило, неполная. Во-первых, аккомодация детей должна преодолевать небольшие гиперметропические ошибки [4]. Во-вторых, поскольку нечёткое изображение стимулирует усиленную работу аккомодации и таким образом способствует эметропизации, полная коррекция может этому помешать, удаляя стремление размытия к эметропизации [5]. Эти предположения недавно были подвергнуты сомнению из-за отсутствия объективных доказательств [6]. Дети с гиперметропией средней и высокой степени и амблиопией не приспособлены к преодолению остаточной дальновзоркости и, таким образом, вряд ли будут приспособлены к преодолению гиперметропии, оставшейся после недостаточной коррекции [7].

Нарушение аккомодации у детей с гиперметропией является одним из главных факторов нарушения процесса эметропизации и поддержания расфокусировки изображения. Наиболее тяжёлые изменения аккомодации наблюдаются у детей с анизометропической амблиопией и гиперметропией, у которых развиваются анизометропическая и слабость аккомодации [8]. Для исключения стойких функциональных нарушений и обеспечения полной коррекции у таких детей предпочтительна контактная коррекция. В отличие от очков, контактные линзы более точно передают размеры предметов и расстояние между ними, способствуют формированию более правильного мировосприятия у ребёнка [9]. Следует отметить, что очковая и контактная коррекция при анизометропии более 3 дптр не всегда может обеспечить полную реабилитацию пациентов как в клиническом, так и в социальном аспектах. Поэтому на сегодняшний день одним из перспективных методов коррекции сложных аметропий является рефракционная лазерная операция (РЛО), которая, по данным проанализированной литературы, показывает безопасность и эффективность своего применения.

Вопрос изучения аккомодационных изменений при гиперметропии, особенно при анизометропии, остаётся не до конца изученным. Также малоизученными остаются профилактика и реабилитация различных видов нарушений аккомодации у детей с гиперметропической амблиопией и анизометропией.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить изменения аккомодационной функции глаза у детей с гиперметропией, амблиопией, которым была выполнена рефракционно-лазерная операция, а также

у детей с очковой и контактной коррекцией в сочетании с плеоптическим лечением.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Было пролечено 86 детей в возрасте от 6 до 15 лет с анизометропической амблиопией и гиперметропией, которые были разделены на три группы. В 1-ю группу вошли 30 детей после РЛО, во 2-ю группу – 29 детей с очковой коррекцией, в 3-ю группу – 26 детей с контактной коррекцией. Критериями включения в исследование было наличие гиперметропии от 3,0 дптр, анизометропия более 3 дптр, острота зрения амблиопического глаза от 0,05 до 0,3. Дети с косоглазием были исключены из выборки. По полу и возрасту статистически значимых изменений между группами не выявлено. До и после лечения каждые 6 месяцев в течение 1,5 лет всем детям проводили офтальмологическое обследование, заключающееся в проведении визометрии, определении ретинальной остроты зрения, авторефрактометрии, биомикроскопии и офтальмоскопии; дополнительно у всех детей исследовали состояние аккомодации: объективные запасы относительной аккомодации (ЗОА) и объективный аккомодационный ответ (ОАО) изучали на авторефрактометре открытого поля WR-5100K (Grand Seiko, Япония), анализ аккомодографии проводили с помощью Righton Speedy-K (США).

Исследование ОАО проводили в контактной линзе, обеспечивающей полную коррекцию гиперметропии, при бинокулярной фиксации взгляда на мишень на расстоянии 33 см и регистрации результатов каждого глаза отдельно. Объективные ЗОА определяли при добавлении отрицательных линз с силой –0,5 до отсутствия регистрации данных, близких по значению к ОАО.

При исследовании аккомодации на аккомодографе Righton Speedy-K (США) изменения рефракции глаза регистрировались в виде столбиковой диаграммы при предъявлении зрительного стимула на различных расстояниях с фиксацией величины коэффициентов аккомодационного ответа и микрофлюктуаций.

Этическая экспертиза выполняемого исследования была проведена на заседании Локального этического комитета ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России 01.04.2021 (протокол № 104.7).

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерных программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США) и MS Excel 2007 (Microsoft Corp., США). Статистически значимые различия определялись с использованием критериев непараметрической и параметрической статистики: для независимых выборок применялся критерий Краскела – Уоллиса, для зависимых – критерий Вилкоксона. Условием определения статистически значимых различий считали значение $p < 0,05$.

Некорригированная острота зрения (НКОЗ) амблиопического глаза до лечения в 1-й группе состав-

ляла $0,09 \pm 0,06$, во 2-й группе – $0,11 \pm 0,07$ ($p = 0,24$), в 3-й группе – $0,13 \pm 0,06$ ($p = 0,16$). Корригированная острота зрения (КОЗ) амблиопичного глаза у детей до операции – $0,12 \pm 0,1$, у детей с очковой коррекцией – $0,14 \pm 0,09$ ($p = 0,53$), у детей с контактной коррекцией – $0,15 \pm 0,08$ ($p = 0,49$). До лечения сферический эквивалент (СЭ) амблиопичного глаза в 1-й группе составил $+6,77 \pm 1,8$ дптр, во 2-й группе – $+7,13 \pm 3,3$ дптр ($p = 0,21$), в 3-й группе – $+5,91 \pm 2,8$ дптр ($p = 0,26$). Степень анизометропии по СЭ составила $+4,25 \pm 1,4$ дптр, $+5,7 \pm 1,9$ дптр ($p = 0,09$) и $+4,9 \pm 2,4$ дптр ($p = 0,32$) в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно. В ходе анализа с помощью критерия Краскела – Уоллиса статистически значимой разницы между рефракционными показателями пациентов не было, что свидетельствовало об однородности трёх групп. НКОЗ и КОЗ парного глаза были близки к 1,0, а рефракция была представлена эметропией или гиперметропией слабой степени.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На фоне проводимых методов лечения через 1,5 года при сравнении трёх групп были выявлены статистически значимые изменения. НКОЗ амблиопичного глаза в 1-й группе составила $0,25 \pm 0,07$, в 2-й группе – $0,12 \pm 0,08$ ($p = 0,05$), в 3-й группе – $0,15 \pm 0,05$ ($p = 0,01$). КОЗ амблиопичного глаза в 1-й группе у детей после рефракционной операции в сочетании с плеоптическим лечением к концу наблюдаемого периода достигла $0,39 \pm 0,04$, в группе детей с очковой коррекцией и плеоптическим лечением КОЗ была самой низкой – $0,19 \pm 0,08$ ($p = 0,00$), в группе детей с контактной коррекцией в комбинации с плеоптическим лечением КОЗ составила $0,31 \pm 0,1$ ($p = 0,06$). В группе детей после рефракционной операции СЭ амблиопичного глаза составил $+1,23 \pm 0,11$ дптр, степень анизометропии по СЭ – $+1,25 \pm 1,4$ дптр; во 2-й и 3-й группах данные значения

ТАБЛИЦА 1

КОЭФФИЦИЕНТЫ АККОМОДОГРАММЫ
АМБЛИОПИЧНОГО ГЛАЗА У ДЕТЕЙ
С ГИПЕРМЕТРОПИЧЕСКОЙ АНИЗОМЕТРОПИЕЙ
И АМБЛИОПИЕЙ В ТРЁХ ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ ($n = 86$)

TABLE 1

COEFFICIENTS OF THE ACCOMMODATION
OF THE AMBLYOPIC EYE IN CHILDREN WITH HYPEROPIC
ANISOMETROPIA AND AMBLYOPIA IN THREE
COMPARISON GROUPS ($n = 86$)

Параметры	Норма	Группы	До лечения	6 мес.	1 год	1,5 года	p_w
КАО, усл. ед.	0,25–0,65	1-я ($n = 30$)	$0,01 \pm 0,08$	$0,06 \pm 0,08$	$0,1 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,02$	0,02
		2-я ($n = 29$)	$-0,03 \pm 0,15$	$-0,03 \pm 0,1$	$-0,02 \pm 0,14$	$0,00 \pm 0,1$	0,1
		p	0,09	0,07	0,15	0,01	
		3-я ($n = 26$)	$0,05 \pm 0,08$	$0,04 \pm 0,12$	$0,07 \pm 0,1$	$0,08 \pm 0,05$	0,04
		p	0,35	0,24	0,1	0,06	
КУС, усл. ед.	0,00–0,30	1-я ($n = 30$)	$0,24 \pm 0,09$	$0,22 \pm 0,06$	$0,27 \pm 0,08$	$0,23 \pm 0,04$	0,16
		2-я ($n = 29$)	$0,23 \pm 0,12$	$0,25 \pm 0,09$	$0,25 \pm 0,1$	$0,26 \pm 0,12$	0,14
		p	0,34	0,28	0,19	0,3	
		3-я ($n = 26$)	$0,27 \pm 0,08$	$0,24 \pm 0,13$	$0,25 \pm 0,12$	$0,27 \pm 0,15$	0,31
		p	0,41	0,25	0,28	0,11	
КР, усл. ед.	0,60–0,90	1-я ($n = 30$)	$0,49 \pm 0,06$	$0,5 \pm 0,06$	$0,53 \pm 0,05$	$0,5 \pm 0,02$	0,13
		2-я ($n = 29$)	$0,47 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,09$	$0,49 \pm 0,07$	$0,5 \pm 0,03$	0,11
		p	0,16	0,49	0,08	0,23	
		3-я ($n = 26$)	$0,51 \pm 0,09$	$0,5 \pm 0,12$	$0,5 \pm 0,14$	$0,52 \pm 0,09$	0,52
		p	0,06	0,24	0,17	0,18	
КМФ, мкф/мин	до 57	1-я ($n = 30$)	$56,5 \pm 4,2$	$65,6 \pm 4,1$	$63,5 \pm 4,1$	$64,3 \pm 2,5$	0,01
		2-я ($n = 29$)	$55,1 \pm 5,1$	$57,8 \pm 3,9$	$57,4 \pm 4,0$	$59,1 \pm 3,5$	0,05
		p	0,1	0,01	0,02	0,03	
		3-я ($n = 26$)	$57,4 \pm 5,5$	$59,8 \pm 5,0$	$60,6 \pm 4,0$	$61,5 \pm 5,7$	0,03
		p	0,12	0,01	0,04	0,08	

Примечание. Здесь и в таблице 2: p – критерий Краскелла – Уоллиса между группами; p_w – критерий Уилкоксона внутри групп; КУС – коэффициент устойчивости; КР – коэффициент роста; КМФ – коэффициент микрофлюктуаций.

ТАБЛИЦА 2
КОЭФФИЦИЕНТЫ АККОМОДОГРАММЫ ПАРНОГО
ВЕДУЩЕГО ГЛАЗА У ДЕТЕЙ С ГИПЕРМЕТРОПИЧЕСКОЙ
АНИЗОМЕТРОПИЕЙ И АМБЛИОПИЕЙ В ТРЁХ ГРУППАХ
СРАВНЕНИЯ (n = 86)

TABLE 2
COEFFICIENTS OF THE ACCOMMODATION OF THE FELLOW
DOMINANT EYE IN CHILDREN WITH HYPEROPIC
ANISOMETROPIA AND AMBLYOPIA IN THREE
COMPARISON GROUPS (n = 86)

Параметры	Норма	Группы	До лечения	6 мес.	1 год	1,5 года	p_w
КАО, усл. ед.	0,25–0,65	1-я (n = 30)	0,39 ± 0,11	0,35 ± 0,04	0,41 ± 0,08	0,43 ± 0,1	0,06
		2-я (n = 29)	0,35 ± 0,24	0,39 ± 0,15	0,33 ± 0,14	0,34 ± 0,11	0,15
		3-я (n = 26)	0,41 ± 0,16	0,39 ± 0,19	0,42 ± 0,14	0,45 ± 0,16	0,07
		<i>p</i>	0,21	0,18	0,26	0,12	
КУС, усл. ед.	0,00–0,30	1-я (n = 30)	0,28 ± 0,09	0,25 ± 0,07	0,26 ± 0,13	0,25 ± 0,07	0,24
		2-я (n = 29)	0,30 ± 0,07	0,28 ± 0,1	0,27 ± 0,15	0,27 ± 0,13	0,14
		3-я (n = 26)	0,27 ± 0,16	0,30 ± 0,12	0,28 ± 0,11	0,28 ± 0,14	0,36
		<i>p</i>	0,38	0,06	0,09	0,11	
КР, усл. ед.	0,60–0,90	1-я (n = 30)	0,51 ± 0,15	0,5 ± 0,08	0,52 ± 0,08	0,5 ± 0,13	0,47
		2-я (n = 29)	0,48 ± 0,08	0,49 ± 0,1	0,51 ± 0,08	0,52 ± 0,07	0,06
		3-я (n = 26)	0,52 ± 0,09	0,53 ± 0,12	0,53 ± 0,14	0,53 ± 0,16	0,41
		<i>p</i>	0,16	0,22	0,25	0,09	
КМФ, мкф/мин	до 57	1-я (n = 30)	64,8 ± 5,2	64,1 ± 2,7	62,8 ± 4,9	60,5 ± 2,4	0,05
		2-я (n = 29)	65,4 ± 4,1	65,1 ± 4,9	64,4 ± 3,8	64,2 ± 5,5	0,07
		3-я (n = 26)	0,24	0,26	0,06	0,04	
		<i>p</i>	63,2 ± 4,7	62,9 ± 3,6	62,5 ± 4,2	62,1 ± 4,4	0,06
		1-я (n = 30)	0,12	0,05	0,18	0,06	

были на уровне исходных; разница между группами была статистически значимой ($p < 0,001$). Таким образом, во всех трёх группах отмечалось повышение остроты зрения на фоне проводимого лечения.

Данные коэффициентов аккомодограммы амблиопичного глаза представлены в таблице 1, ведущего парного глаза – в таблице 2.

Аккомодограмма амблиопичного глаза имела пологий ход из-за низкого ответа на зрительный стимул; также регистрировались «провалы», которые являются результатом отсутствия ответа цилиарной мышцы на зрительный стимул. У парного ведущего глаза регистрировалось привычно-избыточное напряжение аккомодации, проявляющееся в высоком количестве микрофлюктуаций. У всех детей была выявлена анизометропия. По данным проведённого анализа, в амблиопичном глазу отмечалось статистически значимое повышение КАО у пациентов после рефракционно-лазерной операции и у детей с контактной коррекцией, а также во всех трёх группах сравнения было зарегистрировано статистически значимое повышение коэффициента микрофлюктуаций (КМФ). В парном ведущем глазу было выявлено статистически значимое снижение КМФ у детей после рефракционно-лазерной операции, что, вероятно, связано с повышением корригиро-

ванной остроты зрения на парном амблиопичном глазу и перераспределением зрительной нагрузки.

По данным компьютерной аккомодографии, у детей в амблиопичном глазу наблюдались слабость аккомодации и комбинированные нарушения аккомодации, проявляющиеся в виде низкого коэффициента аккомодационного ответа и высокого коэффициента микрофлюктуаций. Данный комбинированный вид нарушения аккомодации одними из первых дополнительно выделили С.В. Балалин и Л.П. Труфанова [10].

Е.Г. Солодковой и соавт. (2019) с помощью аккомодографа были изучены изменения аккомодации, характерные для детей с гиперметропией [11]. Согласно их исследованию, у пациентов с гиперметропией средней и высокой степени была диагностирована слабость аккомодации с низким КАО и нормальным КМФ, а также сочетание слабости аккомодации с привычно-избыточным напряжением аккомодации – низкий коэффициент КАО с высоким КМФ, что также соответствует нашим данным.

По данным исследования на авторефрактометре открытого поля, ОАО амблиопичного глаза были снижены во всех трёх группах. В начале наблюдения полученные данные между группами были однородны. В группе детей после РЛО среднее значение ОАО состави-

ло $-1,1 \pm 0,8$ дптр, у детей с очковой коррекцией данный показатель составил $-1,22 \pm 0,55$ дптр ($p = 0,34$), у детей с контактной коррекцией $-1,25 \pm 0,23$ дптр ($p = 0,21$). Согласно формуле Дондерса, норма аккомодационного ответа составляла $-3,0$ дптр [12]. Через 1,5 года наблюдения ОАО амблиопичного глаза 1-й группы значительно приблизился к норме и составил $-2,1 \pm 0,67$ дптр. Показатели 1-й группы статистически значимо отличались от таковых во 2-й группе, где ОАО амблиопичного глаза составил $-1,38 \pm 0,19$ дптр ($p = 0,01$), в 3-й группе указанный показатель достиг значения $-1,8 \pm 0,4$ дптр ($p = 0,07$). В парном ведущем глазу отмечалось снижение ОАО, но менее выраженное по сравнению с амблиопичным глазом. Изменения ОАО между группами в парном ведущем глазу так же, как и в амблиопичном, в начале наблюдения были статистически не значимы. ОАО парного ведущего глаза в 1-й, 2-й и 3-й группах составил $-1,9 \pm 0,4$ дптр, $-1,8 \pm 0,56$ дптр ($p = 0,69$) и $-1,9 \pm 0,42$ дптр ($p = 0,86$) соответственно. Через 1,5 года лечения ОАО повысился и в парном ведущем глазу; статистически значимых различий между группами установлено не было. У детей после РЛО данный показатель составил $-2,4 \pm 0,24$ дптр, после очковой коррекции $-2,2 \pm 0,13$ дптр ($p = 0,11$), после контактной коррекции $-2,4 \pm 0,24$ дптр ($p = 0,32$).

Значения объективных ЗОА амблиопичного глаза были снижены: у детей после РЛО и с очковой контактной коррекцией первоначальные данные объективных ЗОА были близки и составили $-1,0 \pm 0,2$ и $-1,0 \pm 0,3$ дптр ($p = 0,89$) соответственно; у детей с контактной коррекцией данный показатель был на уровне $-1,2 \pm 0,82$ дптр ($p = 0,54$) соответственно. Возрастные нормативы запаса относительной аккомодации были определены Э.С. Автисовым и К.М. Мац (1971) как $-3,0$ – $-5,0$ дптр [13]. После проведенного лечения объективные ЗОА у детей после РЛО составили $-2,1 \pm 0,67$ дптр, у детей с очковой коррекцией $-1,38 \pm 0,19$ дптр ($p = 0,01$), с контактной коррекцией $-1,8 \pm 0,4$ дптр ($p = 0,06$). Таким образом, во всех группах отмечалось повышение объективных ЗОА амблиопичного глаза; статистически значимые изменения были зарегистрированы только между 1-й и 2-й группами. Регистрация сниженных показателей объективных ЗОА отмечалась и в парном ведущем глазу, что, вероятно, связано с наличием содружественной аккомодации. Первоначальные данные объективных ЗОА парного глаза в группе детей после РЛО составили $-2,0 \pm 0,48$ дптр, у детей с очковой коррекцией $-1,8 \pm 0,32$ дптр ($p = 0,34$), в группе детей с контактной коррекцией $-2,0 \pm 0,52$ дптр ($p = 0,67$). Через 1,5 года данные показатели между группами оставались приближенными и составили $-2,51 \pm 0,31$ дптр, $-2,0 \pm 0,6$ дптр ($p = 0,09$) и $-2,38 \pm 0,42$ дптр ($p = 0,12$) в 1-й, 2-й и 3-й группах соответственно.

По данным работ Е.П. Тарутты и соавт. (2012), при гиперметропии и при миопии наблюдается задержка аккомодационного ответа, которая усиливается в зависимости от степени аметропии, однако при миопии задержка ОАО сильнее, чем при гиперметропии, и следует отметить, что исследования данной группы авторов проводились на детях без амблиопии [14, 15].

Таким образом, по данным настоящего исследования, восстановление нарушений аккомодации у детей после рефракционной лазерной операции и с контактной коррекцией были сопоставимы. В вышеуказанных группах отмечалось статистически значимое повышение КАО, КМФ, ОАО и объективных ЗОА амблиопичного глаза по сравнению с группой детей с очковой коррекцией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рефракционная лазерная операция и контактная коррекция обеспечивают снижение нарушений аккомодации у детей с анизометропической амблиопией и гиперметропией. После рефракционной лазерной операции отмечена тенденция к более близким к норме значениям коэффициента аккомодационного ответа, объективного аккомодационного ответа и объективных запасов относительной аккомодации за счёт снижения рефракционных показателей амблиопичного глаза

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. International Agency for the Prevention of Blindness. *WHO Facts. Blindness and visual impairment: Global facts*. 2013. URL: <http://www.iapb.org/vision-2020/global-facts> [date of access: 01.09.2022].
2. Hashemi H, Fotouhi A, Yekta A, Pakzad R, Ostadimoghaddam H, Khabazkhoob M. Global and regional estimates of prevalence of refractive errors: Systematic review and meta-analysis. *J Curr Ophthalmol*. 2017; 30(1): 3-22. doi: 10.1016/j.joco.2017.08.009
3. Майчук Н.В., Мушкова И.А., Малышев И.А., Образцова М.Р. Дискуссионные вопросы лазерной коррекции при гиперметропии: анализ литературы и реальная клиническая практика. *Офтальмология*. 2022; 19(2): 350-358. [Maychuk NV, Mushkova IA, Malyshev IS, Obratsova MR. Discussing questions of laser refractive surgery in hyperopia: Literature review and clinical experience. *Ophthalmology in Russia*. 2022; 19(2): 350-358. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2022-2-350-358
4. Bolinowska S. Hyperopia in preschool and school children. *Med Pregl*. 2007; 60(3-4): 115-21. doi: 10.2298/mpns0704115b
5. Horwood AM, Riddell PM. Hypo-accommodation responses in hypermetropic infants and children. *Br J Ophthalmol*. 2011; 95(2): 231-237. doi: 10.1136/bjo.2009.177378
6. Кушнаревич Н.Ю. Агрессивный подход к управлению гиперметропией: метод максимального использования адаптационных резервов, заложенных природой в алгоритмы развития рефракции. *Российский офтальмологический журнал*. 2017; 10(2): 78-85. [Kushnarevich NYu. An aggressive approach to hyperopia management: A method of maximum use of adaptive reserves intrinsic for the algorithms of natural refractive development. *Russian Ophthalmological Journal*. 2017; 10(2): 78-85. (In Russ.)]. doi: 10.21516/2072-0076-2017-10-2-78-85

7. Ntodie M, Saunders KJ, Little JA. Correction of low-moderate hyperopia improves accommodative function for some hyperopic children during sustained near work. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2021; 62(4): 6. doi: 10.1167/iov.62.4.6

8. Toor S, Horwood A, Riddell P. The effect of asymmetrical accommodation on anisometropic amblyopia treatment outcomes. *J AAPOS*. 2019; 23(4): 203.e1-203.e5. doi: 10.1016/j.jaapos.2019.05.010

9. Маркова Е.Ю., Перфильева Е.А. Применение контактных линз в детской офтальмологической практике. Обзор. *Офтальмология*. 2020; 17(1): 32–41. [Markova EYu, Perfil'yeva EA. Contact lenses in pediatric ophthalmological practice. *Ophthalmology in Russia*. 2020; 17(1): 32–41. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2020-1-32-41

10. Балалин С.В., Труфанова Л.П. Офтальмогипертензионный синдром перенапряжения аккомодации как фактор риска прогрессирования миопии. *Национальный журнал глаукома*. 2019; (2): 29–37. [Balalin SV, Trufanova LP. Ophthalmogypertensive syndrome of over-extension accommodation as a factor of risk of progression of myopia. *National Journal Glaucoma*. 2019; 18(2): 29–37. (In Russ.)]. doi: 10.25700/NJG.2019.02.04

11. Солодкова Е.Г., Кузнецова О.С., Фокин В.П., Балалин С.В., Сиволобов В.А. Анализ состояния аккомодации у пациентов с гиперметропией. *Современные технологии в офтальмологии*. 2019; 5: 227–230. [Solodkova EG, Kuznetsova OS, Fokin VP, Balalin SV, Sivolobov VA. Analysis of accommodation status in patients

with hypermetropy. *Modern Technologies in Ophthalmology*. 2019; 5: 227–230. (In Russ.)]. doi: 10.25276/2312-4911-2019-5-227-230.22

12. Катаргина Л.А. Аккомодация: руководство для врачей. М.: Апрель; 2012. [Katargina LA. *Accommodation: A guide for doctors*. Moscow: Aprel; 2012. (In Russ.)].

13. Аветисов Э.С., Мац К.А. Метод тренировки цилиарной мышцы при ослабленной аккомодации. *Материалы научной конференции по вопросам профилактики, патогенеза и лечения заболеваний органа зрения у детей*. М.: Медицина; 1971: 60–63. [Avetisov ES, Mats KA. Method of training the ciliary muscle with weakened accommodation. *Proceedings of a scientific conference on the prevention, pathogenesis and treatment of the ophthalmological diseases in children*. Moscow: Meditsina; 1971: 60–63. (In Russ.)].

14. Тарутта Е.П., Филинова О.Б., Тарасова Н.А. Новые методы объективной аккомодометрии. *Российская педиатрическая офтальмология*. 2012; 1: 45–48. [Tarutta EP, Filinova OB, Tarasova NA. The new methods for objective accommodation. *Russian Pediatric Ophthalmology*. 2012; 1: 45–48. (In Russ.)].

15. Тарутта Е.П., Тарасова Н.А. Тонус аккомодации при миопии, измеренный различными способами, и его возможное прогностическое значение. *Вестник офтальмологии*. 2012; 2: 34–37. [Tarutta EP, Tarasova NA. Accommodative tone in myopia, measured by various methods, and its possible prognostic value. *Vestnik oftalmologii*. 2012; 2: 34–37. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Куликова Ирина Леонидовна – доктор медицинских наук, врач хирург-офтальмолог высшей квалификационной категории, заместитель директора по лечебной работе, Чебоксарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; профессор курса офтальмологии, ГАУ ЧР ДПО «Институт усовершенствования врачей» Минздрава Чувашской Республики, e-mail: koulikovail@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5320-8524>

Александрова Ксения Андреевна – врач-офтальмохирург отделения амбулаторной хирургии и консервативных методов лечения, Чебоксарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: a-ksusha93@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6596-8870>

Information about the authors

Irina L. Kulikova – Dr. Sc. (Med.), Ophthalmic Surgeon, Deputy Director for Treatment, Cheboksary Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Professor at the Ophthalmology Course, Postgraduate Doctors' Training Institute, e-mail: koulikovail@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5320-8524>

Ksenia A. Aleksandrova – Ophthalmic Surgeon at the Unit of Ambulatory Surgery and Conservative Treatment, Cheboksary Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: a-ksusha93@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6596-8870>

ИНТРАОКУЛЯРНЫЙ ДИРОФИЛАРИОЗ: ХИРУРГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ, ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Архипов Е.В.¹,
Зайка В.А.¹,
Кузьмин С.В.¹,
Самсонов Д.Ю.¹,
Нефедьева М.Д.¹,
Журавская К.Р.²

¹ Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ
«МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (664033, г. Иркутск,
ул. Лермонтова, 337, Россия)

² ООО «Центр современной
офтальмологии» (664023, г. Иркутск,
ул. Ядринцева, 92, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Архипов Егор Владимирович,
e-mail: egorar8@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель. Представить клинический случай хирургического лечения паразитарной инвазии стекловидного тела, вызванной дирофилярией.

Материал и методы. Прооперирована 1 пациентка с интраокулярным дирофиляриозом. Пациентке проведено оперативное лечение в объёме витрэктомии, факэмульсификации катаракты с имплантацией интраокулярной линзы. На этапе проведения витрэктомии канговыми пинцетами произведено удаление цельного гельминта из витреальной полости для последующего типирования. Некорректированная острота зрения правого глаза на момент обращения составляла 0,4, левого – 0,45.

Результаты. Послеоперационный период протекал без признаков активной воспалительной реакции. Через 4 месяца после хирургического лечения, на контрольной явке, острота зрения левого глаза достигла 1,0. По данным паразитологического исследования идентифицирована самка *Dirofilaria immitis*. В послеоперационном периоде у пациентки визуализировались зоны выраженной хориоретинальной атрофии периферических отделов сетчатки, что, возможно, является последствием механического контакта паразита либо токсического воздействия продуктов его жизнедеятельности.

Заключение. Данный клинический пример демонстрирует возможности заражения глазной формой дирофиляриоза в нетипичном для нахождения данного гельминта регионе. Несмотря на положительный исход заболевания, у представленной пациентки длительное нахождение паразита в витреальной полости привело к формированию хориоретинальной атрофии на периферии сетчатки, что подтверждает необходимость проведения своевременной диагностики и оперативного вмешательства.

Ключевые слова: дирофиляриоз, витрэктомия, зооноз, отфальмогельминтоз

Статья поступила: 22.12.2023

Статья принята: 29.02.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Архипов Е.В., Зайка В.А., Кузьмин С.В., Самсонов Д.Ю., Нефедьева М.Д., Журавская К.Р. Интраокулярный дирофиляриоз: хирургические подходы, особенности клинического течения (клинический случай). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 136-141. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.14

INTRAOCULAR DIROFILARIASIS: SURGICAL APPROACHES, FEATURES OF THE CLINICAL COURSE (CLINICAL CASE)

Arkhipov E.V.¹,
Zaika V.A.¹,
Kuzmin S.V.¹,
Samsonov D.Yu.¹,
Nefedieva M.D.¹,
Zhuravskaya K.R.²

¹ Irkutsk Branch of the S. Fyodorov
Eye Microsurgery Federal State Institution
(Lermontova str. 337, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

² Center of Modern Ophthalmology
(Yadrintseva str. 92, 664023 Irkutsk,
Russian Federation)

Corresponding author:
Egor V. Arkhipov,
e-mail: egorar8@gmail.com

ABSTRACT

The aim. To present a clinical case of surgical treatment of parasitic invasion of the vitreous body caused by *dirofilaria*.

Material and methods. One patient with intraocular dirofilariasis got operated underwent surgical treatment including vitrectomy, phacoemulsification with implantation of an intraocular lens. At the stage of vitrectomy, a whole helminth was removed from the vitreal cavity using collet tweezers for subsequent typing. The uncorrected visual acuity of the right eye at the time of treatment was 0.4, of the left eye – 0.45.

Results. The postoperative period had no signs of an active inflammatory reaction. 4 months after surgical treatment, at a follow-up visit, visual acuity of the left eye reached 1.0. According to the parasitological study, a female *Dirofilaria repens* was identified. In the postoperative period, the areas of pronounced chorioretinal atrophy in the peripheral parts of the retina were visualized, which may be a consequence of mechanical contact of the parasite or the toxic effects of its metabolic products.

Conclusion. This clinical example demonstrates the possibility of infection with the ocular form of dirofilariasis in a region that is atypical for the presence of this helminth. Despite the positive outcome of the disease, in the presented patient, the long-term presence of the parasite in the vitreal cavity led to the formation of chorioretinal atrophy in the peripheral retina, which confirms the need for timely diagnosis and surgical treatment.

Key words: dirofilariasis, vitrectomy, zoonosis, phthalmohelminthiasis

Received: 22.12.2023
Accepted: 29.02.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Arkhipov E.V., Zaika V.A., Kuzmin S.V., Samsonov D.Yu., Nefedieva M.D., Zhuravskaya K.R. Intraocular dirofilariasis: Surgical approaches, features of the clinical course (clinical case). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 136-141. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.14

Дирофиляриоз (dirofilariasis, от лат. «*diro*, *filum*» – «злая нить») – это заболевание, вызванное паразитированием нематоды из рода *Dirofilaria* в организме человека [1]. Дирофилярии – это тонкие гельминты белого оттенка, принадлежащие к классу круглых червей-нематод. Известно около двадцати видов дирофилярий, однако особо опасны для человека *Dirofilaria repens* и *Dirofilaria limmitis*. Самка *Dirofilaria repens* достигает длины 130–150 мм, *Dirofilaria limmitis* – 180–300 мм, в то время как самцы *Dirofilaria repens* – 50–60 мм, самцы *Dirofilaria limmitis* – 100–110 мм. Как правило, гельминт может быть от 0,03 до 1,2 мм шириной [2, 3]. *Dirofilaria limmitis* вызывает лёгочную форму заболевания, *Dirofilaria repens* – кожно-глазную. Инфицированный комар может заразить человека дирофиляриозом из рода *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* [1, 4, 5]. Комар является не единственным переносчиком заболевания; известны случаи инвазии после укусов клещей, слепней, вшей и блох. До недавнего времени считалось, что личинка в тканях организма человека растёт, но не претерпевает половозрелых изменений. Однако в литературе описаны случаи микрофиляриемии, что говорит о возможности заражения организма как минимум двумя особями разного пола с переходом их в половозрелую стадию развития и о том, что человек может явиться окончательным носителем *Dirofilaria repens* [5]. В 1566 г. португальский врач Лузитано Амато (1511–1568) впервые описал случай удаления червя из глаза маленькой девочки. В 1915 г. российский врач А.П. Владыченский описал случай извлечения червя из опухоли глаза пациента [6–8]. Значительный вклад в изучение дирофилярии внёс советский гельминтолог К.И. Скрябин в 1917–1948 гг. На долю глазного дирофиляриоза с поражением органа зрения приходится от 38 до 88 % случаев [8]. В 1996 г. Т.И. Авдюхина и соавт. составили реестр больных дирофиляриозом, где 50 из 110 случаев приходилось на дирофиляриоз органа зрения [9]. Интраокулярная локализация считается редкой формой глазного дирофиляриоза. Так, например, на территории Российской Федерации в разные годы зарегистрированы 5 случаев глазного дирофиляриоза с интраокулярной локацией [8].

В настоящее время участвовавшие случаи дирофиляриоза снова привлекают внимание врачей [10]. Основными причинами роста заболеваемости и расширения ареала распространения дирофиляриоза, по мнению учёных, являются изменение климатических, социальных и экологических условий, а также рост миграционной активности населения [11]. До недавнего времени считалось, что болезнь преимущественно распространена в странах Азии, Африки и Южной Европы, однако в последние годы отмечается увеличение числа случаев дирофиляриоза в странах северной Европы (Финляндии, Эстонии), где ранее это заболевание было крайне редким [12]. На территории Российской Федерации ранее случаи дирофиляриоза регистрировались преимущественно в южных регионах, однако сейчас отмечаются случаи в Санкт-Петербурге, Томской, Иркутской, Свердловской областях [13]. Учитывая полиморфизм клинических проявлений глазного дирофиляриоза, диагностика заболевания затруднена, и часто окончательный ди-

агноз ставится при проведении оперативного лечения с извлечением паразита и его последующего типирования. Таким образом, дирофиляриоз является сложным и междисциплинарным заболеванием, требующим повышенного внимания врачей по месту жительства, особенно в регионах, не эндемичных для данной патологии.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Представить клинический случай хирургического лечения паразитарной инвазии стекловидного тела, вызванной дирофилярией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациентка Т., 59 лет, обратилась в офтальмологическую клинику по месту жительства с жалобами на снижение зрения в левом глазу в течение нескольких лет и наличие плавающего образования перед ним в виде «нитки», беспокоящего её в течение полугода. При проведении офтальмологического обследования выявлено подвижное образование в нижнем сегменте витреальной полости. Установлен диагноз: паразитарная инвазия стекловидного тела; пациентка была направлена на хирургическое лечение. При явке на операцию было проведено полное офтальмологическое обследование, включающее визометрию, измерение внутриглазного давления (ВГД), авторефрактометрию, биомикроскопию переднего сегмента глаза, периметрию, офтальмоскопию глазного дна и ультразвуковое В-сканирование. Некорригированная (н. к.) острота зрения правого глаза (OD, oculus dexter) на момент обращения составляла 0,4, левого (OS, oculus sinister) – 0,45, ВГД (р) обоих глаз – 11 мм рт. ст. Выявлены выраженные помутнения в коре хрусталика, при осмотре глазного дна определялся флотирующий конгломерат стекловидного тела с полупрозрачным подвижным образованием нитевидной формы. Также были обнаружены зоны хориоретинальной атрофии на средней и крайней периферии, при этом диск зрительного нерва и макула оставались без изменений. Ультразвуковое В-сканирование подтвердило наличие крупного очага помутнения стекловидного тела, внутри которого наблюдался подвижный объект (рис. 1). Установлен диагноз: помутнение стекловидного тела, паразитарная инвазия стекловидного тела, неполная осложнённая катаракта левого глаза.

Принято решение о проведении комбинированного лечения – задней закрытой витреоректомии и фактоэмульсификации катаракты с имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ). Для минимизации рисков развития воспаления при разрушении паразита в ответ на чужеродные антигены, а также с целью типирования гельминта были использованы хирургические подходы, позволяющие удалить паразит без его повреждения. Оперативное лечение проведено на системе Alcon Constellation (Alcon, США). Первым этапом выполнена фактоэмульсификация катаракты без имплантации ИОЛ. Установлены

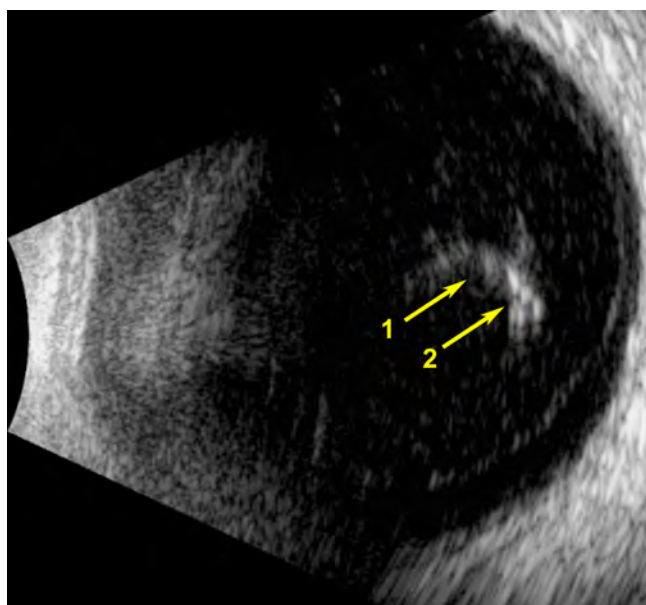


РИС. 1.

B-скан. Конгломерат стекловидного тела и паразита: 1 – помутнение стекловидного тела; 2 – подвижное гиперэхогенное образование

FIG. 1.

B-scan image. Conglomerate of vitreous body and parasite: 1 – opacity of vitreous body; 2 – mobile hyperechoic formation

3 порта 25G по стандартной технологии в 3 мм от лимба. Установлена инфузионная канюля в порт в нижнем наружном сегменте. Витреотомом сформирован задний капсулорексис диаметром 4 мм с целью извлечения через него паразита. При проведении капсулорексиса конгломерат стекловидного тела с паразитом мигрировал в ретролентиккулярное пространство. Через парацентезы конгломерат был фиксирован цанговым пинцетом 25G, и проведена попытка вывести гельминта пинцетом из стекловидного тела (рис. 2). Однако из-за выраженной фиксации паразита в волокнах стекловидного тела попытка оказалась неудачной. Принято решение об изменении техники извлечения гельминта. Витреотомом пересечены волокна стекловидного тела, фиксированные с конгломератом. Во время проведения витреоэктомии отмечалась выраженная подвижность паразита с тенденцией миграции к окошку витреотома и риском его повреждения.

Необходимо отметить, что интраоперационно рассматривалась возможность введения раствора карбахола 0,01 % с целью уменьшения подвижности гельминта, но возможный миоз и риски снижения визуализации обусловили отказ от введения данного препарата. Пинцетом конгломерат частично выведен в переднюю камеру, из которой паразит был извлечён через парацентез (рис. 3). Гельминт помещён в сбалансированный солевой раствор и отправлен в паразитологическую лабораторию. Проведена тотальная витреоэктомия с ревизией состояния сетчатки. Интраокулярная линза была имплантирована в капсульный мешок. После удаления портов операция завершена.

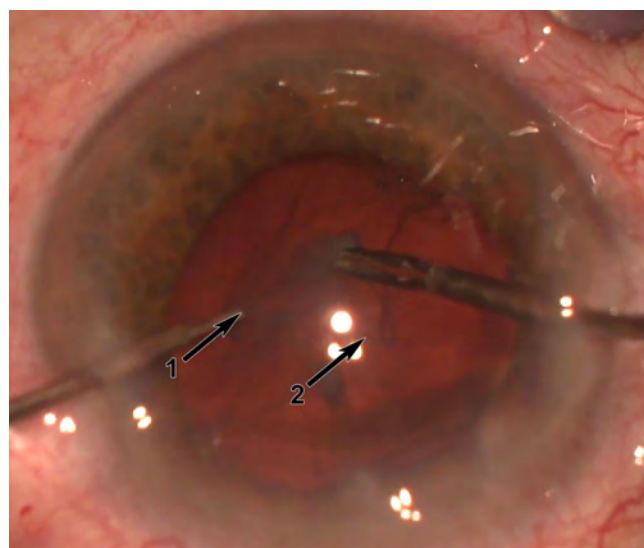


РИС. 2.

Фоторегистрация этапа оперативного вмешательства: 1 – помутнение стекловидного тела; 2 – паразит, впаянный в волокна стекловидного тела

FIG. 2.

Intraoperative photo of the stage of the surgery: 1 – opacity of vitreous body; 2 – parasite soldered into vitreous fibers

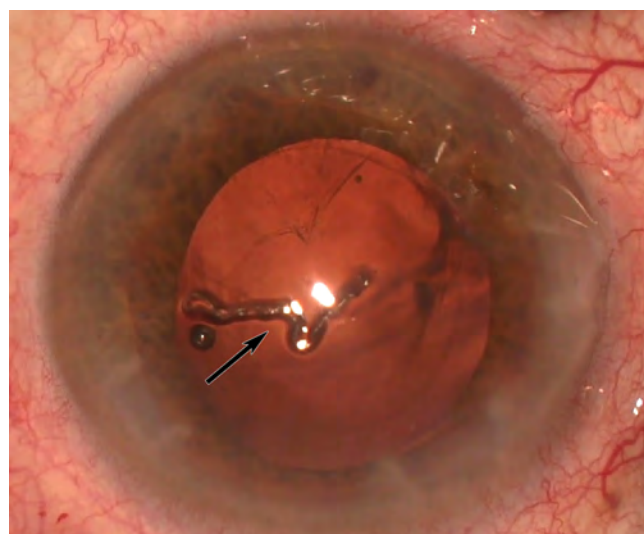


РИС. 3.

Фоторегистрация этапа оперативного вмешательства: вид червя, расположенного на роговице, после экстракции из витреальной полости

FIG. 3.

Intraoperative photo of the stage of the surgery: a helminth located on the cornea after its extraction from the vitreal cavity

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Послеоперационный период протекал без признаков активной воспалительной реакции. На третий день пациентка была выписана из стационара. На момент выписки острота зрения OS составляла 0,8 н. к., ВГД – 10 мм рт. ст. Через 4 месяца, на контрольной явке, острота зрения OS достигла 1,0, а ВГД оставалось на уровне

10 мм рт. ст. По данным паразитологического исследования идентифицирована самка *Dirofilaria repens*. Пациентке назначена консультация врача-инфекциониста.

Особенностью данного клинического случая является место заражения пациентки в нетипичном для данного заболевания регионе. Пациентка проживает в северном районе Иркутской области, за пределы которого не выезжал в течение последних двух лет. С учётом сроков предъявления жалоб на снижение зрения и появление подвижного объекта в поле зрения, а также особенностей жизненного цикла гельминта можно предположить, что инфицирование произошло в регионе проживания пациентки. Это коррелирует с общемировыми тенденциями значительного увеличения заболеваемости диروفилариозом в северных широтах, что связывают с климатическим потеплением и, как следствие, с более длительным жизненным циклом комаров-переносчиков заболевания, а также распространением бродячих кошек и собак, которые являются окончательными хозяевами паразита [14]. Также стоит отметить, что в одном из самых холодных и северных городов России – Якутске – обнаружены случаи инфицирования диروفиларией как домашних, так и диких животных [13, 14].

Интраокулярный диروفилариоз считается самой редкой формой данного заболевания и носит спорадический характер. Общепринятой и единственной тактикой лечения при данной форме заболевания остаётся хирургическое. При этом стоит отметить, что не существует единого мнения о необходимости экстракции целого паразита, а также, в случае сохранения паразита, способа его удаления из глаза. Часть авторов при проведении эндовитреального вмешательства одновременно иссекают диروفиларию, что значительно упрощает хирургию, сокращая длительность операции. По данным литературы, этот метод удаления паразита не приводит к развитию внутриглазного воспаления [6], но типирование паразита в этих случаях становится невозможным. Отечественные офтальмологи придерживаются тактики сохранности цельного паразита, используя для этого различные хирургические подходы. В.Н. Казайкин и соавт. описали технику аспирационной экстракции паразита из глаза с сохранением стекловидного тела [12]. Р.Р. Файзрахманов и соавт. использовали витрэктомию для мобилизации гельминта с дальнейшим удалением его пинцетом через порт 23-го калибра [15]. В обоих случаях целостность паразита удалось сохранить для последующего паразитологического исследования и для окончательной установки диагноза [12, 15].

Тактика хирургического лечения, которая применялась в данном клиническом случае, была обусловлена наличием выраженных помутнений в хрусталике, грубых помутнений стекловидного тела, которые мешали адекватной визуализации глазного дна. В послеоперационном периоде у пациентки визуализировались зоны выраженной хориоретинальной атрофии периферических отделов сетчатки, что, возможно, является последствием механического контакта паразита либо токсического воздействия продуктов его жизнедеятельности (рис. 4). Отсутствие патологических изменений в макулярной области позволило получить высокую остроту зрения.



РИС. 4.

Зоны выраженной хориоретинальной атрофии периферических отделов сетчатки

FIG. 4.

Areas of pronounced chorioretinal atrophy of the retinal peripheral parts

Большинство публикаций, в которых было представлено лечение пациентов с данным заболеванием, демонстрируют получение высокой остроты зрения без сопутствующих токсических и воспалительных реакций в послеоперационном периоде. В то же время описаны клинические случаи с катастрофическим снижением зрения, причиной чего была грубая атрофия сетчатки макулярной области вследствие длительного нахождения диروفиларии в глазу [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данный клинический пример демонстрирует возможности заражения глазной формой диروفилариоза в нетипичном для нахождения данного гельминта регионе. Несмотря на положительный исход заболевания, у представленной пациентки длительное нахождение паразита в витреальной полости привело к формированию хориоретинальной атрофии на периферии сетчатки, что подтверждает необходимость проведения своевременной диагностики и оперативного вмешательства.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Reddy MV. Human dirofilariasis: An emerging zoonosis. *Trop Parasitol.* 2013; 3(1): 2-3.

2. Permi HS, Veena S, Prasad HK, Kumar YS, Mohan R, Shetty KJ. Subcutaneous human dirofilariasis due to *Dirofilaria repens*: Report of two cases. *J Glob Infect Dis*. 2011; 3(2): 199-201. doi: 10.4103/0974-777X.81702
3. Чистенко Г.Н., Веденьков А.Л., Дронина А.М., Семижон О.А. Дирофиляриоз человека. *Медицинский журнал*. 2013; 3(45): 30-33. [Chistenko GN, Vedenkov AL, Dronina AM, Semizhon OA. Human dirofilariasis. *Medical Journal*. 2013; 3(45): 30-33. (In Russ.).]
4. Kartashev V. Human subcutaneous/ocular dirofilariasis in the Russian Federation and Belarus, 1997–2013. *Int J Infect Dis*. 2015; 33: 209-211.
5. Бронштейн А.М., Супряга В.Г., Ставровский Б.И. Дирофиляриоз человека в Московском регионе. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2003; 3: 51-56. [Bronstein AM, Supryaga VG, Stavrovsky BI. Human dirofilariasis in the Moscow region. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2003; 3: 51-56. (In Russ.).]
6. Kalogeropoulos CD, Stefanidou MI, Gorgoli KE, Papadopoulou CV, Pappa CN, Paschidis CA. Ocular dirofilariasis: A case series of 8 patients. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2014; 21(4): 312-316. doi: 10.4103/0974-9233.142267
7. Molyneux DH. Control of human parasitic diseases: Context and overview. *Adv Parasitol*. 2006; 61: 1-45. doi: 10.1016/S0065-308X(05)61001-9
8. Гущина М.Б., Терещенко А.В., Южакова Н.С. Клинические формы глазного дирофиляриоза. *Вестник офтальмологии*. 2019; 135(4): 113-120. [Gushchina MB, Tereshchenko AV, Yuzhakova NS. Clinical forms of ocular dirofilariasis. *Vestnik Oftalmologii*. 2019; 135(4): 113-120. (In Russ.).] doi: 10.17116/oftalma2019135041113
9. Сергиев В.П., Супряга В.Г., Бронштейн А.М., Ганушкина Л.А., Ракова В.М., Морозов Е.Н., и др. Итоги изучения дирофиляриоза в России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2014; 3: 3-4. [Sergiev VP, Supryaga VG, Bronstein AM, Ganushkina LA, Rakova VM, Morozov EN, et al. Results of the study of dirofilariasis in Russia. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2014; 3: 3-4. (In Russ.).]
10. Pietikäinen R, Nordling S, Jokiranta S, Saari S, Heikkinen P, Gardiner C, et al. *Dirofilaria repens* transmission in southeastern Finland. *Parasit Vectors*. 2017; 10(1): 561. doi: 10.1186/s13071-017-2499-4
11. Байтингер В.Ф., Курочкина О.С., Полторацкая Т.Н., Полторацкая Н.В. Клинические случаи хирургического лечения дирофиляриоза в Томской области. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2023; 26(2): 56-63. [Baytinger VF, Kurochkina OS, Poltoratskaya TN, Poltoratskaya NV. Clinical cases of surgical treatment of dirofilariasis in the Tomsk region. *Issues of Reconstructive and Plastic Surgery*. 2023; 26(2): 56-63. (In Russ.).] doi: 10.52581/1814-1471/85/07
12. Казайкин В.Н., Гурьев А.В., Лизунов А.В., Мазин Д.А. Редкий случай интраокулярного дирофиляриоза. Способ хирургического удаления. *Офтальмология*. 2019; 16(4): 556-560. [Kazaykin VN, Guryev AV, Lizunov AV, Mazein DA. Rare case of intraocular dirofilariasis. Surgical removing method. *Ophthalmology in Russia*. 2019; 16(4): 556-560. (In Russ.).] doi: 10.18008/1816-5095-2019-4-556-560
13. Riebenbauer K, Weber PB, Walochnik J, Karlhofer F, Winkler S, Dorfer S, et al. Human dirofilariasis in Austria: The past, the present, the future. *Parasit Vectors*. 2021; 14(1): 227. doi: 10.1186/s13071-021-04696-4
14. Колесова Г.Г., Решетников А.Д., Слепцов Е.С., Барашкова А.И. Дирофиляриоз плотоядных животных в Якутии, способ выделения из крови микрофилярий. *Российский паразитологический журнал*. 2013; (3): 87-91. [Kolesova GG, Reshetnikov AD, Sleptsov ES, Barashkova AI. Dirofilariasis of carnivorous in Yakutia, the method of isolation filarial larvae from the blood of dogs. *Russian Journal of Parasitology*. 2013; (3): 87-91. (In Russ.).]
15. Файзрахманов Р.Р., Богданова В.А., Лебедько М.С., Босов Э.Д. Дирофиляриоз витреальной полости. *Клинические случаи в офтальмологии*. 2023; 1: 25-29. [Fayzrakhmanov RR, Bogdanova VA, Lebed'ko MS, Bosov ED. Dirofilariasis in the vitreal cavity. *Clinical Cases in Ophthalmology*. 2023; 1: 25-29. (In Russ.).] doi: 10.25276/2949-4494-2023-1-25-29
16. Gupta P, Pradeep S, Biswas J, Rishi P, Muthusamy R. Extensive chorio-retinal damage due to *Dirofilaria repens* – Report of a case. *Ocul Immunol Inflamm*. 2021; 29(6): 1142-1144. doi: 10.1080/09273948.2020.1727532

Сведения об авторах

Архипов Егор Владимирович – врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: egorar8@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8645-7930>

Зайка Владимир Александрович – кандидат медицинских наук, заведующий витреоретинальным отделением, врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: vaz.baikal@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9100-1751>

Кузьмин Сергей Владимирович – заведующий операционным блоком, врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: skz9093@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1590-7743>

Самсонов Дмитрий Юрьевич – кандидат медицинских наук, заведующий научно-образовательным отделом, врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: dsamsonoff@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7971-4521>

Нефедьева Марина Дмитриевна – врач-эпидемиолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: marina-nefedeva77@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-8226-0142>

Журавская Кристина Романовна – врач-офтальмолог, ООО «Центр современной офтальмологии», e-mail: kristina1994tih@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-5527-8728>

Information about the authors

Egor V. Arkhipov – Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: egorar8@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8645-7930>

Vladimir A. Zaika – Cand. Sc. (Med.), Head of the Vitreoretinal Department, Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: vaz.baikal@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9100-1751>

Sergei V. Kuzmin – Head of the Surgical Unit, Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: skz9093@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1590-7743>

Dmitrii Yu. Samsonov – Cand. Sc. (Med.), Head of the Research and Educational Department, Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: dsamsonoff@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7971-4521>

Marina D. Nefedieva – Epidemiologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: marina-nefedeva77@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-8226-0142>

Kristina R. Zhuravskaya – Ophthalmologist, Center of Modern Ophthalmology, e-mail: kristina1994tih@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-5527-8728>

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОФТАЛЬМОДЕМОДЕКОЗА

Попова Д.А.,
Курсакова Ю.В.

Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ
«МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (664033, г. Иркутск,
ул. Лермонтова, 337, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Попова Дарья Алексеевна,
e-mail: dashenka.22@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Демодекоз занимает лидирующее положение среди всех дерматозов. Согласно МКБ-10, он не выделяется как отдельное заболевание, относится к классу паразитарных болезней. Актуальность изучения проблемы офтальмодемодекоза обусловлена его высокой распространённостью и контагиозностью, хроническим течением, открытым вопросом о роли клеща *Demodex* в возникновении воспалительных заболеваний глаз, а также отсутствием эффективных методов лечения и профилактики данной патологии. Помимо этого, *Demodex* вызывает дискомфорт и способствует возникновению косметических дефектов, что в свою очередь ухудшает качество жизни пациента.

Цель работы. Представить обзор литературных данных и собственных результатов лабораторной диагностики офтальмодемодекоза.

Материалы и методы. В статье представлены клинические случаи демодекозного поражения век с различными исходами заболевания при аналогичном лечении. Лабораторная диагностика включала в себя составление акарограммы. Материалом для обнаружения клещей на веках служили эпилированные ресницы. Подсчёт особей осуществлялся методом световой микроскопии, учитывались все формы развития клеща. Приведена статистика частоты обследования пациентов с подозрением на демодекоз в различное время года с подтверждением сезонности данного заболевания. Литературный обзор включал в себя данные об истории изучения клеща рода *Demodex*, существующие гипотезы и теории о его патогенезе, а также информацию об отечественных и зарубежных методах лечения офтальмодемодекоза, включая современные аппаратные методики.

Результаты. Клещ рода *Demodex* играет значительную роль в развитии блефаритов и блефароконъюнктивитов. Важно учитывать то, что демодекоз может возникать на фоне воспалительных заболеваний глаз другой этиологии. Терапия офтальмодемодекоза в настоящее время остаётся сложной, длительной и малоэффективной. При оценке результатов акарограммы клинически значимыми являются любые обнаруженные стадии клеща, а также не во всех случаях наблюдается прямая зависимость между количеством обнаруженных клещей и тяжестью клинических проявлений.

Ключевые слова: *Demodex*, блефароконъюнктивит, лабораторная диагностика, офтальмодемодекоз, IPL-терапия

Статья поступила: 02.03.2023
Статья принята: 02.02.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Попова Д.А., Курсакова Ю.В. Некоторые аспекты лабораторной диагностики офтальмодемодекоза. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 142-150. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.15

SOME ASPECTS OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF OPHTHALMODEMODECOSIS

**Popova D.A.,
Kursakova Yu.V.**

Irkutsk Branch of the S. Fyodorov
Eye Microsurgery Federal State Institution
(Lermontova str. 337, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

Corresponding author:
Daria A. Popova,
e-mail: dashenka.22@mail.ru

ABSTRACT

Demodicosis occupies a leading position among all dermatoses. According to ICD-10, it is not distinguished as a separate disease; it belongs to the class of parasitic diseases. The relevance of studying the problem of ophthalmodemodosis is caused by its high prevalence and contagiousness, chronic course, an open issue of the role of the Demodex mite in the occurrence of inflammatory eye diseases, as well as the lack of effective methods for treating and preventing this pathology. In addition, Demodex causes discomfort and contributes to the occurrence of cosmetic defects, which in turn worsens the patient's quality of life.

The aim. To present a review of the literature data and our own results of laboratory diagnostics of ophthalmodemodosis.

Materials and methods. The article presents clinical cases of demodectic eyelid lesions with different disease outcomes in case of similar treatment. Laboratory diagnostics included drawing up an acarogram. Epilated eyelashes were used as a material for detecting mites on eyelids. Counting of individuals was carried out using light microscopy; all forms of mite development were taken into account. The work presents the statistics on the frequency of examination of patients with suspected demodicosis at different times of the year, confirming the seasonality of this disease. The literature review included data on the history of studying the Demodex mite, existing hypotheses and theories about its pathogenesis, as well as the information on domestic and foreign methods of treating ophthalmodemodosis, including modern hardware techniques.

Results. Demodex mites play a significant role in the development of blepharitis and blepharoconjunctivitis. It is important to consider that demodicosis can occur against the background of inflammatory eye diseases of another etiology. Therapy for ophthalmodemodosis currently remains complex, lengthy and ineffective. When assessing the results of an acarogram, any detected stages of a mite are clinically significant, and there isn't a direct relationship between the number of detected mites and the severity of clinical manifestations in all cases.

Key words: Demodex, blepharoconjunctivitis, laboratory diagnostics, ophthalmodemodosis, IPL therapy

Received: 02.03.2023
Accepted: 02.02.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Popova D.A., Kursakova Yu.V. Some aspects of laboratory diagnostics of ophthalmodemodosis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 142-150. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.15

Воспалительные заболевания глаз демодекозной этиологии имеют широкое распространение во всём мире. Известно, что клещи рода *Demodex* играют определённую роль в развитии различных заболеваний, а также осложняют их течение [1]. К числу таких заболеваний относят блефарит, блефароконъюнктивит, халязион, эписклерит, краевой кератит. По данным собственных исследований, у значительного числа больных встречается бессимптомное носительство. Частота заболеваемости демодекозом у мужчин и женщин одинакова. У лиц старше 70 лет вероятность обнаружения клеща составляет почти 100 % [2].

Демодекоз – инфекционное заболевание, вызванное паразитированием условно-патогенного клеща рода *Demodex*. Клещ размножается в волосяных фолликулах, сальных железах и в основном поражает область лица и наружных ушных раковин, а в редких случаях – кожу груди и спины [3].

Впервые клещ *Demodex* был описан как червь Якобом Генле в 1841 г. Позже он правильно классифицирован как человеческий клещ *Acarus folliculorum* дерматологом Карлом Густавом Теодором Саймоном. В 1843 г. Ричард Оуэн называет клеща *Demodex*. В ходе исследований в 1970 г. Л.Х. Акбулатовой были обнаружены и описаны две формы клеща: *Demodex folliculorum brevis* и *Demodex folliculorum longus*, – паразитирующие на человеке [4].

Demodex folliculorum longus имеет длинное тело, преимущественным местом его локализации являются волосяные фолликулы. Вторая форма *Demodex folliculorum brevis* имеет более короткое тело и паразитирует в мейбомиевых железах и железах Цейса. Всё тело клеща покрывает хитиновая оболочка, ноги короткие, с наличием ноготков на концах (рис. 1).

После оплодотворения самцы гибнут, а самки в полости волосяных фолликул откладывают яйца. Цикл развития клеща состоит из пяти фаз и длится около 15–25 суток. *Demodex* питается секретом сальных желёз и цитоплазмой эпителиальных клеток. На жизнеспособность клещей не влияют ни низкие температуры, ни низкая влажность, но при температуре ниже 14 °C они впадают в состояние оцепенения. В воде они жизнеспособны до 25 дней (при температуре 12–15 °C), в гное и омертвевших слоях кожи – 20 дней, в сухом воздухе – 36 ч. Наиболее активны клещи рода *Demodex* при температуре 30–40 °C, а при высокой температуре (53–55 °C) они гибнут спустя 18 дней. В косметическом креме, растительном масле, вазелине клещи сохраняют свою жизнедеятельность длительное время [5].

Относительно патогенности клеща рода *Demodex* выделяют несколько основных гипотез. Некоторые авторы считают, что клещ проявляет свою патогенность при переносе микроорганизмов в сальные железы и волосяные фолликулы. В качестве примера может служить *Bacillus oleronius*, обнаруженная на поверхности клеща и способная активизировать как самих клещей, так и другие микроорганизмы, а её белки вызывают увеличение провоспалительных цитокинов (интерлейкин (ИЛ) 6 и ИЛ-1b).



РИС. 1.

Клещ *Demodex folliculorum longus*. Фото выполнено с использованием цифровой камеры Ломо МС-8.3 (АО «Ломо», Россия); увеличение $\times 400$

FIG. 1.

Demodex folliculorum longus mite. The photo was taken using a digital camera Lomo MS-8.3 (AO Lomo, Russian Federation); magnification $\times 400$

Следующая гипотеза основана на том, что клещи начинают проявлять активность под действием эндогенных и экзогенных факторов, способствующих снижению иммунитета (сахарный диабет, заболевания желудочно-кишечного тракта, нарушение функций щитовидной железы, сердечно-сосудистые заболевания, вредные привычки и стрессы) [6].

Зарубежные авторы приводят данные, отражающие связь подъёма заболеваемости в весенне-летний период, что объясняется повышенным синтезом поддерживающих воспалительный процесс молекул кателицидинов (LL-37-природный антимикробный барьер) в результате выработки организмом витамина D под действием ультрафиолетового излучения [7].

По данным исследований, выполненных в Иркутском филиале ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России за период 2017–2022 гг., также видно, что клинические проявления демодекоза имеют свою сезонность (рис. 2).

Клещи рода *Demodex* и продукты их жизнедеятельности вызывают химическое и механическое раздражение. Своими челюстями (хелицерами) они разрушают клетки кожи. Это приводит к воспалению в виде инфильтратов и отложению белка кератина и липидов в роговом слое. По мнению Ю.Н. Кошевенко (2008), в результате жизнедеятельности клеща при накоплении продуктов метаболизма создаются условия для присоединения различных инфекций [8].

А.Я. Варепетов (1972) утверждает, что «одним из результатов деятельности клеща является застой кожного сала, что приводит к длительной ирритации нервно-рецепторного аппарата сально-волосяного фолликула» [9].

Следуя другой теории, клещи рода *Demodex* способны вызывать различные иммунные реакции. В научной литературе имеются данные о нарушениях клеточного звена иммунитета, проявляющихся в снижении фагоцитоза и экспрессии CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, повышении выработки

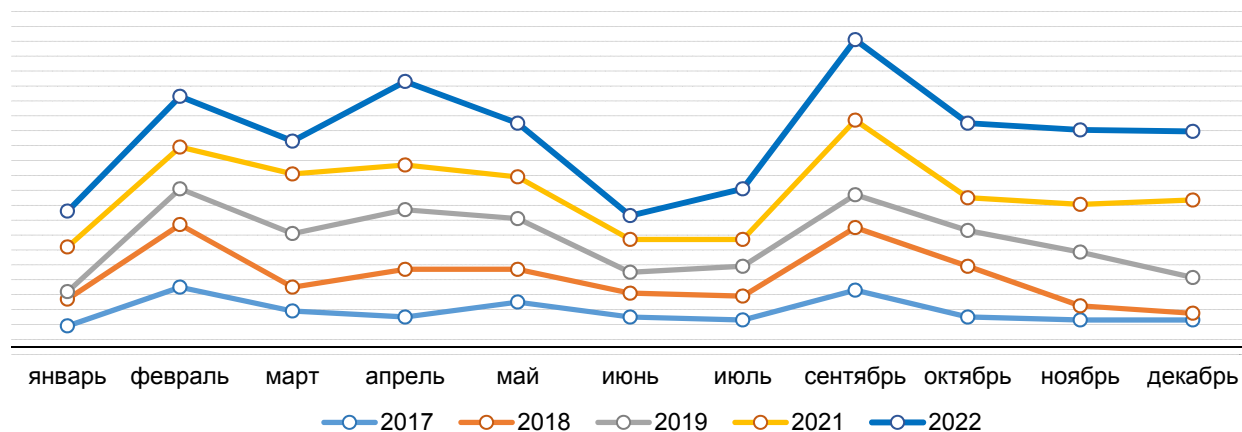


РИС. 2.

Распределение количества лабораторных исследований демодекоза (акарограмм) в течение года

FIG. 2.

Distribution of the number of laboratory studies of demodocosis during the year

CD22⁺, IgM, фактора некроза опухоли α , ИЛ-4, ИЛ-6, усиления фагоцитоза и экспрессии CD25⁺, CD95⁺, HLA-DR⁺ [10].

Имеются исследования, на которых базируется теория о генетической предрасположенности к заболеванию демодекозом [11].

До настоящего времени нет единого мнения об этиологии и патогенезе клеща рода *Demodex*. Все существующие гипотезы и теории противоречивы и многообразны.

В 1979 г. Н.Д. Зацепиной и соавт. была предложена следующая классификация демодекоза органа зрения: «бессимптомное носительство, стёртые формы, демодекозный блефароконъюнктивит (неосложнённый, осложнённый), демодекозный эписклерит, демодекозный кератит, демодекозный иридоциклит» [12]. Известно, что офтальмодемодекоз может как выступать в качестве самостоятельного заболевания, так и сочетаться с демодекозом других участков тела.

На приёме у офтальмолога пациенты предъявляют следующие жалобы: чувство «инородного тела» в глазах, периодический дискомфорт, рези, зуд век, иногда бровей, густое отделяемое в углах глаз [13]. При осмотре пациента отмечается следующее: края век утолщены, гиперемизированы, протоки мейбомиевых желёз заполнены густым секретом, наблюдается поверхностный налёт в виде «муфт» у корня ресниц [14].

Только после проведения лабораторной диагностики возможна постановка диагноза «демодекоз». За 1 день до исследования пациенту рекомендуется не пользоваться декоративной и лекарственной косметикой, а также по возможности не использовать глазные капли. Материалом для исследования служат эпилированные ресницы, по 4 штуки с каждого века. Данный материал помещается на предметное стекло, в каплю глицерина, накрывается покровным стеклом и исследуется в световом микроскопе при увеличении $\times 100$.

Идентификация паразита базируется на составлении акарограммы путём подсчёта различных стадий развития (личинки, яйца и взрослых особей) (рис. 3).

Акарограмма является объективным диагностическим критерием. Наличие в препарате более 4 особей является признаком клещевой активности. Как показывает клиническая практика, при стёртой клинике блефаритов может встречаться большое количество клещей на краях век, и, напротив, при ярком течении заболевания, которое требует лечения, клещи могут определяться в незначительном количестве.

Курс лечения при офтальмодемодекозе может длиться 30–40 дней с последующим повторным лечением через 2–3 месяца. Трёхслойная кутикула, плотно покрывающая поверхность клеща *Demodex*, создаёт препятствие для действия препаратов.

На сегодняшний день основным методом лечения блефаритов в России является комплексное применение противовоспалительной, антибактериальной, противопаразитарной терапии с проведением терапевтической гигиены век и использованием слезозаместительных препаратов.

Противовоспалительная терапия используется для устранения отёчности и гиперемии. Мази на основе кортикостероидов, снижая местный иммунитет, способствуют увеличению количества клещей, поэтому их применение не рекомендуется [15].

Важным в лечении офтальмодемодекоза является проведение терапевтической гигиены век. Данный метод лечения предложил профессор Г.С. Полунин в 2007 г. [16]. Проводится трёхэтапная гигиена век: вначале, благодаря тёплым компрессам, улучшается обмен веществ; массаж век позволяет добиться эвакуации вязкого секрета; далее края век обрабатываются обеззараживающими и акарицидными средствами.

В настоящее время на мировом рынке существует большое количество современных приборов для обогрева, увлажнения и массажа век: в российской офтальмологической практике наиболее широкое применение получила маска Blephasteam [17], а также система LipiFlow, с помощью которой осуществляется одновременное воздействие на внутреннюю поверхность верх-

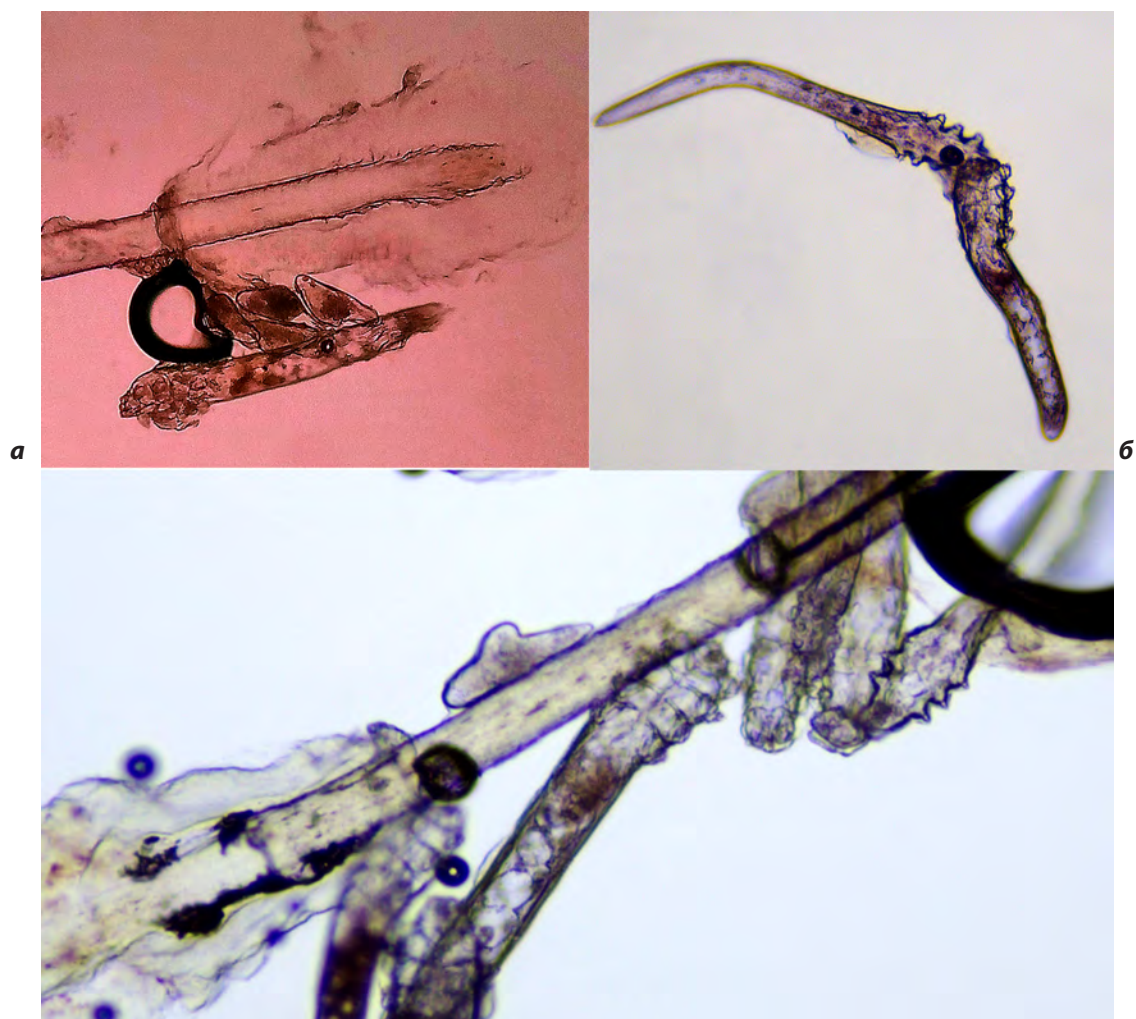


РИС. 3.

Стадии развития клеща *Demodex folliculorum longus*: **а** – взрослая особь и 4 яйца; **б** – взрослая особь и личинка; **в** – взрослые особи, личинки и яйцо (увеличение $\times 100$)

FIG. 3.

Different stages of *Demodex folliculorum longus* mite development: **a** – an adult specimen and 4 eggs; **б** – an adult specimen and a larva; **в** – adult specimens, larvae and an egg (magnification $\times 100$)

него и нижнего века теплом и пульсирующим механическим давлением.

В Европе для лечения болезни сухого глаза и восстановления функций мейбомиевых желёз используется аппарат Optima IPL. В 2002 г. V.G. Prieto и соавт. обнаружили, что применение IPL-терапии (англ. intense pulsed light) привело к коагуляционному некрозу клещей рода *Demodex* и уменьшению перифолликулярного лимфоидного инфильтрата [18]. Доктор Роландо Тойос отработал специальный протокол лечения, который позволяет максимально эффективно элиминировать клеща *Demodex* на длительное время [19].

Через месяц от начала лечения проводится контрольная акарограмма, и при отсутствии динамики или увеличении количества особей применяют антипаразитарные (акарицидные) препараты. Известно, что хлороформ, карболовая кислота, дёготь, крезол, эфир и дихлофос убивают *Demodex* моментально. Препараты на основе данных веществ используются в ветеринарии и дерматологии, но не используются в офталь-

мологии из-за их токсичности. На протяжении многих лет высокую эффективность доказал метронидазол. Однако в последние годы лечение демодекоза метронидазолом не было успешным [20]. Также препаратом выбора может быть орнидазол.

Существует много данных об успешном применении фторхинолонов при лечении блефаритов [21]. Кроме этого, с целью антибактериальной терапии назначаются препараты на основе бензилдиметил-миристоиламинопропиламмония в виде инстилляций в конъюнктиву [22].

Было также замечено, что следствием нарушения оттока секрета мейбомиевых желёз является уменьшение липидного слоя слёзной плёнки, что ускоряет её испаряемость и вызывает развитие синдрома «сухого глаза» [23]. Применение многокомпонентных слёзаместительных препаратов (СЗП), в состав которых входят кармеллоза и гидроксипропилгуар, имеет преимущество перед применением однокомпонентных СЗП, что доказано статистически [24]. Немалое значение в лечении блефаритов демодекозной этиологии имеют спиртовые раство-

ры календулы, полыни, масло чайного дерева, оказывающие противомикробное и антисептическое действие.

Отмечено, что холиномиметики, используемые при лечении глаукомы, за счёт мускарино- и никотиноподобного действия парализуют мускулатуру клещей. К таким препаратам относятся 0,02%-й фосфакол, физостигмин, 0,5%-й тосмилен, 0,01%-й армин [2].

Клещ *Demodex* не переносит щелочную среду, и поэтому в качестве симптоматического лечения используются глазные щелочные капли и капли цинка сульфата в борной кислоте.

Важное значение в лечении офтальмодемодекоза имеют санация очагов инфекции, лечение сопутствующих заболеваний, ограничение пребывания на солнце и употребление с пищей полиненасыщенных жирных кислот типа Омега-3 [25].

Представленные выше современные подходы к диагностике и лечению офтальмодемодекоза можно продемонстрировать клиническими случаями.

Клинический случай № 1

Пациентка Л., 66 лет, обратилась с жалобами на снижение зрения вблизи, сухость, дискомфорт, зуд век обоих глаз.

При биомикроскопии выявлено следующее: интермаргинальные края век утолщены; мейбомиевы железы заполнены собственным содержимым. На ресницах мелкие муфты серого цвета.

Пациентке проведён анализ на демодекоз; по результатам акарограммы обнаружены 8 взрослых особей, 1 личинка и 1 яйцо (рис. 4).



РИС. 4.
Клещи *Demodex folliculorum longus*. Увеличение $\times 100$; объектив 10/0,25; окуляры WF 10 $\times$ /22

FIG. 4.
Demodex folliculorum longus mites. Magnification $\times 100$; lens 10/0.25; ocular WF 10 $\times$ /22

Поставлен диагноз: хронический демодекозный блефарит обоих глаз.

Назначено лечение: массаж век № 1–2; умывание дегтярным мылом; приём Трихопола; обработка краёв век Блефарогелем-2, спиртовым раствором календулы. Капли Оксиал (или Хило-комод, Теалоз) по 1 капле 3 раза в день в оба глаза в течение 1 месяца, далее – по потребности. Приём витаминных препаратов с лютеином, зеаксантином, Омега-3, 6 по 2 курса в год. Ношение солнцезащитных очков.

Пациентка пришла на контрольный осмотр через 2 месяца. По результатам акарограммы обнаружены 4 взрослых особи, 2 личинки и 1 яйцо.

Было рекомендовано продолжение лечения; консультация дерматолога по месту жительства.

Пациентка пришла на контрольный осмотр через 2 месяца.

Субъективно: после пройденного лечения отмечает улучшение – исчезновение зуда век обоих глаз.

Объективно: кожа век без особенностей; по результатам акарограммы клещей рода *Demodex* не обнаружено.

Клинический случай № 2

Пациентка В., 49 лет, обратилась с жалобами на низкое зрение обоих глаз вдаль, дискомфорт, зуд век обоих глаз. Обращалась к дерматологу по месту жительства по поводу лечения угревой сыпи.

Сопутствующие заболевания: эутиреоз.

При осмотре интермаргинальные края век утолщены.

Пациентке проведён анализ на демодекоз; по результатам акарограммы обнаружено 18 взрослых особей, 8 личинок и 7 яиц (рис. 5).



РИС. 5.
Клещи *Demodex folliculorum longus*. Фото выполнено с использованием цифровой камеры Ломо МС-8.3 (АО «Ломо», Россия); увеличение $\times 100$; объектив 10/0,25; окуляры WF 10 $\times$ /22

FIG. 5.
Demodex folliculorum longus mites. The photo was taken using a digital camera Lomo MS-8.3 (AO Lomo, Russian Federation); magnification $\times 100$; lens 10/0.25; ocular WF 10 $\times$ /22

Поставлен диагноз: демодекозный блефарит обоих глаз. Назначено лечение: капли Стиллавит (или Систейн ультра, Визмед) по 1 капле 3 раза в день в оба глаза в течение 1 месяца, далее – по потребности. Приём Трихопола, обработка век Блефаролосьоном, Блефарогелем-2. Повторный осмотр после курса лечения.

Пациентка пришла на контрольный осмотр через 1 месяц.

Субъективно: отмечает уменьшение жалоб.

Объективно: интермаргинальные края век утолщены.

По результатам повторной акарограммы обнаружено 21 взрослая особь, 1 личинка и 1 яйцо.

Рекомендовано продолжить местное лечение демодекозного блефарита.

Пациентка пришла на контрольный осмотр через 3 месяца.

Субъективно: отмечает исчезновение жалоб.

Объективно: придаточный аппарат глаза без особенностей.

Результат акарограммы: обнаружены 5 взрослых особей и 1 личинка.

Клинический случай № 3

Пациент Н., 49 лет, обратился с жалобами на недостаточное зрение обоих глаз, периодическое покраснение и шелушение кожи век.

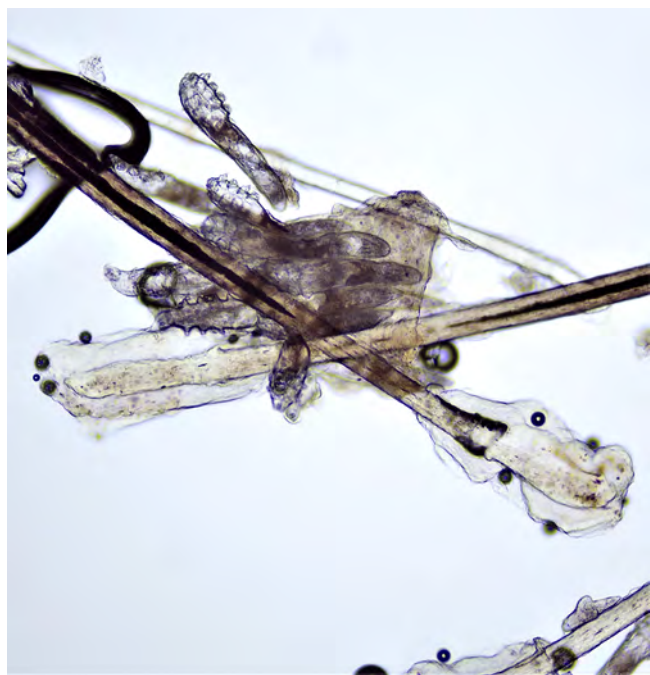


РИС. 6.

Клещи *Demodex folliculorum longus* (взрослые особи, личинка и яйцо). Фото выполнено с использованием цифровой камеры Ломо МС-8.3 (АО «Ломо», Россия); увеличение $\times 100$; объектив 10/0,25; окуляры WF 10 $\times$ /22

FIG. 6.

Demodex folliculorum longus mites (adults, larvae and an egg). The photo was taken using a digital camera Lomo MS-8.3 (AO Lomo, Russian Federation); magnification $\times 100$; lens 10/0.25; ocular WF 10 $\times$ /22

Осмотр: кожа век умеренно гиперемирована, на ресницах единичные чешуйки.

Результат акарограммы: обнаружено 5 особей.

Назначено лечение демодекоза по месту жительства: тепловые компрессы на кожу век 2 раза в день в течение 2 месяцев; Блефаролосьон – обработка краёв кожи век 2 раза в день в течение 2 месяцев; Блефарогель-2 – обработка края кожи век 2 раза в день в течение 2 месяцев.

Пациент пришёл на контрольный осмотр через 2 месяца.

Результат акарограммы: обнаружено 14 особей (рис. 6).

К лечению добавлен приём Трихопола по 0,25 мг по схеме на 1 месяц.

Пациент пришёл после лечения демодекоза на контрольный осмотр через 2 месяца.

Осмотр: кожа век без особенностей.

Результат акарограммы: обнаружено 16 особей.

Рекомендовано продолжить лечение.

Пациент пришёл на осмотр спустя 4 года.

Осмотр: кожа век розовая, на ресницах единичные «муфты».

Результат акарограммы: обнаружено 19 особей.

Таким образом, несмотря на проводимую терапию, положительная динамика не получена.

ВЫВОДЫ

Приведённые в данном обзоре данные позволяют сделать вывод, что, несмотря на большое разнообразие препаратов и косметических средств для лечения офтальмодемодекоза, терапия остаётся сложной, длительной и малоэффективной.

В лечении, стремясь комплексно воздействовать на проблему, стоит избегать обилия выписываемых препаратов, так как это снижает приверженность пациентов к лечению.

При оценке результатов акарограммы клинически значимыми являются любые обнаруженные стадии клеща.

Использование мазей, слезозаместительных препаратов может усугубить течение заболевания.

Нельзя недооценивать значение клещей рода *Demodex* в развитии блефаритов и блефароконъюнктивитов, а также нужно учитывать то, что демодекоз может возникать на фоне воспалительных заболеваний глаз другой этиологии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Майчук Ю.Ф. Глазные инфекции. *РМЖ*. 1999; (1): 7. [Maychuk YuF. Eye infections. *Russian Medical Journal*. 1999; (1): 7. (In Russ.).]

2. Азнабаев М.Т., Гумерова Е.И., Мальханов В.Б. Демодекоз глаз. *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2003; 4(1): 7-9. [Aznabaev MT, Mal'khanov VB, Gumerova EI. Eye demodicosis. *Russian Medical Journal. Clinical Ophthalmology*. 2003; 4(1): 7-9. (In Russ.).]
3. Шварц Н.Е., Плотникова К.О. Новые методы рациональной терапии демодекоза. *Современная медицина: актуальные вопросы*. 2015; 1(37). [Schwartz NE, Plotnikova KO. New methods of rational demodicosis therapy. *Sovremennaya meditsina: aktual'nye voprosy*. 2015; 1(37). (In Russ.).]
4. Акбулатова Л.Х. Морфология двух форм клеща *Demodex folliculorum hominis* и его роль в заболеваниях кожи человека: автореф дис. ... канд. мед. наук. Ташкент; 1968. [Akbulatova LKh. *Morphology of two forms of the Demodex folliculorum hominis mite and its role in human skin diseases*: Abstract of Thesis of Cand. Sc. (Med.). Tashkent; 1968. (In Russ.).]
5. Кубанова А.А., Галлямова Ю.А., Гревцева А.С. Демодекоз: учебное пособие. М.: ГБОУ ДПО РМАПО; 2014. [Kubanova AA, Gallyamova YuA, Grevtseva AS. *Demodicosis: Textbook*. Moscow; 2014. (In Russ.).]
6. Данилова А.А., Федоров С.М. Паразитарные болезни кожи. Демодекоз. *Русский медицинский журнал*. 2000; 8(6): 249-254. [Danilova AA, Fedorov SM. Parasitic skin diseases. Demodicosis. *Russian Medical Journal*. 2000; 8(6): 249-254. (In Russ.).]
7. Кубанова А.А., Махакова Ю.Б. Розацеа: распространенность, патогенез, особенности клинических проявлений. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015; 3: 36-45. [Kubanova AA, Makhakova YB. Rosacea: Prevalence, pathogenesis, particular features of clinical manifestations. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2015; 91(3): 36-45. (In Russ.). doi: 10.25208/0042-4609-2015-91-3-36-45]
8. Кошевенко Ю.Н. *Справочник по дерматокосметологии для врачей и студентов*. М.: Академия косметологии; 2005. [Koshevenko YuN. *Handbook of dermatocosmetology for doctors and students*. Moscow: Akademiya kosmetologii; 2005. (In Russ.).]
9. Кравченко А.С. Клинические и диагностические особенности розацеа при выявлении клещей рода *Demodex*: дис. ... канд. мед. наук. М.; 2019. [Kravchenko AS. *Clinical and diagnostic features of rosacea in the detection of Demodex mites*: Thesis of Cand. Sc. (Med.). Moscow; 2019. (In Russ.).]
10. Юцковская Я.А., Кусая Н.В., Ключник С.Б. Обоснование патогенетической терапии при акнеподобных дерматозах, осложненных клещевой инвазией *Demodex folliculorum*. *Клиническая дерматология и венерология*. 2010; 3: 60-63. [Iutskovskaia IaA, Kusaia NV, Kliuchnik SB. Rationale for pathogenetic therapy for acne-like dermatoses complicated by *Demodex folliculorum* infestation. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*. 2010; 8(3): 60-63. (In Russ.).]
11. Бутов Ю.С., Акилов О.Е. Факторы успешной колонизации клещами рода *Demodex* spp. кожи человека. *Вестник последилового медицинского образования*. 2002; 1: 87. [Butov YuS, Akilov OE. Factors of successful colonization of human skin by *Demodex* spp. mites. *Vestnik of Postgraduate Medical Education*. 2002; 1: 87. (In Russ.).]
12. Зацепина Н.Д., Майчук Ю.Ф., Семенова Г.Я. Поражение глаз при демодекозе: методические рекомендации. М.; 1983. [Zatsepina ND, Maichuk YuF, Semenova GYa. *Eye damage in demodicosis: guidelines*. Moscow; 1983. (In Russ.).]
13. Иванова Н.В., Воронова Н.Н., Анисова С.Ю. Клиническая эффективность средств Stop Demodex в комплексном лечении больных демодекозным блефароконъюнктивитом. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2012; 2(1-2): 42-45. [Ivanova NV, Voronova NN, Anisova SYu. Clinical effectiveness of Stop Demodex products in the complex treatment of patients with demodectic blepharoconjunctivitis. *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012; 2(1-2): 42-45. (In Russ.).]
14. Васильева А.М., Чемоданова Л.Е. Диагностика и клиника демодекоза век. *Офтальмологический журнал*. 1979; 1: 40-42. [Vasilyeva AM, Chemedanova LE. Diagnosis and clinic of demodicosis of the eyelids. *Journal of Ophthalmology*. 1979; 1: 40-42. (In Russ.).]
15. Fulk GW, Clifford C. A case report of demodicosis. *J Am Optom Assoc*. 1990; 61(8): 637-639.
16. Савченко Н.В., Пиховская И.Г., Жиров А.Л. Новый способ лечения демодекозного блефароконъюнктивита. *Современные технологии в офтальмологии*. 2014; (2): 133-135. [Savchenko NV, Pikhovskaya IG, Zhiron AL. A new way to treat demodex blepharoconjunctivitis. *Modern Technologies in Ophthalmology*. 2014; (2): 133-135. (In Russ.).]
17. Медведев И.Б., Трубилин В.Н., Полунина Е.Г., Дергачева Н.Н., Анджелова Д.В., Евстигнеева Ю.В. Современные возможности физиотерапевтического лечения дисфункции мейбомиевых желез. *Офтальмология*. 2022; 19(2): 235-241. [Medvedev IB, Trubilin VN, Polunina EG, Dergacheva NN, Andzhelova DV, Evstigneeva YuV. Modern possibilities of physiotherapeutic treatment in meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology in Russia*. 2022; 19(2): 235-241. (In Russ.). doi: 10.18008/1816-5095-2022-2-235-241]
18. Prieto VG, Sadick NS, Lloreta J, Nicholson J, Shea ChR. Effects of intense pulsed light on sun-damaged human skin, routine, and ultrastructural analysis. *Lasers Surg Med*. 2002; 30(2): 82-85. doi: 10.1002/lsm.10042
19. Toyos R, McGill W, Briscoe D. Intense pulsed light treatment for dry eye disease due to meibomian gland dysfunction; a 3-year retrospective study. *Photomed Laser Surg*. 2015; 33(1): 41-46. doi: 10.1089/pho.2014.3819
20. Франкенберг А.А., Шевченко В.А., Кривко С.В., Шляхова В.К. Опыт применения препарата «Орнизол» в комплексной терапии демодекоза. *Червень*. 2007; 2: 10-12. [Frankenberg AA, Shevchenko VA, Krivko SV, Shlyakhova VK. Experience of using the drug "Ornizol" in the complex therapy of demodicosis. *Cherven*. 2007; 2: 10-12. (In Russ.).]
21. Смагулова А.Ж. Терапевтическая эффективность фторхинолонов в лечении демодекоза век. *Клиническая медицина Казахстана*. 2012; 1(24): 47-49. [Smagulova AZh. Therapeutic effectiveness of fluoroquinolones in the treatment of demodicosis of the eyelids. *Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2012; 1(24): 47-49. (In Russ.).]
22. Макаров И.А. Роль антимикробного препарата «Окомистин» в комплексном лечении хронических блефароконъюнктивитов. *Практическая медицина*. 2015; 8(4): 53-58. [Makarov IA. The role of the antimicrobial drug "Okomistin" in the complex treatment of chronic blepharoconjunctivitis. *Practical Medicine*. 2015; 8(4): 53-58. (In Russ.).]
23. Забегайло А.О., Полунин Г.С., Полунина Е.Г. Современные представления о блефароконъюнктивальной форме

синдрома сухого глаза. *Вестник офтальмологии*. 2007; 2: 45-49. [Zabegailo AO, Polunin GS, Polunina EG. Modern ideas about the blepharconjunctival form of dry eye syndrome. *Vestnik Oftalmologii*. 2007; 2: 45-49. (In Russ.)].

24. Шокирова М.М., Копеева В.Г. Оценка эффективности патогенетического слезозаместительного компонента в комплексном поэтапном лечении задних блефаритов, сочетанных с демодекозным поражением краев век. *Офтальмохирургия*. 2017; 1: 78-82. [Shokirova MM, Kopyeva VG. Evaluation of pathogenetic component of lacrimal substitutive therapy in the complex

stage-by-stage treatment of posterior blepharitis, associated with demodectic lesions of the eyelid margins. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2017; 1: 78-82. (In Russ.)].

25. Киселева Т.Н. Полиненасыщенные жирные кислоты Омега-3: роль в патогенезе заболеваний глаз и перспективы применения офтальмологии. *Вестник офтальмологии*. 2010; 6: 58-62. [Kiseleva TN. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: Role in the pathogenesis of eye diseases and prospects for the use of ophthalmology. *Vestnik Oftalmologii*. 2010; 6: 58-62. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Попова Дарья Алексеевна – врач клинической лабораторной диагностики, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: dashenka.22@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8079-7472>

Курсакова Юлия Владимировна – заведующий клинико-диагностической лабораторией, врач клинической лабораторной диагностики высшей категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: julia.kursakova1970@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3857-6844>

Information about the authors

Daria A. Popova – Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: dashenka.22@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8079-7472>

Julia V. Kursakova – Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: julia.kursakova1970@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3857-6844>

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

PSYCHOMETRIC PROPERTIES OF THE ABBREVIATED MATH ANXIETY SCALE ON A SAMPLE OF RUSSIAN HIGH SCHOOL STUDENTS

Marakshina J.A.¹,
Pavlova A.A.¹,
Ismatullina V.I.²,
Lobaskova M.M.¹,
Adamovich T.V.¹,
Mironets S.A.¹,
Sitnikova M.A.¹,
Malykh S.B.^{1,2}

¹ Russian Academy of Education
(Pogodinskaya str. 8, Moscow 119121,
Russian Federation)

² Federal Research Center
of Psychological and Interdisciplinary
Studies (Mokhovaya str. 9 building 4,
Moscow 125009, Russian Federation)

Corresponding author:
Julia A. Marakshina,
e-mail: retalika@yandex.ru

ABSTRACT

Background. Math anxiety is a state of fear and anxiety that an individual experiences when interacting with mathematical problems. Currently, there is a lack of questionnaires to measure mathematical anxiety for Russian-speaking schoolchildren.

The aim. The study analyzed the factor structure and psychometric properties of the Abbreviated Math Anxiety Scale (AMAS).

Materials and methods. The study involved 1,198 schoolchildren in grades 10–11. The psychometric properties of the AMAS were analyzed.

Results. AMAS demonstrated bifactor structure: subscales of Learning Math Anxiety (LMA) and Math Evaluation Anxiety (MEA) and general scale of Math Anxiety. The bifactor model demonstrated the best fit indices. Analysis confirmed reliable internal consistency (Cronbach's alphas for LMA = 0.82, MEA = 0.75, total AMAS = 0.95). External validity of AMAS has been confirmed. LMA showed lower scores than MEA. The distribution of scores on the general AMAS scale was shifted to low values. Girls showed higher scores on all scales of the questionnaire. The analysis also confirmed measurement invariance for both boys and girls.

Conclusion. Based on the analysis, we can conclude that the AMAS is a valid tool for assessing mathematical anxiety in high school students.

Key words: math anxiety, Abbreviated Math Anxiety Scale, factor validity, psychometric properties, high schoolers

Received: 23.11.2023
Accepted: 04.03.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Marakshina J.A., Pavlova A.A., Ismatullina V.I., Lobaskova M.M., Adamovich T.V., Mironets S.A., Sitnikova M.A., Malykh S.B. Psychometric properties of abbreviated math anxiety scale in Russian high schoolers. *Acta biomedica scientifica*. 2024;9(1): 151-160. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.16

ПСИХОМЕТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОКРАЩЁННОЙ ШКАЛЫ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ НА ВЫБОРКЕ РОССИЙСКИХ СТАРШЕКЛАСНИКОВ

Маракшина Ю.А.¹,
Павлова А.А.¹,
Исматуллина В.И.²,
Лобаскова М.М.¹,
Адамович Т.В.¹,
Миронец С.А.¹,
Ситникова М.А.¹,
Малых С.Б.^{1,2}

¹ ФГБУ «Российская академия образования» (119121, г. Москва, ул. Погодинская, 8, Россия)

² ФГБНУ «Федеральный научный центр психологических и междисциплинарных исследований» (125009, г. Москва, ул. Моховая, 9, стр. 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Маракшина Юлия Александровна,
e-mail: retalika@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Математическая тревожность – это состояние страха и тревоги, которое испытывает индивид, когда взаимодействует с математическими задачами. В настоящее время имеется недостаток опросников для измерения математической тревожности у русскоговорящих школьников.

Цель исследования. В исследовании анализировались факторная структура и психометрические свойства Сокращённой шкалы математической тревожности (СШМТ).

Методы. В исследовании приняли участие 1198 школьников 10–11-х классов. Производился анализ психометрических свойств по СШМТ.

Результаты. Анализ СШМТ выявил бифакторную структуру опросника с субшкалами тревожности изучения математики (ТИМ) и тревожности математической оценки (ТМО) и общей шкалой математической тревожности. Бифакторная модель продемонстрировала лучшие индексы соответствия. Анализ подтвердил надёжные оценки внутренней согласованности (альфа Кронбаха для субшкалы ТИМ = 0,82, для субшкалы ТМО = 0,75, для общей СШМТ = 0,95). Была подтверждена внешняя валидность СШМТ. ТИМ обнаружила меньшие оценки по сравнению с ТМО. Распределение оценок общей шкалы СШМТ было смещено к низким значениям. Девочки продемонстрировали более высокие показатели по всем шкалам опросника. Анализ также подтвердил инвариантность измерения как для мальчиков, так и для девочек.

Заключение. На основе проведённого анализа можно сделать вывод, что СШМТ является валидным инструментом для оценки математической тревожности у старшеклассников.

Ключевые слова: математическая тревожность, Сокращённая шкала математической тревожности, факторная валидность, психометрические свойства, старшеклассники

Статья получена: 23.11.2023

Статья принята: 04.03.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Маракшина Ю.А., Павлова А.А., Исматуллина В.И., Лобаскова М.М., Адамович Т.В., Миронец С.А., Ситникова М.А., Малых С.Б. Психометрические свойства Сокращённой шкалы математической тревожности на выборке российских старшеклассников. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 151–160. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.16

INTRODUCTION

Mathematical anxiety (MA) is a state of fear and worry that a person experiences when solving problems related to mathematics. Possible definitions are provided by Lazarus, Hembree, Ashcraft and Faust, and other authors [1].

The nature of math anxiety and math anxiety theories

Sources of MA can be found in attitudes, upbringing, and school traumas. Twin studies show that environmental factors explain up to 70 % of math anxiety [2, 3], among them such as: parents' fear of mathematics, low expectations from the child, bad school experience, gender stereotypes and other related reasons [4–12].

The theory of mechanisms of insufficient inhibition [8] describes the MA feedback loop: first, the MA is triggered by a mathematical problem; then, when an individual begins to experience anxiety, it limits their working memory and impairs their ability to solve mathematical problems, which in turn leads to incorrect solving of a mathematical problem. In other words, MA primarily affects working memory, and people who exhibit high levels of MA devote some of their working memory capacity to rumination about their anxiety. EEG source localization using specialized approaches (in particular, sLORETA) shows that brain regions such as the insula and amygdala are activated in people with MA. The insula is involved in reactions to pain, and the amygdala is associated with emotional experiences (fear, stress, anxiety). These data support the theory that explains MA by the anticipation of pain [9]. The attentional control theory of anxiety posits that anxiety reduces the effective functioning of attention and increases attention to threat-related stimuli [10]. Thus, individuals with high MA demonstrate reactive (post factum) control, whereas individuals with low anxiety demonstrate proactive (anticipatory) control.

Math anxiety and test anxiety

Since mathematics is an academic subject that is taught in most schools and universities, when studying it, schoolchildren and students inevitably face the situation of assessing their knowledge in this course. Assessment of mathematical knowledge is associated with so-called test anxiety – stress associated with passing a test, often leading to a decrease in performance (as defined by the American Psychological Association Dictionary). The concept of test anxiety began to develop in the middle of the 20th century [11]. Test anxiety has a negative impact on academic achievement and test scores. However, in the Russian context there is no instrument for measuring the level of test anxiety of students, and the terms “test anxiety” and “exam stress” are used as synonyms. When measuring MA, it is important to have a tool that can differentiate it itself from evaluation-related test anxiety. This is especially true for scales that are developed for older groups of students, since they often find themselves in knowledge assessment situations and demonstrate test anxiety.

Sex differences and gender stereotypes in the development of math anxiety

Studies show increased MA levels in girls [12]. This may be due to the influence of gender stereotypes: girls are often told that they are less mathematically inclined than boys. This influences girls' attitudes towards mathematical activities. On the other hand, some studies also report that instead of math anxiety, girls may be affected by test anxiety [13]. Thus, girls may experience more stress in a math test situation. Some studies report that in adolescence, girls begin to rate their mathematical abilities lower than boys, which can be explained by the increasing influence of gender stereotypes with age [14].

The Abbreviated Math Anxiety Scale

The Abbreviated Math Anxiety Scale (AMAS) was developed by D.R. Hopko and colleagues [15]. The scale is designed to measure MA. Each task describes a situation associated either with the process of learning mathematics or with the process of testing mathematical knowledge. Participants are required to report the level of their anxiety in the described situation on a five-point scale. Answers range from “low” to “high” anxiety. Filling out the form takes no more than 5 minutes. This scale was originally developed for undergraduate students. It consists of 9 items and includes two subscales: LMA (learning math anxiety) and MEA (math evaluation anxiety). The ability to measure both components of MA (in the situation of learning mathematics and assessing mathematical knowledge) is a noticeable advantage of this technique. At the same time, the two-factor structure is not the only one possible based on the results of analysis in different countries. Some authors report a two-factor configuration, others report a different structure, particularly with one question belonging to two scales [16–19]. The test has high internal consistency ($\alpha = 0.90$) and reliability (two-week period, $r = 0.85$) [15]. Convergent validity of the AMAS was demonstrated using the MARS-R (the Mathematics Anxiety Rating Scale) and reached $r = 0.85$. In Russia, the AMAS has not previously been tested among high school students. Validation of the AMAS will allow the use of a questionnaire that separates MA itself and anxiety associated with assessing mathematical knowledge, which is important for high school students who are constantly faced with exams and tests in mathematics. This will allow to evaluate the differences between the two components of MA in boys and girls. Thus, the purpose of this study is to confirm and evaluate such psychometric properties of the AMAS as factorial validity, internal consistency, external validity, and measurement invariance between genders in a sample of high school students in grades 10–11. Research on MA in general and its diagnostics in particular is an important step in the prevention of anxiety disorders characterized by significant and uncontrollable experiences of anxiety and fear, such that a person's social, professional and personal functions are disrupted. Our study contributes to public health by validation of MA scale aimed at early detection of MA. This investigation will help specialists to prevent the neg-

ative consequences of MA on the mental health and well-being of adolescents.

included grades 10 and 11. There were 583 children in grade 10 and 615 were in grade 11.

MATERIALS AND METHODS

Sample

Initially, 2,409 participants completed the questionnaire. The following were removed from the sample:

- those who specified their age as lower than 12 y. o.;
- those who didn't identify their sex;
- those who took less than 100 ms to complete the test;
- those who took more than 1,500 ms to complete the test;
- those with Mahalanobis distance p -value less than 0.001.

Exclusion of those who reported their age below 12 is because of the implausibility of such age for high school students. Exclusion of who did not specify their gender is due to the impossibility of including them in the analysis of gender differences. The exclusion of those who completed the test in less than 100 ms or more than 1,500 ms, as well as those with Mahalanobis distance p -value less than 0.001, is due to a high probability of poor questionnaire completion and, consequently, unreliable data [20, 21].

Thus, the final sample consisted of 1,198 schoolchildren. Age ranged from 15 to 18 years (mean = 16.52; median = 17.0; standard deviation = 0.63). Among respondents 502 (42 %) were male, 696 (58 %) were female. The study

Procedure

The study was conducted online. Informed consent was obtained from the parents of all participants. The study was approved by the Ethics Committee of the Psychological Institute of the Russian Academy of Education (protocol No. 2020/4-1 of April 2, 2020).

Scales

The Abbreviated Math Anxiety Scale (AMAS) consists of 9 items. The AMAS was adapted from the work of D.R. Hopko et al. [15]. This version has been translated into Russian by professional translators (Table 1). Translation, reverse translation and adaptation of the test were performed by the Cognitive and Interdisciplinary Research Laboratory (Sirius). The questionnaire consists of 9 items: 5 items for the Learning Math Anxiety scale and 4 items for the Math Evaluation Anxiety scale. Respondents were asked to rate each statement in terms of how anxious they felt in each of the situations described. Responses were given on a Likert scale from 1 (low anxiety) to 5 (high anxiety).

State-Trait Anxiety Inventory STAI-T (Scale of Personal Anxiety trait) [22]. This scale is one of the scales of State-Trait Anxiety Inventory (STAI-Scale) of Reactive and Personal Anxiety by Spilberger. The STAI-T assesses relatively stable aspects of anxiety proneness, including general states of calm, confidence, and security. Participants need

TABLE 1
ABBREVIATED MATH ANXIETY SCALE IN ENGLISH AND RUSSIAN

Item No.	English	Russian
1	Having to use the tables in the back of a math book.	Используя таблицы в конце учебника по математике.
2	Thinking about an upcoming math test 1 day before.	Думая накануне о предстоящем тесте по математике.
3	Watching a teacher work an algebraic equation on the blackboard.	Наблюдая, как преподаватель объясняет алгебраическое уравнение на доске.
4	Taking an examination in a math course.	Выполняя экзамен по математике.
5	Being given a homework assignment of many difficult problems that is due the next class meeting.	Получая домашнюю работу с большим количеством трудных задач, которую нужно решить к следующему занятию.
6	Listening to a lecture in math class.	Слушая лекцию на занятии по математике.
7	Listening to another student explain a math formula.	Слушая, как другой студент объясняет математическую формулу.
8	Being given a "pop" quiz in math class.	Выполняя внеплановую контрольную на занятии по математике.
9	Starting a new chapter in a math book.	Начиная новую главу по математике.

Note. Instruction for participants: please rate each statement in terms of how much anxiety you feel in each of the situations described. Response scale: 1 – low anxiety; 2 – slight anxiety; 3 – moderate anxiety; 4 – major anxiety; 5 – high anxiety.

to rate how they usually feel. Ratings range from “almost never” to “almost always”.

Perceived Difficulty of Math (scale of Questionnaire “Gender stereotypes and incremental beliefs about STEM”) [23]. The scale is aimed at identifying difficulties associated with learning mathematics, according to self-reports of schoolchildren. This scale includes 4 items (“I usually do well in math (reverse coded)”, “Math is harder for me than for many of my classmates”, “Studying math gives me anxiety”, “Math is harder for me than other subjects”). Participants rated all items on the same 4-point Likert scale (with 2 negative and 2 positive ratings). Cronbach’s alpha (0.8) for the scale demonstrates good internal consistency.

Data analysis

The first stage of analysis included the calculation of descriptive statistics. Confirmatory factor analysis (CFA) was then conducted using the WLSMV estimator. The following fit indices were used to evaluate the model: Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA), Comparative Fit Index (CFI), Tucker – Lewis Index (TLI), and Standardized Root Mean Square Measure (SRMR). The next step in the analysis was to assess internal consistency using Cronbach’s alpha. External validity was measured using Spearman correlations of the AMAS scales and other questionnaires. Differences between sexes were then assessed by comparing means. In addition, measurement invariance across genders was analyzed using structural equation modeling (SEM), a procedure that selected the “automatic” estimator in SEM offered in JASP. Measurement invariance was assessed using two measures: configural and metric invariance. Configural invariance was assessed by the CFI and RMSEA indices. Metric invariance was assessed using ΔCFI and $\Delta RMSEA$. All statistical measurements were performed in R version 4.2.1 and JASP.

RESULTS

Descriptive statistics

At the first stage of the analysis descriptive statistics were calculated. The results are presented in Table 2. As can be seen, LMA is less pronounced than MEA.

TABLE 2
DESCRIPTIVE STATISTICS FOR LMA, MEA
AND AMAS_TOTAL

Scales	Number of items	Mean	Std	Median	Max
LMA	5	2.0	3.3	0.0	20
MEA	4	6.8	4.0	7.0	16
AMAS_total	9	8.8	6.3	8.0	36

Distribution graphs of the AMAS total scale and two subscales are presented in Figure 1. In general, the distribution of the AMAS is shifted towards low values. The obtained result is one of the typical variants of the distribution of MA scores: it has been shown that low MA scores are most common in the population [24]. Pearson’s correlation between LMA and MEA is 0.51.

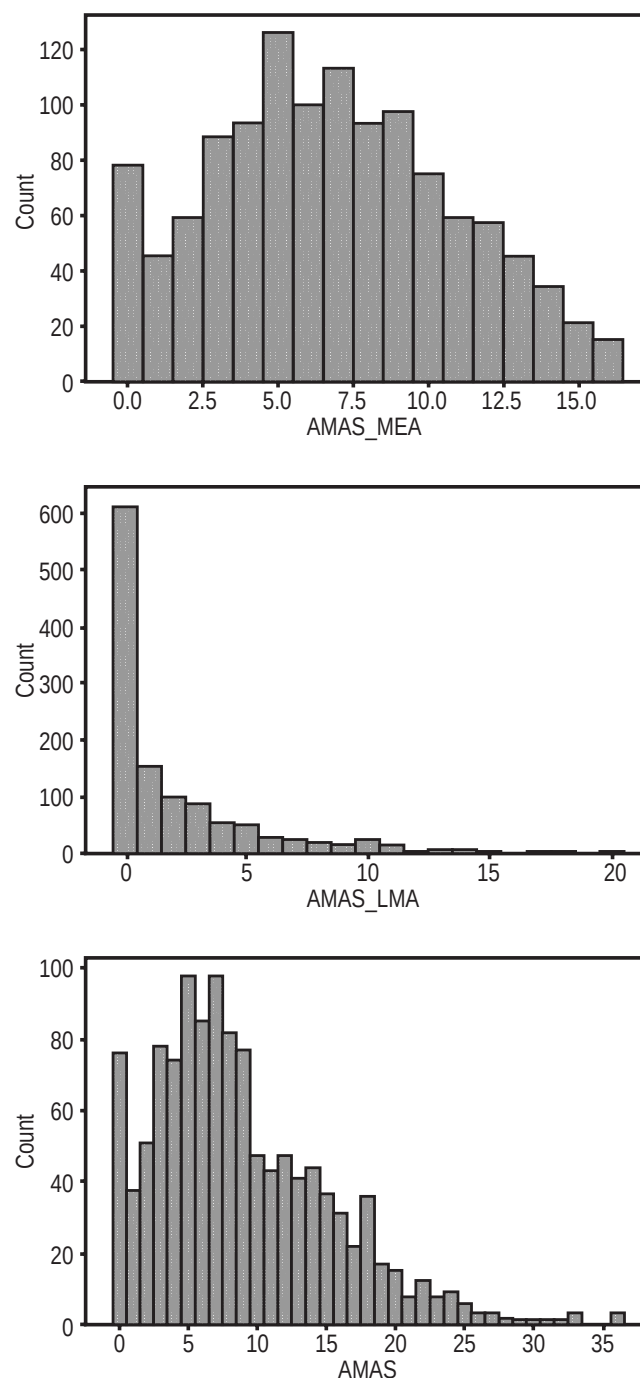


FIG. 1.
Frequency histograms for LMA, MEA and total AMAS scales

Confirmatory factor analysis (CFA)

The CFA tested three models: one-factor, two-factor, and bifactor. The following indicators were used as standards in evaluating model fit indices: Standardized Root Mean Square (SRMR) < 0.08, Tucker – Lewis index (TLI) scores approaching 1, Comparative Fit Index (CFI) > 0.95, and Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA) < 0.08. The bifactor model demonstrated good statistics and had better fit indices than the others: RMSEA = 0.018, CFI = 1.000, TLI = 0.999, SRMR = 0.023 (Table 3).

TABLE 3
MODEL FIT INDICATORS (CONFIRMATORY FACTOR ANALYSIS, CFA)

Models	CFI	TLI	RMSEA	SRMR
1-factor	0.972	0.962	0.143	0.115
2-factor	0.995	0.993	0.062	0.053
Bifactor	1.000	0.999	0.018	0.023

Standardized CFA loadings for the bifactor model are presented in Table 4.

Factor configuration of our data appropriates two factors of Learning Math Anxiety and Math Evaluation Anxiety with general (common) Math Anxiety Factor. LMA includes 5 items (1, 3, 6, 7, 9) MEA – 4 items (2, 4, 8, 5). The factor model is presented on Figure 2.

TABLE 4
STANDARDIZED CFA LOADINGS FOR THE BIFACTOR MODEL

Item	Estimate		
	Learning Math Anxiety	Math Evaluation Anxiety	General Math Anxiety
1	0.279	–	0.647
3	0.306	–	0.825
6	0.469	–	0.777
7	0.500	–	0.704
9	0.290	–	0.791
2	–	0.518	0.704
4	–	0.675	0.519
8	–	0.584	0.685
9	–	0.246	0.592

Internal consistency

To assess internal consistency, Cronbach's Alpha was analyzed and demonstrated the following: 0.82 for LMA, 0.75 for MEA, 0.92 for the total MA scale. The obtained alpha values above 0.7 showed good internal consistency and confirmed the internal consistency of the data.

External validity

One of the possible ways to test the external (construct) validity of the AMAS may be to use school anxie-

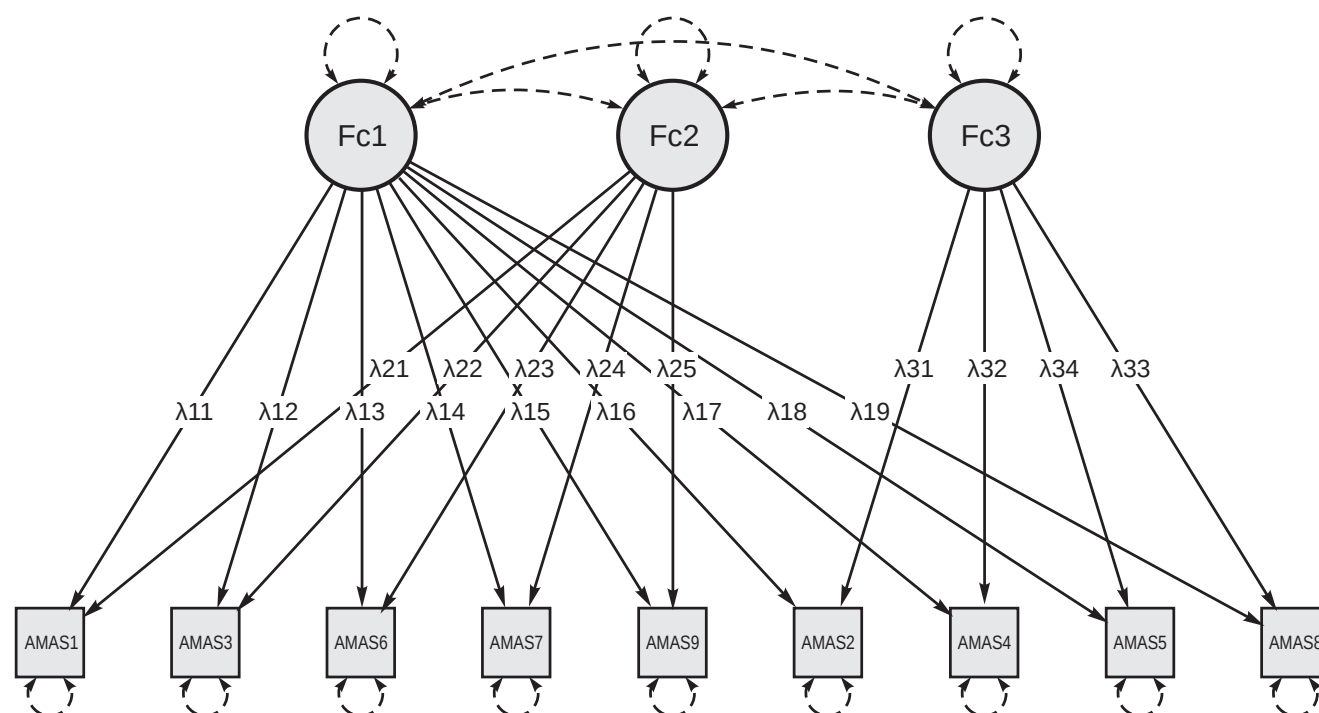


FIG 2.
Model plot for factor structure of AMAS

ty scales. The most common tool for assessing school anxiety in Russia is the Phillips School Anxiety Scale. However, it was adapted either in the form of a teacher's report, which does not allow the results to be directly correlated with the AMAS, which uses self-report, or for younger participants (grades 3–8) – our adaptation of the AMAS was carried out on schoolchildren in grades 10–11 [25–27]. The scope of this scale includes the manifestation of anxiety in educational activities, social stress at school, social behavior, which is not directly related to MA. This scale is quite difficult for screening because it consists of 8 subscales, including 58 questions. It is criticized in the literature [28]. These limitations do not allow the use of school anxiety scales to assess the external validity of the AMAS.

In our study, the external validity of the AMAS general scale was assessed by Spearman correlations with the STAI-T and Perceived Difficulty of Math. The STAI-T technique is highly reliable and is used in a variety of practices. It has proven itself well in previous studies assessing the external validity of the MA technique, in particular, in the recent study by M.I. Núñez-Peña and G. Guilera on the validation of the brief MA scale in a Spanish-speaking sample [29]. The STAI-T is also used to differentiate between different forms of anxiety. For example, in a study by L. Buratta et al. [30], the use of the STAI was able to differentiate the role of MA from other forms of anxiety and found that levels of trait anxiety and situational anxiety did not correlate with or negatively affect math performance. The use of the “Perceived Difficulty of Math” scale from the “Gender stereotypes and incremental beliefs about STEM” questionnaire allows, firstly, to additionally monitor the occurrence of a negative emotional state associated with mathematics (the item “Studying math gives me anxiety”), similar to the MA questionnaire SIMA, which consists of one question and has high correlations

with the AMAS [31]. Secondly, the use of the scale provides to assess the student's self-esteem of abilities specifically in mathematics, and not within the framework of the entire educational process.

As a result, significant correlations between the AMAS and the used scales were found (Table 5).

TABLE 5
CORRELATIONS BETWEEN AMAS TOTAL SCALE, STAI-T AND PERCEIVED DIFFICULTY OF MATH

Indices	AMAS Total
STAI-T	0.38*
Perceived Difficulty of Math	0.35*

Note. * – $p < 0.001$.

Gender differences and measurement invariance across genders

The next step in our analysis was to assess sex differences. The results are presented in Table 6. Overall, girls showed higher MA, which is consistent with previous studies. However, for LMA differences are insignificant.

Measurement invariance across genders was also investigated in this study (Table 7). Two models were tested: model 1 corresponds to configural invariance, model 2 characterizes metric invariance. The following indices were selected as demonstrating good model 1 fit: the CFI of > 0.95 , and RMSEA < 0.08 . CFI = 1.000 and RMSEA = 0.000 obtained for model 1 are within acceptable values, which demonstrates that the data is invariant in terms of configural invariance. Metric invariance (model 2) demonstrated $\Delta\text{CFI} = 0.000$ and $\Delta\text{RMSEA} = 0.000$, $p = 0.497$. As reported, $\Delta\text{CFI} < 0.010$ and $\Delta\text{RMSEA} < 0.015$ demonstrates metric invariance [32].

TABLE 6
GENDER DIFFERENCES AND DESCRIPTIVE STATISTICS FOR LMA, MEA AND AMAS_TOTAL

Scales	Male		Female		Mean difference	p-value
	M	Sd	M	Sd		
LMA	1.8	3.2	2.2	3.4	0.5	0.02
MEA	5.6	3.8	7.6	3.9	2.0	< 0.001
AMAS_total	7.4	6.0	9.9	6.4	2.5	< 0.001

TABLE 7
FIT INDICES FOR MEASUREMENT INVARIANCE ACROSS GENDERS

Models	CFI	RMSEA	Baseline test			Difference test				
			χ^2	Df	P	ΔCFI	ΔRMSEA	$\Delta\chi^2$	Δdf	p
Model 1	1.000	0.000	31.749	36	0.671	–	–	–	–	–
Model 2	1.000	0.000	46.284	51	0.661	0.000	0.000	14.373	15	0.497

DISCUSSION

This study had several objectives, including: assessing the factorial validity of the AMAS questionnaire, assessing the internal consistency of the methodology, assessing the external validity of the scale, and analyzing sex differences and measurement invariance. All stated goals were achieved and the results are discussed in more detail below.

First, analysis of factor validity was carried out. A confirmatory factor analysis procedure was used to assess the factorial validity of AMAS. Three models were evaluated: one-factor, two-factor and bifactor (with a general MA factor and two subscales). The analysis showed that the bifactor model provided a better fit to the data. The obtained result is consistent with the conclusions of other studies demonstrating the best fit of this model [16, 33]. Thus, our version of the questionnaire consists of two subscales: LMA (5 items) and MEA (4 items). The distribution of questions on scales was the same as in previous studies [15]. This analysis allows us to measure math anxiety using AMAS both in a learning situation and in a situation of knowledge assessment.

Second, internal consistency was evaluated. In our study, high scores were obtained on the Cronbach's alpha for general math anxiety, as well as on the LMA and MEA subscales. This indicates a high internal consistency of the questionnaire. The results obtained are consistent with original version [15].

Third, external validity was estimated. A study of Cipora and colleagues has shown that mathematics anxiety correlates with general anxiety [17]; therefore, the Spielberger State – Trait Anxiety Inventory STAI-T was chosen to assess external validity. This study has shown low but significant correlations between AMAS and STAI-T [17], a similar result was observed in our study. We also used the Perceived Difficulty of Math questionnaire (scale of Questionnaire "Gender stereotypes and incremental beliefs about STEM") for the first time to test external validity. The results showed low but significant correlations. This may indicate that perceived difficulty of math and math anxiety are related constructs: math-anxious individuals perceive math as a complicated subject to tackle and become anxious when dealing with it. This can also work in reverse: anxiety prevents concentrating on math problem, so it is perceived by the student as difficult. Possible mechanism may be related to overload of working memory, which is consistent with the Deficient Inhibition Mechanism theory [8].

Finally, sex differences and measurement invariance across sexes were evaluated. The assessment of sex differences in AMAS in our study was provided separately on the LMA and MEA subscales and the total scale of math anxiety. This seems to be justified, since, on the one hand, studies describe an increase in math anxiety scores in girls, on the other hand, some report an increase in math anxiety only in the assessment situation. Therefore, it is important to separate these constructs in the analysis. Our results are consistent with previous studies [8]. An increase

in general math anxiety, MEA, which characterizes specific anxiety in the assessment of math knowledge, and LMA, math anxiety in a learning situation were shown. Thus, older adolescent girls experience greater anxiety when studying and assessing their knowledge, which may be the result of the influence of gender stereotypes. Most likely, this increase in anxiety is due to the girls of this age being more exposed to gender stereotypes over their lifetime. The performed analysis of measurement invariance demonstrated configural invariance, which suggests the unity of the math anxiety construct measured by AMAS in both sexes. Also, our data demonstrated the similarity of factor loadings in boys and girls, as evidenced by metric invariance.

The strengths and weaknesses of the present study should be noted. One obvious advantage of this study is the sufficient sample size, which ensured the reliability of the statistical analysis and the conclusions drawn from it. Another advantage is that for the first time in the Russian-speaking sample, the invariance of the measurement by sex was assessed. As for limitations of this study, there is a lack of analysis of test-retest reliability, which should be carried out in future studies.

CONCLUSIONS

AMAS demonstrated acceptable psychometric properties and factorial validity, which makes it a sufficiently effective tool to assess mathematics anxiety in high school students. The unique advantage of the scale lies in the possibility of distinguishing between the measurement of test anxiety in the situation of evaluating mathematical concepts, and mathematics anxiety in the situation of everyday learning. This scale can be useful in pedagogy. It can be used by practicing psychologists, for example, at school, to detect and prevent cases of mathematics anxiety in a timely manner, which can reduce the distress that occurs in the classroom. In general, this can make education more effective, as it assesses individual differences in anxiety and takes them into account when organizing the educational environment.

Conflict of interests

The authors of this article declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Budakova AV, Likhanov MV, Blonievski T, Malykh SB, Kovas YuV. Math anxiety: Etiology, development and relationship with success in mathematics. *Voprosy Psichologii*. 2020; 1: 109-118. (In Russ.).
2. Wang Z, Lukowski SL, Hart SA, Lyons IM, Thompson LA, Kovas Y, et al. Is math anxiety always bad for math learning? The role of math motivation. *Psychol Sci*. 2015; 26(12): 1863-1876. doi: 10.1177/0956797615602471
3. Malanchini M, Rimfeld K, Shakeshaft NG, Rodic M, Schofield K, Selzam S, et al. The genetic and environmental aetiology

of spatial, mathematics and general anxiety. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 42218. doi: 10.1038/srep42218

4. Beilock SL, Rydell RJ, McConnell AR. Stereotype threat and working memory: Mechanisms, alleviation, and spillover. *J Exp Psychol Gen*. 2007; 136(2): 256. doi: 10.1037/0096-3445.136.2.256

5. Vukovic RK, Roberts SO, Green Wright L. From parental involvement to children's mathematical performance: The role of mathematics anxiety. *Early Educ Dev*. 2013; 24(4): 446-467. doi: 10.1080/10409289.2012.693430

6. Goetz T, Bieg M, Lüdtke O, Pekrun R, Hall NC. Do girls really experience more anxiety in mathematics? *Psychol Sci*. 2013; 24(10): 2079-2087. doi: 10.1177/0956797613486989

7. Ramirez G, Hooper SY, Kersting NB, Ferguson R, Yeager D. Teacher math anxiety relates to adolescent students' math achievement. *AERA Open*. 2018; 4(1): 2332858418756052. doi: 10.1177/2332858418756052

8. Ashcraft MH, Krause JA. Working memory, math performance, and math anxiety. *Psychon Bull Rev*. 2007; 14: 243-248. doi: 10.3758/BF03194059

9. Lyons IM, Beilock SL. When math hurts: Math anxiety predicts pain network activation in anticipation of doing math. *PLoS One*. 2012; 7(10): e48076. doi: 10.1371/journal.pone.0048076

10. Eysenck MW, Derakshan N, Santos R, Calvo MG. Anxiety and cognitive performance: Attentional control theory. *Emotion*. 2007; 7(2): 336. doi: 10.1037/1528-3542.7.2.336

11. Fournier KA, Couret J, Ramsay JB, Caulkins JL. Using collaborative two-stage examinations to address test anxiety in a large enrollment gateway course. *Anat Sci Educ*. 2017; 10(5): 409-422. doi: 10.1002/ase.1677

12. Xie F, Xin Z, Chen X, Zhang L. Gender difference of Chinese high school students' math anxiety: The effects of self-esteem, test anxiety and general anxiety. *Sex Roles*. 2019; 81: 235-244. doi: 10.1007/s11199-018-0982-9

13. Szczygiel M. Gender, general anxiety, math anxiety and math achievement in early school-age children. *Iss Educ Res*. 2020; 30(3): 1126-1142. doi: 10.3316/informit.465488906598804

14. Tomasetto C. Gender stereotypes, anxiety, and math outcomes in adults and children. In: *Mathematics Anxiety*. Routledge; 2019: 178-189. doi: 10.1177/1073191103010002008

15. Hopko DR, Mahadevan R, Bare RL, Hunt MK. The abbreviated math anxiety scale (AMAS) construction, validity, and reliability. *Assessment*. 2003; 10(2): 178-182. doi: 10.1177/1073191103010002008

16. Cohen LA, Limbers CA. Factor structure and gender invariance of the Abbreviated Math Anxiety Scale (AMAS) in middle school students. *Trends Psychol*. 2022; 30(4): 788-807. doi: 10.1007/s43076-022-00167-6

17. Cipora K, Szczygiel M, Willmes K, Nuerk HC. Math anxiety assessment with the Abbreviated Math Anxiety Scale: Applicability and usefulness: Insights from the Polish adaptation. *Front Psychol*. 2015; 6: 1833. doi: 10.3389/fpsyg.2015.01833

18. Schillinger FL, Vogel SE, Diedrich J, Grabner RH. Math anxiety, intelligence, and performance in mathematics: Insights from the German adaptation of the Abbreviated Math Anxiety Scale (AMAS-G). *Learn Individ Differ*. 2018; 61: 109-119. doi: 10.1016/j.lindif.2017.11.014

19. Martín-Puga ME, Justicia-Galiano MJ, Gómez-Pérez MM, Pelegrina S. Psychometric properties, factor structure, and gender and educational level invariance of the Abbreviated Math Anxiety Scale (AMAS) in Spanish children and adolescents. *Assessment*. 2022; 29(3): 425-440. doi: 10.1177/1073191120980064

20. Kamoi R, Kobayashi K. Why is the Mahalanobis distance effective for anomaly detection? *arXiv.org*. 2020. doi: 10.48550/arXiv.2003.00402

21. Ghorbani H. Maxalanobis distance and its application for detecting multivariate outliers. *Facta Universitatis. Series Mathematics and Informatics*. 2019; 34(3): 583-595. doi: 10.22190/FUMI1903583G

22. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene R. *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory ("Self-evaluation questionnaire")*. Consulting Psychologists Press; 1970.

23. Ismatullina V, Adamovich T, Zakharov I, Vasin G, Voronin I. The place of gender stereotypes in the network of cognitive abilities, self-perceived ability and intrinsic value of school in school children depending on sex and preferences in STEM. *Behav Sci*. 2022; 12(3): 75. doi: 10.3390/bs12030075

24. Cipora K, Santos FH, Kucian K, Dowker A. Mathematics anxiety – Where are we and where shall we go? *Ann N Y Acad Sci*. 2022; 1513(1): 10-20. doi: 10.1111/nyas.14770

25. Lyneham HJ, Street AK, Abbott MJ, Rapee RM. Psychometric properties of the school anxiety scale – Teacher report (SAS-TR). *J Anxiety Disord*. 2008; 22(2): 292-300. doi: 10.1016/j.janxdis.2007.02.001

26. Egorenko TA, Lobanova AV, Chumachenko DV. Results of standardization of the Phillips School Anxiety Test [Dataset]. *RusPsyData: Repozitorii psikhologicheskikh issledovaniy i instrumentov*. 2023. (In Russ.). doi: 10.48612/MSUPE/417h-9km5-fx9t

27. Egorenko TA, Lobanova AV, Chumachenko DV. Phillips School Anxiety Test: Results of standardization of the Russian version of the Phillips School Anxiety Test. *Bulletin of Psychological Practice in Education*. 2023; 20(3): 39-54. (In Russ.). doi: 10.17759/bppe.2023200303

28. Borisova NA, Belobrykina OA, Geidebrekht NA, Shtaits TK. Math anxiety: Diagnostic contradictions (based on the example of analysis of B. Phillips methodology). *PEM: Psychology. Educology. Medicine*. 2016; 2: 123-165.

29. Núñez-Peña MI, Guilera G. Development and validation of the brief Math Anxiety Scale (BMAS) in university students. *Psicothema*. 2023; 35(4): 406-413. doi: 10.7334/psicothema2022.434

30. Buratta L, Piccirilli M, Lanfaloni GA, Illicini S, Bedetti C, Elisei S. Mathematics anxiety and cognitive performance in adolescent students. *Psichiatria Danub*. 2019; 31: 479-485.

31. Gibeau RM, Maloney EA, Béland S, Lalande D, Cantinotti M, Williot A, et al. The correlates of statistics anxiety: Relationships with spatial anxiety, mathematics anxiety and gender. *J Numer Cogn*. 2023; 9(1): 16-43. doi: 10.5964/jnc.8199

32. Chen FF. Sensitivity of goodness of fit indexes to lack of measurement invariance. *Struct Equ Modeling*. 2007; 14(3): 464-504. doi: 10.1080/10705510701301834

33. Sadiković S, Milovanović I, Oljača M. Another psychometric proof of the Abbreviated Math Anxiety Scale usefulness: IRT analysis. *Primenjena Psihologija*. 2018; 11(3): 301-323. doi: 10.19090/pp.2018.3.301-323

Information about the authors

Julia A. Marakshina – Cand. Sc. (Psychol.), Chief Analyst at the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education, e-mail: retalika@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7559-9148>

Anna A. Pavlova – Chief Specialist at the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education, e-mail: annapavlova98hse@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1566-243X>

Victoria I. Ismatullina – Cand. Sc. (Psychol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Developmental Behavioral Genetics, Federal Research Center of Psychological and Interdisciplinary Studies, e-mail: victoria2686@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5096-4313>

Marina M. Lobaskova – Cand. Sc. (Psychol.), Chief Specialist at the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education, e-mail: lobaskovamm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0318-6480>

Timofey V. Adamovich – Chief Specialist at the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education, e-mail: tadamovich11@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1571-9192>

Sofia A. Mironets – Chief Specialist at the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education, e-mail: sofiamironets@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9763-109X>

Maria A. Sitnikova – Cand. Sc. (Psychol.), Chief Analyst at the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education, e-mail: sitnikovamary46@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3545-2149>

Sergey B. Malykh – Dr. Sc. (Psychol.), Academic Advisor of the Center for Interdisciplinary Research in Education, Russian Academy of Education; Head of the Laboratory of Developmental Behavioral Genetics, Federal Research Center of Psychological and Interdisciplinary Studies, e-mail: malykhsb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3786-7447>

Сведения об авторах

Маракишина Юлия Александровна – кандидат психологических наук, главный аналитик Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования», e-mail: retalika@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7559-9148>

Павлова Анна Андреевна – главный специалист Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования», e-mail: annapavlova98hse@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1566-243X>

Исмагулина Виктория Игоревна – кандидат психологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории возрастной психогенетики, ФГБНУ «Федеральный научный центр психологических и междисциплинарных исследований», e-mail: victoria2686@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5096-4313>

Лобаскова Марина Михайловна – кандидат психологических наук, главный специалист Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования», e-mail: lobaskovamm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0318-6480>

Адамович Тимофей Валерьевич – главный специалист Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования», e-mail: tadamovich11@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1571-9192>

Миронец Софья Анатольевна – главный специалист Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования», e-mail: sofiamironets@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9763-109X>

Ситникова Мария Александровна – кандидат психологических наук, главный аналитик Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования», e-mail: sitnikovamary46@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3545-2149>

Малых Сергей Борисович – доктор психологических наук, научный руководитель Центра междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании, ФГБУ «Российская академия образования»; руководитель лаборатории возрастной психогенетики, ФГБНУ «Федеральный научный центр психологических и междисциплинарных исследований», e-mail: malykhsb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3786-7447>

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРЕССОГЕННОСТИ РОДИТЕЛЬСКОЙ РОЛИ У ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РОДИТЕЛЕЙ: ОБЪЕКТИВНЫЕ И СУБЪЕКТИВНЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ

Тихонова И.В.,
Шипова Н.С.,
Мисиюк Ю.В.

ФГБОУ ВО Костромской государственный
университет (156005, г. Кострома,
ул. Дзержинского, 17/11, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Шипова Наталья Сергеевна,
e-mail: ronia_777@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Изучение стресс-факторов намерений рождаемости является важным параметром формирования политики развития населения. В научной литературе отсутствует сравнение относительной важности различных видов детерминант и факторов стрессогенности родительской роли.

Цель исследования. Изучение факторов, детерминирующих представления о стрессогенности родительской роли у современной молодёжи.

Методы. Выборка состояла из 364 студентов без опыта родительства. Выделены три группы, различающихся по ориентации на рождение детей: группа потенциально малодетных родителей (257 человек); группа с чайлд-фри ориентацией (32 человека); группа с ориентацией на многодетность (75 человек). Использовались следующие методики: социально-демографическая анкета; «Шкала родительского стресса» (Parental Stress Scale; J.O. Berry, W. Jones, 1995; адаптация Ю.В. Мисиюк, И.В. Тихоновой, 2022); «Опросник установок на интенсивное родительство» (Intensive Parenting Attitudes Questionnaire; M. Liss, H.H. Schiffrin, V.H. Mackintosh, H. Miles-McLean, M.J. Erchull, 2013; адаптация Ю.В. Мисиюк, 2022); экспресс-вариант «Шкалы базисных убеждений» (World Assumptions Scale (WAS); R. Janoff-Bulman; модификация М.А. Падун, А.В. Котельниковой); авторское полуструктурированное интервью.

Результаты. Нами были проанализированы представления о стрессе, который сопряжён с исполнением родительской роли. Рассмотрены параметры, потенциально выступающие как факторы, определяющие стрессогенность родительства. Проанализирована специфика представлений о родительском стрессе и его детерминант в соответствии с доминирующей ориентацией на деторождение.

Заключение. Представления о стрессогенности родительской роли определяются объективными (возраст, статус личных отношений, образование) и субъективными (оценка семейных отношений, установки на необходимость стимуляции развития ребёнка, эссенциализм и получение удовлетворения от воспитания детей) факторами, однако наибольший вес имеют субъективные. Выявлена специфика детерминации представлений о родительском стрессе в зависимости от ориентации на деторождение.

Ключевые слова: родительство, представления о родительстве, родительский стресс, интенсивное родительство, стрессогенность родительской роли, молодёжь

Статья поступила: 05.06.2023

Статья принята: 24.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Тихонова И.В., Шипова Н.С., Мисиюк Ю.В. Представления о стрессогенности родительской роли у потенциальных родителей: объективные и субъективные детерминанты. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 161-176. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.17

IDEAS ABOUT THE STRESSFULNESS OF THE PARENTAL ROLE IN POTENTIAL PARENTS: OBJECTIVE AND SUBJECTIVE DETERMINANTS

Tikhonova I.V.,
Shipova N.S.,
Misiyuk Yu.V.

Kostroma State University
(Dzerzhinskogo str. 17/11,
Kostroma 156005, Russian Federation)

Corresponding author:
Natalya S. Shipova,
e-mail: ronia_777@mail.ru

ABSTRACT

Studying stress factors of childbirth intentions is an important parameter in population development policy making. There is no data on the comparison of the relative importance of different types of determinants and stress inducing factors of parenting in the scientific literature.

The aim. To study the factors determining the ideas about the stressfulness of the parental role among modern youth.

Methods. The sample consisted of 364 students with no parenting experience. Three groups were identified, differing in their orientation towards having children: a group with a focus on single-child parenting (257 people); group with childfree focus (32 people); group with a focus on multi-child parenting (75 people). The following methods were used: socio-demographic questionnaire; "Parental Stress Scale" (J.O. Berry, W. Jones, 1995; adapted by Yu.V. Misiyuk, I.V. Tikhonova, 2022); "Intensive Parenting Attitudes Questionnaire" (M. Liss, H.H. Schiffrin, V.H. Mackintosh, H. Miles-McLean, M.J. Erchull, 2013; adapted by Yu.V. Misiyuk, 2022); express version of the "World Assumptions Scale" (R. Yanoff-Bulman; modified by M.A. Padun, A.V. Kotelnikova; author's semi-structured interview).

Results. We analyzed the ideas about the stress that is associated with fulfilling the parental role. Parameters that potentially act as the factors determining the stressfulness of parenthood are considered. The specificity of ideas on parental stress and its determinants is analyzed in accordance with the dominant orientation towards childbearing.

Conclusion. Ideas about the stressfulness of the parental role are determined by objective (age, status of personal relationships, education) and subjective (assessment of family relationship, attitudes towards the need to stimulate the child's development, essentialism and satisfaction from raising children) factors, but subjective ones have the greatest weight. The specificity of the determination of ideas about parental stress depending on the orientation towards childbearing has been revealed.

Key words: parenting, ideas about parenting, parental stress, intensive parenting, stressful parenting role, youth

Received: 05.06.2023
Accepted: 24.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Tikhonova I.V., Shipova N.S., Misiyuk Yu.V. Ideas about the stressfulness of the parental role in potential parents: objective and subjective determinants. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 161-176. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.17

ОБОСНОВАНИЕ

«Родительство как главное жизненное предназначение», «счастье материнства/отцовства» – все эти клише превратились в социальные стереотипы, имеющие, однако, малое отношение к реальности. Родительство как источник стресса, причина дезадаптивных психических состояний всё чаще рассматривается российской и зарубежной наукой [1, 2]. Затраты, неудобства как материального, так и психологического плана могут отягощать сложившуюся в жизни родителей ситуацию [3]. Последствия родительского стресса (РС) широкомасштабны и разнообразны: он связан с ухудшением здоровья, плохими супружескими отношениями и жестоким обращением с детьми, препятствованием их нормальному психическому развитию [4]. Доказано, что воспринимаемый родительский стресс, связанный с требованиями родителей к себе, может оказывать негативное влияние на психическое здоровье и благополучие матерей [5], способствовать дисфункциональному развитию отношений между родителем и ребёнком, партнёрами и, таким образом, представлять собой факторы риска психопатологии всех членов семейной системы [6]. Следовательно, изучение факторов стрессогенности образа родительства является важной частью раннего выявления рисков и мишеней вмешательства для предотвращения более серьёзных неблагоприятных последствий.

В настоящий момент факторы, способствующие стрессогенности родительской роли, систематизированы и выделены в несколько групп [7]:

Социально-демографические показатели: пол (родительская роль более стрессогенная для матери, чем для отца) [1, 8]; возраст (большему стрессу подвержены молодые родители, а также родители старше 37 лет) [9]; материальная обеспеченность (обозначается как основной фактор стрессогенности отцовской роли) [10].

Социально-психологические показатели: социальная поддержка (незначительная поддержка со стороны семьи и общества связана с более негативными эмоциями и большим стрессом от воспитания) [1, 11]; наличие конфликтной ситуации в семье [9].

Психологические характеристики ребёнка: темперамент младенцев [12]; нарушения развития и детские болезни, поведенческие проблемы детей [13] и др.

Психологические характеристики родителя: сложности распределения времени и разграничения сфер семьи и работы [14]; физиологические факторы и дефицит сна [11], стиль воспитания [3, 13]; родительская компетентность и эмоциональное состояние [15].

Важно отметить, что при этом в литературе отсутствует сравнение относительной важности различных видов факторов стрессогенности родительской роли, представляющих собой ключевую составляющую ориентации на деторождение, которые должны способствовать оптимизации политики стимулирования рождаемости. Существующие исследования были сосредоточены на изучении реальных родителей, а не молодых людей, которые являются потенциальными родителями и, соответственно, ключевыми объектами вмешательства в по-

литику рождаемости. При этом крайне важно понимать, какие факторы детерминируют стрессогенность образа родительства среди молодых людей и, соответственно, могут оказывать влияние на отношение к намерению рождения детей.

Анализ возраста принятия решения в отношении сознательной бездетности показывает, что большинство взрослых-чайлдфри рано заявляют о своих намерениях остаться бездетными – в подростковом или, преимущественно, в раннем детородном (юношеском) возрасте, при этом возраст принятия решения по гендерным подгруппам различий не демонстрирует [16]. Установки на родительство складываются как относительно устойчивые к подростковому возрасту, претерпевая впоследствии только некоторые изменения под влиянием жизненной ситуации и иных факторов, а к юношескому возрасту на основе сложившихся установок уже сформировано образно-сконструированное содержание, включающее в себя отдельные и общие когнитивные схемы родительских поступков в частности и всего родительского поведения в целом на трёх уровнях: социальном, микросоциальном, личностно-смысловом. Соответственно, представления о сопряжённых с выполнением родительской роли сложностях так же, как и собственные репродуктивные планы, выражающиеся в изучаемой нами ориентации на родительство, имеет смысл изучать в юношеском возрасте [17, 18].

Согласно теоретической схеме А. Айзена, процесс принятия решений о рождении ребёнка ограничивается определёнными «жизненными факторами» (т. е. субъективными и контекстуальными условиями) [19]. Намерения деторождения связываются с индивидуальным социально-экономическим статусом, включая доход семьи, человеческий капитал (т. е. образование/здоровье) и качество занятости, что условно в литературе объединено категорией объективных факторов. Имеются исследования особенностей восприятия будущего родительства с учётом таких факторов, как пол и возраст [17]. Юношеский возраст констатируется как период становления более адекватного и определённого представления о родительстве; также выявлена гендерная специфичность, проявляющаяся в опережающем характере становления представлений о будущем родительстве у девушек. Также с неоднородностью намерений фертильности связан такой субъективный фактор, как восприятие родительской роли [20]. В качестве условия становления гармоничного отношения к родительству выступает система ценностных ориентаций, а высокая ценность родительства связана с позитивным отношением к материнству и отцовству и себе в качестве родителя. В качестве факторов, оказывающих влияние на формирование представлений о материнстве и отцовстве, также рассматриваются особенности родительских семей [21], самосознание и осознанная регуляция [22]. С.В. Мерзляковой и соавт. предпринято системное исследование факторов макро-, мезо- и микроуровня, определяющих разные компоненты семейного самоопределения. На микроуровне показана роль таких факторов, как пол, возраст, когнитивные способности, свойства темперамен-

та, эмоционально-волевые особенности личности, компетентность в общении, ответственность, нравственные ориентации [23].

Таким образом, было опубликовано большое количество литературы, в которой теоретически или эмпирически обсуждался вопрос о намерении рождаемости и его детерминантах. Многочисленные ситуационные, социально-экономические, детские и родительские факторы, способствующие РС, достаточно широко исследованные в отечественной и зарубежной литературе, не являются исчерпывающими характеристиками, оказывающими влияние на стрессогенность образа родительской роли у потенциальных родителей. При этом углублённые знания об относительной значимости различных факторов, влияющих на субъективное восприятие родительства и конкретно образа стрессогенности родительской роли, по-прежнему отсутствуют. Однако их крайне важно обнаружить, чтобы иметь возможность способствовать уменьшению стресса на стадии планирования деторождения. Существенная роль субъективных психологических факторов образа стрессогенности родительства остаётся за рамками изучения, формируя проблемное поле настоящего научного исследования. Кроме того, изучение ограничений (стресс-факторов) намерений рождаемости является важной основой для формирования политики развития населения.

В связи с этим **целью исследования** определено поисковое изучение факторов, детерминирующих представления о стрессогенности родительской роли у современной молодёжи. В соответствии с теоретической основой в текущем исследовании рассмотрены личные и контекстуальные детерминанты восприятия стрессогенности родительской роли, и они подразделяются на два условных вектора измерения – объективные (социально-демографические и анамнестические характеристики, пол, возраст, образование, семейное положение, тип родительской семьи, социально-экономический статус) и субъективные (базисные убеждения личности, установки на интенсивность родительства, оценка собственных детско-родительских и семейных отношений).

Выбор указанных субъективных факторов ориентирован на современные исследования механизмов и факторов стресса, среди которых значительная роль отводится убеждениям и установкам. Базисные убеждения определяются как «имплицитные глобальные, устойчивые представления индивида о мире и себе, оказывающие влияние на мышление, эмоциональное состояние и поведение человека» [24] как один из значимых механизмов формирования интенсивного стресса и посттравматического восстановления. Показано их влияние на существенные стороны социальной жизни личности, взаимодействие и взаимоотношения с окружающими людьми [25]. Среди доминирующих тенденций и подходов к воспитанию можно выделить вариацию осознанного, сверхвключённого родительства, предполагающего чрезмерную вовлечённость современных мужчин и женщин в развитие ребёнка, родительский детерминизм и всестороннее развитие ребёнка для достижения им более высокого социального статуса. Данный

подход в западном и отечественном научном дискурсе представлен установками на «интенсивное родительство» [26]. Установки на интенсивное родительство могут выступать стрессогенным фактором родительской роли, пагубно сказываясь на психическом здоровье родителей [3], связанном со снижением удовлетворённости жизнью, постоянным чувством бремени из-за родительской роли, и отражая тяжесть требований родительства, что в условиях повышенных ожиданий от роли родителя со стороны общества формирует устойчивое субъективное отношение к восприятию отцовства и материнства ещё задолго до появления детей.

Основная **гипотеза исследования** состоит в предположении о преимущественном влиянии субъективных факторов на восприятие стрессогенности представлений о родительской роли.

МЕТОДЫ

Для исследования представлений о стрессогенности родительской роли у потенциальных родителей была использована методика «Шкала родительского стресса» (Parental Stress Scale; J.O. Berry, W. Jones (1995), русскоязычная версия в адаптации Ю.В. Мисюк, И.В. Тихоновой (2022)), выявляющая общий уровень РС (в нашем исследовании – представлений об уровне РС) независимо от социально-демографических и ситуативных показателей, а также позволяющая определить выраженность параметров РС (родительские стрессоры, потеря контроля, родительское вознаграждение/ущерб, родительская удовлетворённость/неудовлетворённость) [27].

Для исследования объективных факторов применялась социально-демографическая анкета, а для изучения субъективных факторов использовались следующие методики:

- социально-психологический раздел анкеты, который исследовал оценку отношений в семье, ориентации на брак, семейные отношения, деторождение;
- методика «Опросник установок на интенсивное родительство» (Intensive Parenting Attitudes Questionnaire; M. Liss, H.H. Schiffrin, V.H. Mackintosh, H. Miles-McLean, M.J. Erchull (2013); адаптация Ю.В. Мисюк (2022)), диагностирующая выраженность установок на интенсивное родительство, к которым относятся эссенциализм, удовлетворённость, трудности, стимуляция и детоцентрированность [26];
- экспресс-вариант опросника «Шкала базисных убеждений» (World Assumptions Scale (WAS); R. Janoff-Bulman; модификация М.А. Падун, А.В. Котельниковой). Первоначальная форма опросника была модифицирована. Из каждой шкалы, предлагаемой авторами («Образ Я», «Доброжелательность окружающего мира», «Справедливость», «Удача», «Убеждения о контроле»), было выделено утверждение, которое по результатам психометрической проверки имеет наибольшую факторную нагрузку [25]. Данные утверждения предлагались респондентам в виде визуальных шкал, степень согласия с утверждением оценивалась в процентной выраженности по шкале.

В тексте результаты представлены в формате средних баллов и процентной выраженности с учётом максимально возможных значений (параметры указаны для каждого показателя). При оценке выраженности шкал и удобства сравнения результатов следует ориентироваться на показатели в процентах.

Инструкции к опросникам подлежали модификации; респондентам предлагали давать ответы с точки зрения представлений о гипотетических отношениях с будущим ребёнком.

Использовались следующие статистические процедуры пакета SPSS Statistics 22 (IBM Corp., США): дескриптивная статистика (для обзорного описания результатов применения исследовательских инструментов); коэффициент корреляции Спирмена (для определения корреляционных связей между переменными); регрессионный анализ (метод пошаговой гребневой регрессии – для выявления влияния переменных).

Исследование построено на принципе добровольности; все респонденты давали информированное согласие на участие. Опрошенным были сообщены цель исследования и их права. Соблюдались принципы конфиденциальности и экологичности. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Костромского государственного университета (протокол № 2 от 22.04.2022).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выборка (обобщённая характеристика представлена в таблице 1) состояла из 364 бездетных студентов (218 (59,9 %) девушек, 146 (40,1 %) юношей), которые получают педагогическое, медицинское, социологическое, инженерно-техническое образование в высших учебных заведениях г. Костромы и г. Ярославля. Средний возраст составил 19,43 года ($SD = 1,87$).

ТАБЛИЦА 1
ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА ОБЪЕКТИВНЫХ
ДЕТЕРМИНАНТ/ФАКТОРОВ В МОЛОДЁЖНОЙ ВЫБОРКЕ
($n = 364$)

Пол (n)		Возраст (M)		Образование (n)			
муж.	жен.	муж.	жен.	среднее	средне-специальное	неполное высшее	высшее
146	218	19,43	19,37	184	58	98	24
Семейное положение (n)			Наличие сиблингов (n)				
холост/ не замужем	в романтических отношениях	в официальном браке	1	2	3 и более	нет	
179	173	12	188	73	32	71	
Характеристики родительской семьи (n)			Вид деятельности (n)				
полная семья	неполная семья/ в разводе		учащиеся	работающие студенты			
261	96		364	68			

В выборке имеет значительную представленность (26,9 %) группа респондентов с «неполным высшим» образованием – это лица, не завершившие обучение в вузе в прошлом либо сменившие специальность подготовки. 47,53 % молодых людей не состоят в отношениях. 71,15 % воспитывались в малодетной семье, у 19,5 % респондентов не было сиблингов.

Результаты описательной статистики (табл. 2) демонстрируют, что общий уровень РС в представлениях молодёжи соответствует умеренным значениям. Наименьшую выраженность в «профиле» РС имеет родительская неудовлетворённость; признаются повышенный уровень требований к родителю («стрессоры»), вероятность потери контроля над собственной жизнью и дефицит эмоционального вознаграждения от реализации роли родителя.

Потенциальные родители воспринимают родительскую роль как «интенсивную». Они имеют убеждения о необходимости активной стимуляции развития детей, установку на восприятие родительской роли как трудозатратной и воспринимают ребёнка как центр внимания в семье. В меньшей степени выражена установка на эссенциализм, то есть респонденты не ориентированы на главенствование матери в уходе за ребёнком и воспитании.

Молодые люди в целом показывают преобладание позитивных базисных убеждений в отношении «Образ Я», демонстрируют устойчивые представления о контроле над собственной жизнью и событиями, однако в меньшей степени верят в собственную удачливость, справедливость и доброжелательность окружающего мира. Детско-родительские и семейные отношения респонденты оценивают довольно высоко ($M = 8,19$ и $M = 8,14$ из 10).

Представим схему, отражающую зависимость параметров родительского стресса от объективных и субъективных характеристик (рис. 1).

TABLE 1
DESCRIPTIVE STATISTICS OF OBJECTIVE
DETERMINANTS/FACTORS IN THE YOUTH SAMPLE
($n = 364$)

ТАБЛИЦА 2

ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ВЫРАЖЕННОСТИ ВОСПРИЯТИЯ СТРЕССОГЕННОСТИ
РОДИТЕЛЬСКОЙ РОЛИ И ПРЕДПОЛАГАЕМЫХ
СУБЪЕКТИВНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ/ФАКТОРОВ
В МОЛОДЁЖНОЙ ВЫБОРКЕ ($n = 364$)

TABLE 2

DESCRIPTIVE STATISTICS OF INDICATORS
OF THE PERCEPTION SEVERITY OF THE PARENTAL
ROLE STRESSFULNESS AND THE ALLEGED SUBJECTIVE
DETERMINANTS/FACTORS IN THE YOUTH SAMPLE
($n = 364$)

Параметры родительского стресса							
	Родительские стрессоры (max – 30)	Родительский вознаграждение/ ущерб (max – 25)	Потеря контроля (max – 20)	Родительская удовлетворённость/ неудовлетворённость (max – 15)	Общий уровень родительского стресса (max – 90)		
M (%)	15,37 (51,22)	12,11 (48,45)	9,11 (45,55)	6,63 (36,86)	44,37 (49,30)		
σ	4,34	6,36	3,29	2,85	12,78		
Параметры установок на интенсивное родительство							
	Эссенциализм (max – 48)	Удовлетворённость (max – 24)	Стимуляция (max – 24)	Трудности (max – 36)	Детоцентризм (max – 18)		
M (%)	22,48 (46,84)	17,07 (71,14)	18,74 (72,15)	26,75 (74,31)	11,37 (63,19)		
σ	5,62	3,53	3,11	3,50	2,43		
Параметры базисных убеждений и оценки детско-родительских семейных отношений							
	Образ Я (max – 100)	Доброжелательность окружающего мира (max – 100)	Справедливость (max – 100)	Удача (max – 100)	Убеждение о контроле (max – 100)	Оценка детско-родительских отношений (max – 10)	Оценка семейных отношений (max – 10)
M	77,13	52,47	62,32	61,41	71,07	8,19	8,14
σ	47,86	24,58	26,91	22,55	21,28	1,91	2,03

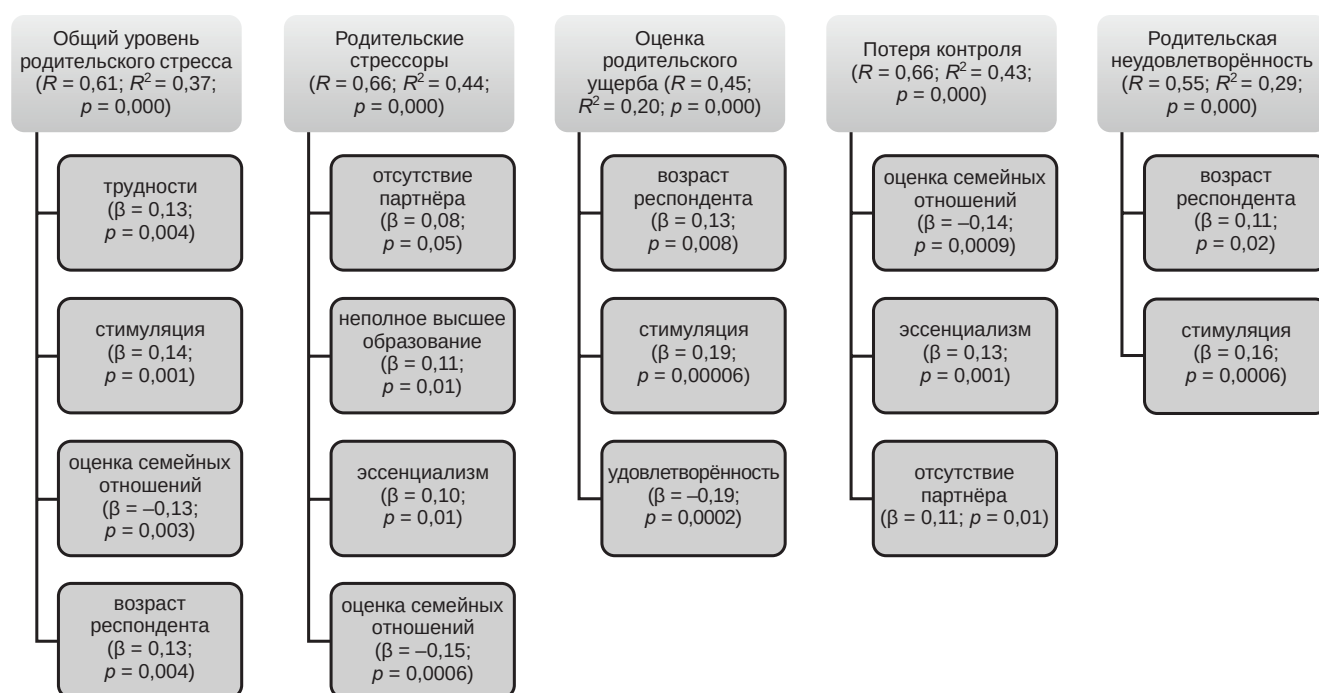


РИС. 1.

Регрессионный анализ факторов, предсказывающих представление о родительском стрессе у молодёжи

FIG. 1.

Regression analysis of factors predicting perceptions of parental stress in young people

Общая регрессия была статистически значима для показателей общего уровня ожидаемого РС и его составляющих. Было обнаружено, что они значительно предсказываются такими объективными факторами, как возраст, статус личных отношений и образование, и такими субъективными факторами, как оценка семейных отношений, установка на необходимость стимуляции развития ребёнка, эссенциализм и получение удовлетворения от воспитания детей. Общий уровень РС ($R = 0,61$; $R^2 = 0,37$; $p = 0,000$) положительно предсказывается установками на интенсивное родительство: трудности ($\beta = 0,13$; $p = 0,004$) и стимуляция ($\beta = 0,14$; $p = 0,001$), – а также возрастом респондента ($\beta = 0,13$; $p = 0,004$); при этом отрицательно он определяется оценкой семейных отношений ($\beta = -0,13$; $p = 0,003$).

В оценку родительской роли как напряжённой (уровень «родительских стрессоров») ($R = 0,66$; $R^2 = 0,44$; $p = 0,000$) положительный вклад вносят отсутствие партнёра (статус «холост/не замужем») ($\beta = 0,08$; $p = 0,05$), уровень образования (неполное высшее) ($\beta = 0,11$; $p = 0,01$), установка на эссенциализм ($\beta = 0,10$; $p = 0,01$); отрицательный вклад – субъективная оценка семейных отношений ($\beta = -0,15$; $p = 0,0006$).

Представление о потенциальных ограничениях и эмоциональном дискомфорте от родительской роли («родительский ущерб») статистически значительно положительно предсказывается ($R = 0,45$; $R^2 = 0,20$; $p = 0,000$) возрастом респондента ($\beta = 0,13$; $p = 0,008$), установкой на стимуляцию ($\beta = 0,19$; $p = 0,00006$), отрицательно – установкой на получение удовлетворённости от реализации родительской роли ($\beta = -0,19$; $p = 0,0002$).

Ожидание потери контроля над собственной жизнью у потенциальных родителей положительно определяется ($R = 0,66$; $R^2 = 0,43$; $p = 0,000$) фактом отсутствия партнёра ($\beta = 0,11$; $p = 0,01$), установкой на эссенциализм ($\beta = 0,13$; $p = 0,001$), отрицательно – оценкой семейных отношений ($\beta = -0,14$; $p = 0,0009$).

Важный показатель РС «родительская неудовлетворённость» в представлениях молодых людей будет положительно предсказываться ($R = 0,55$; $R^2 = 0,29$; $p = 0,000$) возрастом респондента ($\beta = 0,11$; $p = 0,02$) и установкой на стимуляцию ($\beta = 0,16$; $p = 0,0006$).

Выборка разделена на три эмпирические группы по ориентации на деторождение на основе вариантов ответов респондентов в анкетной части о желаемом количестве детей в будущем. В исследуемой группе были выделены: группа потенциально малодетных родителей с ориентацией на классическую структуру семьи, имеющую 1–2 ребёнка ($n = 257$; $M = 19,45$; $SD = 1,86$); группа чайлд-фри, заявивших о нежелании иметь детей в будущем ($n = 32$; $M = 18,78$; $SD = 1,48$); группа лиц с ориентацией на многодетность ($n = 75$; $M = 19,45$; $SD = 2,01$), которые отметили намерение иметь 3 и более детей (табл. 3).

Среди социально-демографических характеристик в выделенных эмпирических группах в качестве ключевых особенностей следует выделить сле-

дующие. На *малодетность* больше ориентированы девушки (61,9 %) нежели юноши (38,1 %); большинство находится в романтических отношениях (52,5 %) или в официальном браке (4,7 %); в данной группе самый высокий процент трудоустроенной (21 %) молодёжи, уже имеющей среднее-специальное образование (16,7 %); большинство выросли в полной семье (70,8 %); самый высокий процент не имеющих сиблингов (22,2 %) среди всех групп. В *группе с ориентацией на многодетность* больше девушек (58,7 %); 50,7 % опрошенных холосты/не замужем, 45,3 % находятся в романтических отношениях/гражданском браке; совмещают учёбу и работу 17,3 %; имеют среднее-специальное образование 16 %; большинство (74,7 %) – из полной семьи; не имеют сиблингов 12 %, при этом 45,3 % имеют 2–4 сиблинга (респонденты сами воспитывались в многодетной семье). В *группе с ориентацией на бездетность* больше юношей (53,1 %); самый маленький процент среди групп работающих студентов (3,1 %) и имеющих образование (среднее-специальное – 9,4 %); большинство (71,9 %) воспитывались в полной семье; респонденты преимущественно не имеют романтических отношений (84,4 %); сиблингов не имеют 15,6 %.

Проведённый анализ показал, что уровень стрессогенности родительской роли статистически значительно различается в представлениях молодёжи с разной ориентацией на деторождение. Максимальная стрессогенность родительской роли определяется в представлениях студентов, говорящих о нежелании иметь детей. Они отмечают высокий уровень общей выраженности родительского стресса ($n = 32$; $M = 58,44$ или 64,93 % от максимального балла). В «профиле» его выраженности мы можем отметить превалирование показателей, связанных с требованиями и ограничениями родителя: «Родительские стрессоры» ($M = 21,47$ или 71,56 % от максимального балла) и «Потеря контроля» ($M = 13,94$ или 69,69 % от максимального балла). У респондентов, для которых предпочтительной формой семьи является многодетная, показатели родительского стресса самые низкие. Представления о родительстве респондентов, предпочитающих многодетность и малодетность, статистически значительно разнятся по параметрам «Родительских стрессоров» ($M = 13,81$ или 46,04 % от максимального балла; $M = 15,00$ или 50,19 % от максимального балла соответственно), «Потери контроля» ($M = 7,85$ или 39,26 % от максимального балла; $M = 8,88$ или 44,37 % от максимального балла соответственно), «Родительской неудовлетворённости/удовлетворённости» ($M = 5,84$ или 32,44 % от максимального балла; $M = 6,60$ или 36,10 % от максимального балла соответственно).

Для выявления факторов, связанных с представлениями о РС у молодёжи с разной ориентацией на деторождение, были определены их корреляции (рис. 2, 4, 6), а для определения детерминант, предсказывающих повышение стрессогенности родительской роли в представлениях молодых людей, проведён регрессионный анализ (рис. 3, 5, 7).

ТАБЛИЦА 3
ОПИСАТЕЛЬНАЯ СТАТИСТИКА
СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
МОЛОДЁЖНОЙ ВЫБОРКИ В ЭМПИРИЧЕСКИХ ГРУППАХ
С РАЗНОЙ ОРИЕНТАЦИЕЙ НА ДЕТОРОЖДЕНИЕ (n = 364)

TABLE 3
DESCRIPTIVE STATISTICS OF SOCIO-DEMOGRAPHIC
CHARACTERISTICS OF A YOUTH SAMPLE IN EMPIRICAL
GROUPS WITH DIFFERENT FOCUS TOWARDS
CHILDBEARING (n = 364)

Характеристики	Ориентация на «малодетность» (n = 257)	Ориентация на «многодетность» (n = 75)	Ориентация на «бездетность» (n = 32)
Возраст (М)	19,45	18,78	19,45
Пол, n (%)			
Девушки	159 (61,9)	44 (58,7)	15 (46,9)
Юноши	98 (38,1)	31 (41,3)	17 (53,1)
Вид деятельности, n (%)			
Учащиеся	236 (91,8)	70 (93,3)	31 (96,9)
Работающие	21 (8,2)	5 (6,7)	1 (3,1)
Работающие студенты	54 (21,0)	13 (17,3)	1 (3,1)
Семейное положение, n (%)			
Холост/не замужем	110 (42,8)	38 (50,7)	27 (84,4)
В романтических отношениях	135 (52,5)	34 (45,3)	5 (15,6)
В официальном браке	12 (4,7)	3 (4,0)	0
Образование, n (%)			
Среднее	131 (60,0)	37 (49,3)	17 (53,1)
Средне-специальное	43 (16,7)	12 (16,0)	3 (9,4)
Неполное высшее	70 (27,2)	18 (24,0)	10 (31,3)
Высшее	15 (5,8)	8 (10,7)	2 (6,2)
Характеристики родительской семьи, n (%)			
Полная семья	182 (70,8)	56 (74,7)	23 (71,9)
Неполная семья / в разводе	75 (29,2)	19 (25,3)	9 (28,1)
Наличие сиблингов, n (%)			
Нет (испытываемый – единственный ребёнок)	57 (22,2)	9 (12,0)	5 (15,6)
1 сиблинг (малодетная семья)	134 (52,1)	32 (42,7)	23 (71,9)
2–4 сиблинга (многодетная семья)	66 (25,7)	34 (45,3)	4 (12,5)

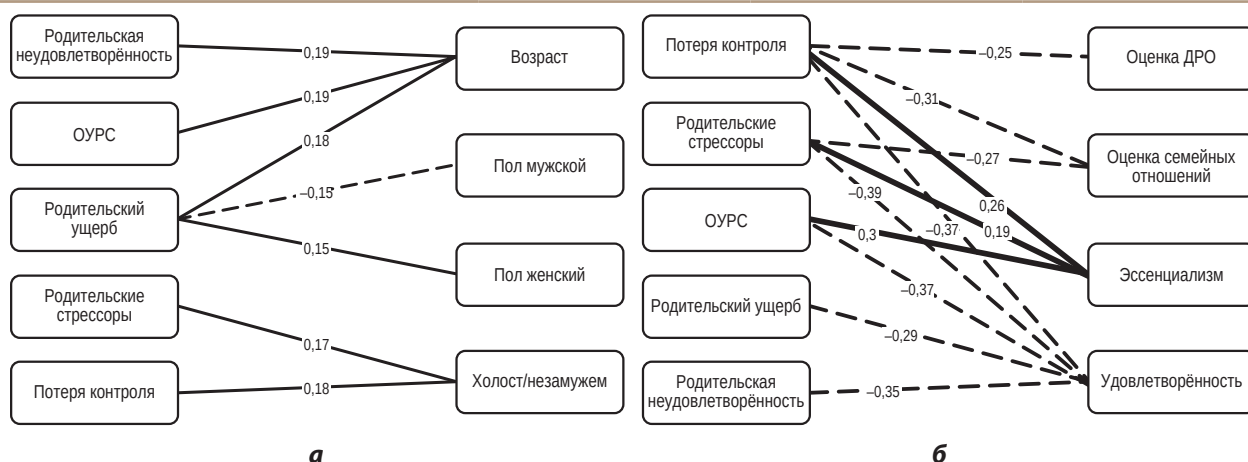


РИС. 2.
Корреляции показателей уровня предполагаемого родительского стресса у молодёжи с ориентацией на малодетность:
а – с объективными характеристиками; **б** – с субъективными характеристиками. Уровень статистической значимости: линия средней толщины – $p \leq 0,01$; толстая линия – $p \leq 0,001$

FIG. 2.
Correlations of parameters of anticipated parenthood stress in youth with a focus on having few children: **а** – with objective characteristics; **б** – with subjective characteristics. Level of statistical significance: medium line – $p \leq 0.01$; thick line – $p \leq 0.001$

В группе лиц с ориентацией на малодетность среди объективных стрессогенных факторов мы можем отметить следующие анамнестические характеристики: возраст, женский пол, отсутствие партнёра (положение холостого человека/незамужней девушки) (рис. 2). Напротив, фактором, снижающим РС, выступает мужской пол. Стоит отметить, что контекстные «объективные» факторы имеют слабые корреляционные связи с параметрами РС по сравнению с «субъективными», у которых связи обладают умеренной силой. Так, обнаружены отрицательные связи высокого уровня значимости всех показателей предполагаемого родительского стресса с установками на удовлетворённость. Убеждение о ведущей роли матери в воспитании детей может быть положительно связа-

но со стрессогенностью родительства в представлениях молодёжи. Сильными отрицательными связями также характеризуется взаимодействие параметра потери контроля с оценкой семейных и детско-родительских отношений (рис. 2). При анализе причинно-следственных связей между симптомами родительского стресса и разными группами факторов была получена несколько иная картина (рис. 3).

Оказалось, что в группе потенциально малодетных родителей представления об общем уровне родительского стресса детерминируются лишь одним объективным фактором – возрастом респондента ($R = 0,20$; $R^2 = 0,42$; $p = 0,001$; $\beta = 0,19$). Но его усиление предсказывается комплексом субъективных факторов ($R = 0,48$; $R^2 = 0,23$; $p = 0,000$): выраженностью устано-

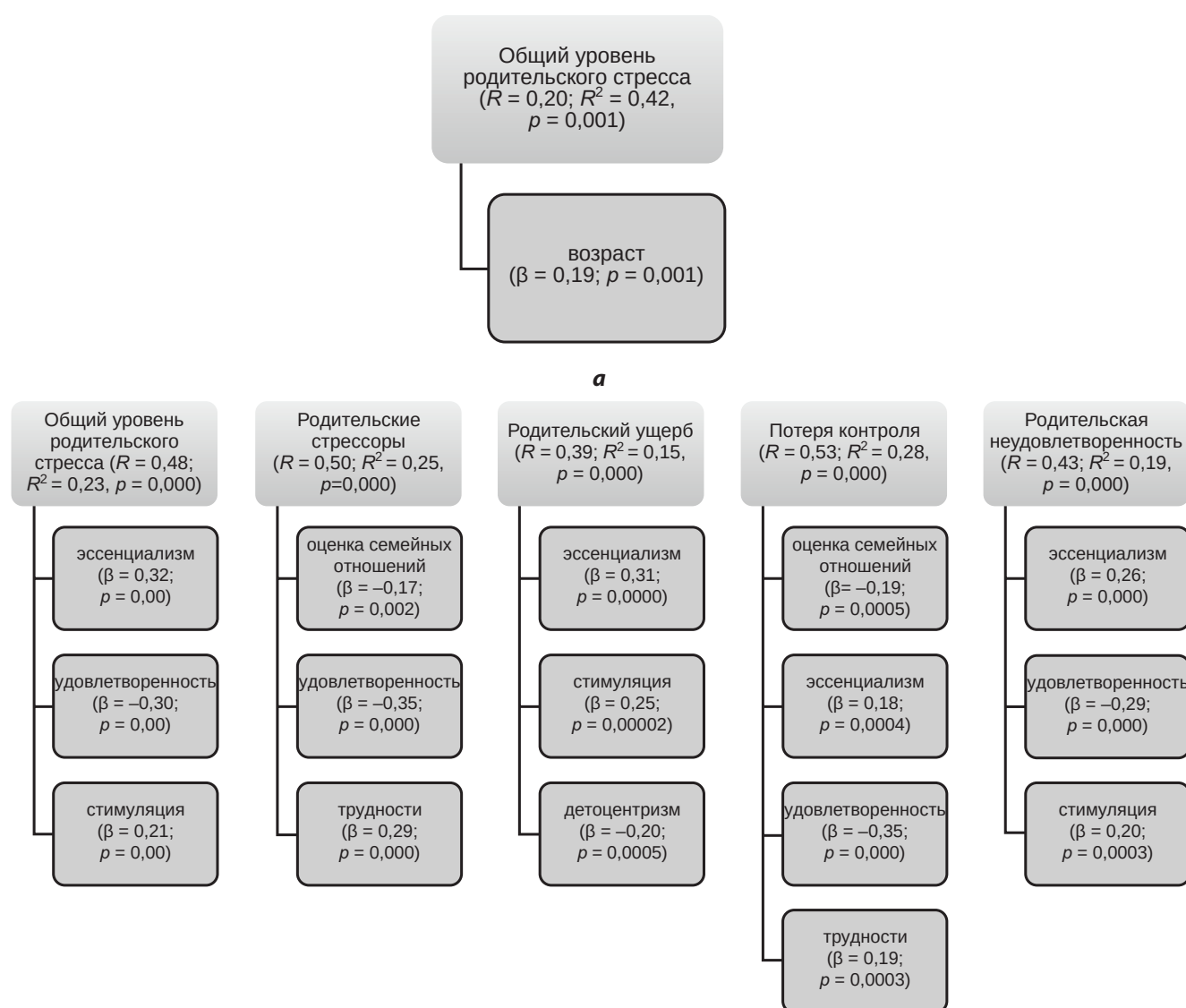


РИС. 3.

Детерминация показателей уровня предполагаемого родительского стресса у молодёжи с ориентацией на малодетность: **а** – объективных характеристик; **б** – субъективных характеристик

б

FIG. 3.

Determination of the indicators of anticipated parental stress level in young people with a focus on having few children: **a** – objective characteristics; **б** – subjective characteristics

вок на преимущественную роль матери в воспитании детей ($\beta = 0,32$; $p = 0,00$), на необходимость стимулировать развитие ребёнка ($\beta = 0,21$; $p = 0,00$), дефицитом убеждений в возможности получать удовлетворение от родительства ($\beta = -0,30$; $p = 0,00$). Остальные параметры родительского стресса испытывают влияние только субъективных факторов, среди которых наибольшую роль играют установки на интенсивность воспитания. Усиление представлений о высоком уровне требований родительской роли – «родительских стрессорах» – будет происходить ($R = 0,50$; $R^2 = 0,25$; $p = 0,000$) при наличии низкой оценки семейных отношений ($\beta = -0,17$; $p = 0,002$), сомнениях в возможности быть удовлетворённым родительством ($\beta = -0,35$; $p = 0,000$) и убеждённости в его трудозатратности ($\beta = 0,29$; $p = 0,000$). Представления о низкой вознаграждаемости от реализации родительских функций: «родительский ущерб» определяется ($R = 0,39$; $R^2 = 0,15$; $p = 0,000$) сочетанием выраженности установок на эссенциализм ($\beta = 0,31$; $p = 0,0000$), стимуляцию ($\beta = 0,25$; $p = 0,00002$), но низкой убеждённости в необходимости приоритетности нужд ребёнка – детоцентризма ($\beta = -0,20$; $p = 0,0005$). Потеря контроля над собственной жизнью как симптом родительского стресса предсказывается ($R = 0,53$; $R^2 = 0,28$; $p = 0,000$) сочетанием установок на эссенциализм ($\beta = 0,18$; $p = 0,0004$), трудностью родительской роли ($\beta = 0,19$; $p = 0,0003$) и дефицитом удовлетворённости ($\beta = -0,35$; $p = 0,000$), низкой оценкой семейных отношений ($\beta = -0,19$; $p = 0,0005$). Родительская неудовлетворённость как признак РС детерминирована тем же комплексом установок на интенсивность воспитания, что и общий уровень РС ($R = 0,43$; $R^2 = 0,19$; $p = 0,000$): эссенциализмом ($\beta = 0,26$; $p = 0,000$), стимуляцией ($\beta = 0,20$; $p = 0,0003$), убеждённости в дефиците родительской удовлетворённости ($\beta = -0,29$; $p = 0,000$).

Анализ корреляционных связей в группе респондентов с чайдл-фри ориентацией показывает практически полное отсутствие корреляционных связей стрессогенности с анамнестическими характеристиками (рис. 4), что открывает нам перспективы изучения чайдл-фри ориентации с точки зрения её обусловленности собственным опытом. Стоит обратить внимание на влияние позиции единственного ребёнка в семье на представления о стрессогенности родительства в виде потери контроля, а также на большую силу корреляционных связей отрицательного характера субъективных факторов со всеми параметрами родительского стресса. Опять же лидерами по взаимовлиянию являются установки на удовлетворённость (рис. 4).

В группе молодых людей с чайдл-фри ориентацией единственной детерминантой симптомов родительского стресса является установка возможность получать удовольствие от родительства («удовлетворённость»). Она отрицательно предсказывает не общий уровень стресса, а его отдельные признаки, а именно: родительские стрессоры ($R = 0,51$; $R^2 = 0,26$; $p = 0,003$; $\beta = -0,49$), потерю контроля ($R = 0,52$; $R^2 = 0,27$; $p = 0,003$; $\beta = -0,49$) и родительскую неудовлетворённость ($R = 0,58$; $R^2 = 0,34$; $p = 0,0005$; $\beta = -0,55$).

В группе молодёжи с ориентацией на многодетность наблюдаются сильные связи показателей стрессогенности с женским полом и, напротив, отрицательные связи с мужским (рис. 6).

Среди личных субъективных факторов (рис. 6) именно в этой группе связанными с представлением о стрессогенности родительства также становятся базисные убеждения о позитивности образа Я и своём умении сохранять контроль, а также оценка детско-родительских отношений.

Анализ детерминированности представлений о РС у молодёжи с многодетной ориентацией выявил влияние

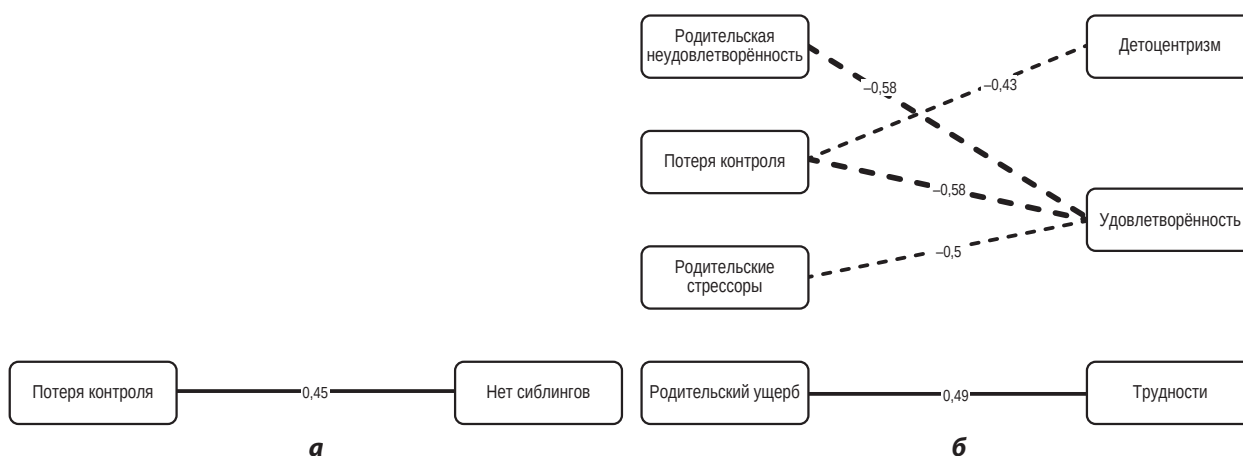


РИС. 4.

Корреляции показателей уровня предполагаемого родительского стресса у молодёжи с чайдл-фри ориентацией: **а** – с объективными характеристиками; **б** – с субъективными характеристиками. Уровень статистической значимости: линия средней толщины – $p \leq 0,01$; толстая линия – $p \leq 0,001$

FIG. 4.

Correlations of parameters of anticipated parental stress in young people with childfree orientation: **a** – with objective characteristics; **b** – with subjective characteristics. Level of statistical significance: medium line – $p \leq 0.01$; thick line – $p \leq 0.001$

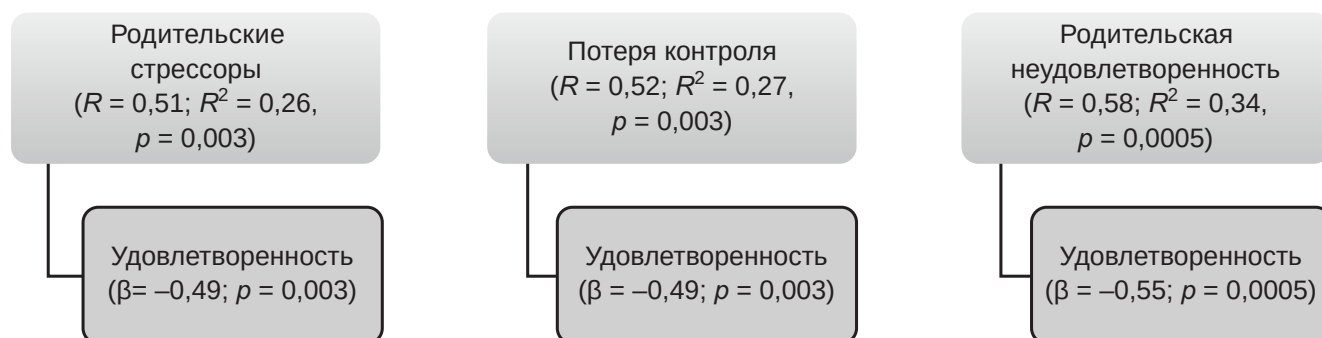


РИС. 5.

Детерминация показателей уровня предполагаемого родительского стресса у молодёжи с чайлд-фри ориентацией

FIG. 5.

Determination of the indicators of anticipated parental stress level in young people with childfree orientation

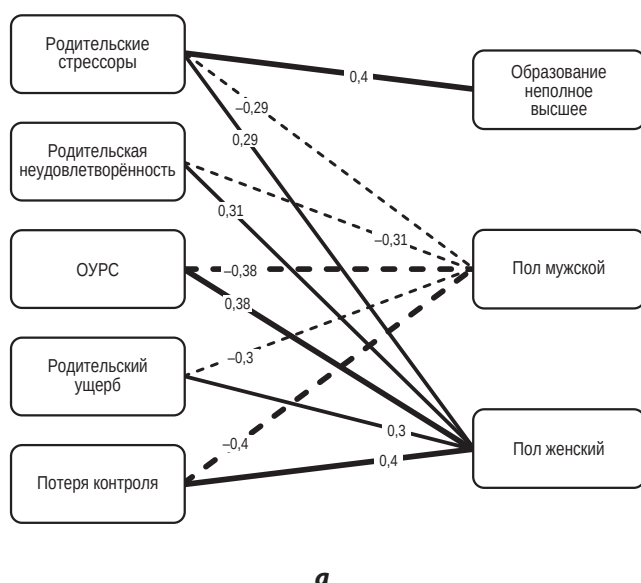


РИС. 6.

Корреляции показателей уровня предполагаемого родительского стресса у молодёжи с ориентацией на многодетность: **а** – с объективными характеристиками; **б** – с субъективными характеристиками. Уровень статистической значимости: линия средней толщины – $p \leq 0,01$; толстая линия – $p \leq 0,001$

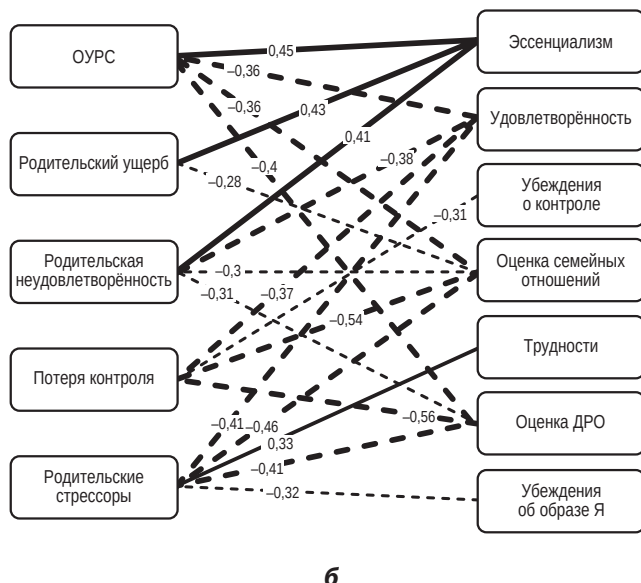


FIG. 6.

Correlations of parameters of parenthood in young people with a focus on having many children: **а** – with objective characteristics; **б** – with subjective characteristics. Level of statistical significance: medium line – $p \leq 0.01$; thick line – $p \leq 0.001$

лишь одного из объективных факторов (уровня образования) на параметр родительских стрессоров ($R = 0,40$; $R^2 = 0,16$; $p = 0,000$; $\beta = 0,39$). То есть наличие неполного высшего образования предсказывает усиление представлений о высоком уровне требований к родительской роли. В остальном также определено влияние только субъективных факторов. Выраженность общего уровня родительского стресса ($R = 0,43$; $R^2 = 0,19$; $p = 0,0001$; $\beta = 0,41$), его симптомов в виде «родительского ущерба» ($R = 0,41$; $R^2 = 0,17$; $p = 0,0002$; $\beta = 0,39$) и родительской неудовлетворённости ($R = 0,42$; $R^2 = 0,18$; $p = 0,0002$; $\beta = 0,40$) предсказываются выраженностью установок на эссенциализм. Невысокий уровень установки на получение удовольствия от родительства предсказывает выраженность симптома РС «потеря контроля» ($R = 0,39$; $R^2 = 0,15$; $p = 0,0006$; $\beta = -0,37$). Формирование представ-

лений о высоком уровне требований к родительству – «родительских стрессорах» – детерминирована группой факторов ($R = 0,56$; $R^2 = 0,32$; $p = 0,0000$), включающих установки на трудозатратность ($\beta = 0,39$; $p = 0,0001$) и низкую удовлетворённость ($\beta = -0,48$; $p = 0,000004$) от родительства.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ детерминант представлений о стрессогенности родительской роли в общей выборке потенциальных родителей. Среди контекстных объективных детерминант представлений о стрессогенности родительской роли в общей молодёжной выборке значительный вклад в предопределение представлений о стрессогенности

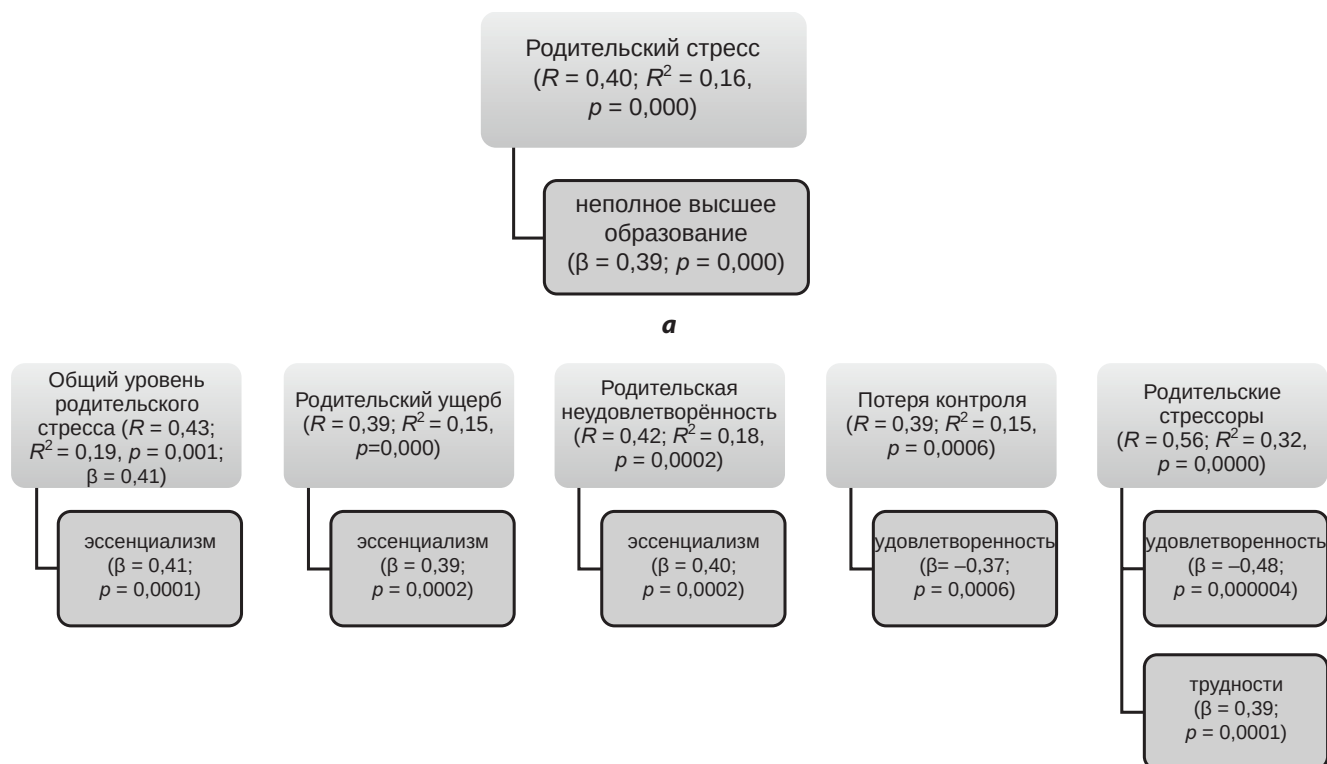


РИС. 7.

Детерминация показателей уровня предполагаемого родительского стресса у молодёжи с ориентацией на многодетность: **а** – объективных характеристик; **б** – субъективных характеристик

FIG. 7.

The influence on indicators of the level of perceived parental stress in young people with a focus on having many children: **a** – with objective characteristics; **b** – with subjective characteristics

вносит *возраст*, что согласуется с имеющимися исследованиями о развитии системы представлений о родителе [17], а также может объясняться расширением социального опыта, когнитивным развитием, повышением уровня личностной зрелости. Видимо, эти процессы также могут объяснить и роль *фактора образования*. Возможно, обучение в вузах, просвещающее о закономерностях развития, формирует ожидание стрессогенности, так как говорит в основном о кризисах и трудностях различных возрастных периодов и мало – о вариантах их преодоления. Имеющийся опыт отказа от обучения в вузе (неоконченное высшее) повышает стрессогенность в части представлений о высоких требованиях к родителям (родительские стрессоры), что, предположительно, может быть связано с ожиданием неопределённости будущего.

Выделение факта «отсутствие партнёра» как фактора гипотетического РС не показалось неожиданным, поскольку в целом неполная семья считается более уязвимой, а родитель в ней более подвержен сложностям, связанным с ролевой перегрузкой. Также это согласуется с важной ролью социальной поддержки в возникновении РС [12]. В некоторых исследованиях фактор отсутствия партнёра косвенно определяется как стрессогенный, поскольку он связан с более низкой удовлетворённостью родительской ролью [8].

Пол не выступает как детерминанта стрессогенности родительства в отношении представлений о родительском стрессе в совокупной выборке. Однако он может являться фактором, оказывающим влияние на эти представления, в отдельном анализе данных группы потенциально малодетных родителей. В этом нам видится следование гендерным стереотипам (представление о большей роли женщин в воспитании детей и, как следствие, о большем стрессе, испытываемом ею). В ряде исследований показано, что матери испытывают меньшую удовлетворённость родительство, нежели отцы [1, 3]. В контексте выраженности эссенциальных установок интенсивного родительства женщины зачастую испытывают давление со стороны общества, заставляющее их следовать культурным стандартам воспитания с высокой степенью участия [26]. Также вслед за L. Ruppner и соавт. (2019) мы склонны обосновывать этот результат большей ориентировкой потенциально малодетных матерей на основную роль в уходе за детьми и в их воспитании, а также на преимущественное выполнение ими домашних обязанностей [28]. Стоит отметить, что экономическое положение, тип родительской семьи, наличие разводов и ряд других предполагаемых нами факторов также не стали детерминантами представлений о стрессогенности родительской роли в общей выборке потенциальных родителей.

Среди личных «субъективных» микроуровневых факторов, являющихся детерминантами стрессогенности родительской роли в представлениях молодых людей, большую роль играют *установки на интенсивность воспитания*. Интересным является установленный факт отрицательного влияния установки на получение удовлетворённости от родительства на представление о РС у молодёжи. Данная установка рассматривается как вариант самореализации, когда активное воспитание ребёнка может приносить положительный результат, и удовольствие, соответственно может выступать фактором, снижающим представления о стрессогенности родительства. Аналогичные данные были получены нами ранее на выборке матерей, стресс которых был низким при наличии убеждений о вознаграждаемости родительства [29].

Установка о необходимости стимулировать развитие ребёнка с раннего возраста является фактором, усиливающим восприятие родительской роли как стрессогенной. Данная связь также прослеживается в группах молодёжи, ориентированной на бездетность или малодетность, что подчёркивает её роль в фертильных планах. Выявленная закономерность подтверждает негативную роль родительского детерминизма как тотальной социальной установки, создающей ориентации на «правильное родительство» [30].

Стоит отметить большое количество связей параметров представляемого родительского стресса с *восприятием родительской роли как трудной* (родительство воспринимается как сложная жизненная задача, «вызов», «трудозатратный проект») и *убеждениями эссенциализма* (женщина является более компетентным родителем и несёт основную нагрузку по уходу и воспитанию). Выделенные субъективные факторы стрессогенности родительской роли в молодёжной среде характерны и для родителей с детьми. Мужчины и женщины, считавшие родительство сложной задачей, были склонны к депрессии и демонстрировали более высокие уровни стресса, при этом испытывая меньшую удовлетворённость жизнью. Убеждённость женщин в том, что «материнство – это вызов», снижает их чувство компетентности в качестве родителя, что приводит к ухудшению самочувствия [29].

Значительный вклад в представления о стрессогенности родительской роли вносит фактор *оценки отношений в семье* респондентов. Хотелось бы отметить, что оценка детско-родительских отношений не стала детерминантой (хотя имеет связь с представлениями о РС в некоторых группах респондентов), что противоречит имеющимся исследованиям, показывающим роль отношений с родителями в становлении представлений [17]. Однако это указывает на роль включённости в семейную систему, наличие системной социальной поддержки как фактора протекции восприятия стрессогенности родительской роли. Базисные убеждения не были определены как детерминанты общих представлений о стрессогенности родительской роли, но некоторые из них могут влиять на представления о стрессе родителя группы молодёжи, ориентированной на многодетность.

Анализ детерминант представлений о стрессогенности родительства с учётом репродуктивных планов позволяет констатировать наличие системы производящих (детерминирующих) и второстепенных (выступающих в качестве условий) факторов стрессогенности родительской роли. Однако среди и первых, и вторых во всех трёх группах существуют статистически значимо сильные и многочисленные связи параметров РС с субъективными факторами. Общим для всех групп оказалась отрицательная связь параметров родительского стресса с удовлетворённостью, что в полной мере соотносится с исследованиями зарубежных учёных, свидетельствующими о негативных аспектах родительства [1, 2].

Группа гипотетически малодетных родителей, среди которых большинство выросли в полных семьях, и у них самый высокий процент отсутствия сиблингов среди всех групп, представляют родительскую роль как умеренно стрессогенную, имеющую ресурс в виде получения позитивных эмоций, удовольствия от родительства. В качестве объективных детерминант представлений о РС выступает фактор возраста, что позволяет предполагать закрепление критичного, но тревожного отношения к родительству и, соответственно, установок на малодетность при взрослении. Как способствующие усилению представлений о РС в данной группе могут выступать фактор принадлежности к женскому полу и образование. Среди субъективных детерминант стрессогенности родительства выступает сочетание различных установок на интенсивность воспитания, а также невысокая оценка семейных отношений. Чаще всего в системе производящих субъективных факторов, усиливающих РС, значительную роль играет сочетание установки на главенствующую роль матери («эссенциализм») с установками на дефицит получения удовольствия от воспитания («удовлетворённость») или на необходимость стимулировать развитие («стимуляция»). Это формирует некоторый психологический портрет семьи, существующий в этой группе и связанный с РС, с гиперответственной мамой, ощущающей необходимость развивать ребёнка и не получающей удовольствия от этого.

Группа респондентов с ориентацией на многодетность, которые показали самую низкую выраженность стрессогенности родительской роли, преимущественно воспитывались в полной семье, и весомая их часть – в многодетных семьях. В качестве объективных детерминант представлений о РС у них выступает наличие опыта незавершённого образования. Это, вероятно, рассматривается в данной группе как потеря ресурса, противостоящего РС. Принадлежность к женскому полу здесь оказывает, как и в предыдущей группе, усиливающее влияние, а со снижением РС связан только мужской пол. Полученные результаты соотносятся с данными других учёных [1, 7], что при только намечающейся тенденции к изменению ситуации и к большему вовлечению мужчин в процесс воспитания детей, а следовательно, и их большей подверженности родительскому стрессу, является актуальным. В качестве субъектив-

ных детерминант выступают исключительно установки на воспитание, среди которых лидируют параметр эссенциализма и чувство преимущественной ответственности матерей за воспитание ребёнка. Это может объясняться страхом потери социальной поддержки, о которой, например, сообщают женщины, имеющие детей [14].

В этой группе также отмечается связь параметров РС с оценкой отношений в семейной системе (детско-родительских и семейных в целом), что выступает условием усиления РС в представлениях молодёжи. В литературе отчасти освещены конфликтная ситуация в семье [8] и особенности родительских семей как факторы стресса [19], а в нашем случае это может подчёркивать роль субъективной оценки опыта воспитания в родительской семье. Влияние базисных убеждений на показатели РС выявлено только в данной группе респондентов, что, на наш взгляд, может говорить о роли личностных факторов в формировании представлений о родительстве и требует дальнейшего изучения.

Почти полное отсутствие объективных детерминант стрессогенности родительской роли выявлено только в *группе лиц с ориентацией на бездетность*. В данной группе больше респондентов мужского пола, не имеющих отношений, и самые высокие показатели выраженности предполагаемого РС, на который может оказывать (в качестве объективного условия) позиция единственного ребёнка в семье. Невозможность получения удовольствия и самореализации от процесса воспитания ребёнка являются производным для симптомов РС фактором, а выраженность иных установок на воспитание может оказывать влияние на представления о стрессогенности родительской роли. Интересным является установленное отрицательное влияние на усиление признаков родительского стресса несформированности установок на детоцентризм и необходимости стимулирования детей. Данный факт заставляет предположить наличие внутреннего конфликта у этих респондентов: с одной стороны – нежелание ставить воспитание ребёнка в жизненный приоритет и тратить на него личные ресурсы, с другой – понимание необходимости этого. Такое положение дел, на наш взгляд, может приводить к чувству вины, а выбранная ориентация на бездетность – рассматриваться как выход из конфликта.

Ограничениями исследования является некоторая обзорность выделенных субъективных факторов раскрытия детерминант представлений о родительском стрессе, что обусловлено поисковым характером исследования. Возраст респондентов накладывает ограничения на генерализацию полученных результатов на всю совокупность молодых людей, не имеющих детей (например, старше 30 лет), но он позволяет выделить статистически значимые закономерности, актуальные для молодёжи поколения Z. Полное изложение детерминант представлений о родительском стрессе видится нам как перспектива дальнейших исследований данной тематики.

ВЫВОДЫ

В результате теоретического анализа отмечено негативное влияние родительского стресса и тенденции к интенсивному исполнению родительской роли на психическое здоровье родителей и детей с точки зрения создания препятствий для нормативного взросления и психического развития.

Эмпирическое исследование позволило выделить комплекс факторов, которые могут оказывать влияние на повышение стрессогенности родительской роли в представлениях потенциальных родителей и, соответственно, увеличивать риск неблагоприятного для собственного психического и физического здоровья и здоровья детей родительского поведения.

Молодые люди как потенциальные родители воспринимают родительскую роль с точки зрения её «интенсивности» и трудозатратности. В целом представления молодых людей о потенциальном стрессе родительства детерминируются комплексом контекстных «объективных» (возраст, статус личных отношений, образование) и личных «субъективных» (оценкой семейных отношений, установками на необходимость стимуляции развития ребёнка, эссенциализм и получение удовлетворения от воспитания детей) факторов, однако наибольший вклад вносят субъективные факторы.

Уровень стрессогенности родительской роли статистически значимо различается в представлениях молодёжи с разной ориентацией на деторождение, что может рассматриваться как одно из условий формирования фертильных установок. Уровень стрессогенности родительства определяется системой детерминирующих факторов. В качестве общих предпосылок РС (не зависящих от планов на деторождение) выступают установки на интенсивность воспитания, которые, видимо, формируются как обобщение детского семейного и социального опыта. Основополагающую роль здесь играет установка на дефицит удовольствия от воспитания детей.

В группе лиц с чайлд-фри ориентацией отмечено практически полное отсутствие детерминации стрессогенности родительства объективными характеристиками, обусловленность высокого уровня РС в представлениях молодых людей установкой на невозможность самореализации и получения удовольствия от воспитания детей. Выбор ориентации на бездетность может являться способом разрешения конфликта между несформированностью установок на приоритет ребёнка и давлением социальных требований по его воспитанию.

Выявлена схожесть детерминант РС, умеренный уровень которого прогнозируется в будущем, в группах респондентов с ориентацией на деторождение. Основными параметрами являются эссенциализм, отражающий неравномерность распределения обязанностей по воспитанию и развитию детей между матерью и отцом, избыточный уровень ответственности матери за это. В группе молодёжи с малодетной ориентацией повышение уровня РС и его симптомов детерминирует комплекс устано-

вок, включающих эссенциализм, а также оценка семейных отношений.

Таким образом, отмечена преимущественная детерминация представлений о стрессогенности родительской роли субъективными факторами в противовес объективным. Выявлена специфика детерминации представлений о родительском стрессе в зависимости от ориентации на деторождение.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 22-28-00678 (<https://rscf.ru/project/22-28-00678>).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Nelson SK, Kushlev K, Lyubomirsky S. The pains and pleasures of parenting: When, why, and how is parenthood associated with more or less well-being? *Psychol Bull.* 2014; 140(3): 846-895. doi: 10.1037/a0035444
2. Bornstein M. Children's parents. In: Lerner R, Liben L, Muelher U (eds). *Handbook of child psychology and developmental science. Cognitive processes.* 2015: 1-78.
3. Nomaguchi K, Milkie MA. Parenthood and well-being: A decade in review. *J Marriage Fam.* 2020; 82(1): 198-223. doi: 10.1111/jomf.12646
4. Chen HY, Hou TW, Chuang CH, TBPS Research Group. Applying data mining to explore the risk factors of parenting stress. *Exp Sys Appl.* 2010; 37(1): 598-601. doi: 10.1016/j.eswa.2009.05.028
5. Pritchard KM, Falci CD. Mental health across motherhood status: An examination of mediating factors. *J Family Iss.* 2020; 41(8): 1083-1111. doi: 10.1177/0192513X19885160
6. Deater-Deckard K. Parenting stress and child adjustment: Some old hypotheses and new questions. *Clin Psychol Sci Pract.* 1998; 5(3): 314-332. doi: 10.1111/j.1468-2850.1998.tb00152.x
7. Савенышева С.С., Аникина В.О., Мельдо Э.В. Факторы родительского стресса матерей детей раннего и дошкольного возраста: анализ зарубежных исследований. *Современная зарубежная психология.* 2019; 8(4): 38-48. [Savenysheva SS, Anikina VO, Meldo EV. Factors of parenting stress in mothers of young and preschool children: An analysis of foreign studies. *Journal of Modern Foreign Psychology.* 2019; 8(4): 38-48. (In Russ.)]. doi: 10.17759/jmfp.2019080404
8. Nelson-Coffey SK, Killingsworth M, Layous K, Cole SW, Lyubomirsky S. Parenthood is associated with greater well-being for fathers than mothers. *Personality Soc Psychol Bull.* 2019; 45(9): 1378-1390. doi: 10.1177/0146167219829174
9. Oyarzún-Farías M, Cova F, Navarrete CB. Parental stress and satisfaction in parents with pre-school and school age children. *Front Psychol.* 2021; 12: 683117. doi: 10.3389/fpsyg.2021.683117
10. Vuori A, Åstedt-Kurki P. Experiences of health and well-being among Finnish low-income fathers. *Nurs Inquiry.* 2013; 20(2): 165-175. doi: 10.1111/j.1440-1800.2011.00590.x
11. McQuillan ME, Bates JE. Parental stress and child temperament. In: Deater-Deckard K, Panneton R (eds). *Parental stress and early child development.* 2017: 75-106. doi: 10.1007/978-3-319-55376-4_4
12. Secco ML, Moffatt ME. Situational, maternal, and infant influences on parenting stress among adolescent mothers. *Iss Compr Pediatr Nurs.* 2003; 26(2): 103-122. doi: 10.1080/01460860390197862
13. Василенко В.Е., Савенышева С.С., Заплетина О.О. Родительский и повседневный стресс у матерей детей раннего и дошкольного возраста. *Консультативная психология и психотерапия.* 2021; 29(4): 27-48. [Vasilenko VE, Savenysheva SS, Zapletina OO. Parenting stress and daily hassles in mothers of young and preschool children. *Counseling Psychology and Psychotherapy.* 2021; 29(4): 27-48. (In Russ.)]. doi: 10.17759/cpp.2021290403
14. Mikolajczak M, Raes ME, Avalosse H, Roskam I. Exhausted parents: Sociodemographic, child-related, parent-related, parenting and family-functioning correlates of parental burnout. *Key Topics in Parenting and Behavior.* 2022: 57-69.
15. Аникина В.О., Пшонова К.А. Взаимосвязь родительских компетенций, эмоционального состояния и уровня родительского стресса матерей детей дошкольного и младшего школьного возраста. *Мир науки. Педагогика и психология.* 2019; 7(6). [Anikina VO, Psonova KA. Correlations between parental competencies, emotional states and parenting stress of mothers of preschool and primary school children. *World of Science. Pedagogy and Psychology.* 2019; 7(6). (In Russ.)]. URL: <https://mir-nauki.com/PDF/59PSMN619.pdf> [дата доступа: 04.06.2023].
16. Neal ZP, Neal JW. Prevalence, age of decision, and interpersonal warmth judgements of childfree adults. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 11907. doi: 10.1038/s41598-022-15728-z
17. Захарова Е.И., Карабанова О.А., Старостина Ю.А., Долгих А.Г. Представления о будущем родительстве в подростковом и юношеском возрасте. *Российский психологический журнал.* 2019; 16(2): 103-122. [Zakharova EI, Karabanova OA, Starostina YuA, Dolgikh AG. Ideas on future parenthood in adolescents and young adults. *Russian Psychological Journal.* 2019; 16(2): 103-122. (In Russ.)]. doi: 10.21702/rpj.2019.2.6
18. Антипина А.Н., Бастраскова Н.С. Сформированность представлений о родительстве в аспекте оптимизма в период ранней юности. *Прикладная психология: Материалы 7-й Всероссийской научно-практической конференции для практикующих психологов, молодых ученых и студентов (25–26 апреля 2013 г., Екатеринбург).* Екатеринбург; 2013: 61-64. [Antipina AN, Bastrakova NS. Formation of ideas about parenthood in the aspect of optimism during early adolescence. *Applied psychology: Materials of the 7th All-Russian scientific and practical conference for practicing psychologists, young scientists and students (April 25–26, 2013, Yekaterinburg).* Yekaterinburg; 2013: 61-64. (In Russ.)].
19. Ajzen I, Klobas J. Fertility intentions: An approach based on the theory of planned behavior. *Demograph Res.* 2013; 29: 203-232. URL: <https://www.jstor.org/stable/26348152> [date of access: 12.05.2023].
20. Peng R, Mou W, Xu P. Factors associated with fertility intention among Chinese married youth during the COVID-19 pandemic. *Behav Sci.* 2023; 13(2): 184. doi: 10.3390/bs13020184
21. Вагапова А.Р. Формирование представлений у молодежи о материнстве и отцовстве. *Известия Саратовского университета. Серия Философия. Психология. Педагогика.* 2015; 15(2): 31-35. [Vagapova AR. Formation of ideas of moth-

erhood and paternity at youth. *Izvestiya of Saratov University. Philosophy. Psychology. Pedagogy*. 2015; 15(2): 31-35. (In Russ.)). doi: 10.18500/1819-7671-2015-15-2-31-35

22. Бостанджиева Т.М., Алферова Е.И., Остякова Г.В. Психологические аспекты готовности к родительству. *Современное педагогическое образование*. 2020; (6): 231-235. [Bostandzhieva TM, Alferova EI, Ostyakova GV. Psychological aspects of readiness for parenthood. *Modern Pedagogical Education*. 2020; (6): 231-235. (In Russ.)].

23. Мерзлякова С.В., Бибарсова Н.В. Ответственность как фактор развития семейного самоопределения в юношеском возрасте. *Национальный психологический журнал*. 2022; 2(46): 3-13. [Merzlyakova SV, Bibarsova NV. Responsibility as a factor in the development of family self-determination in adolescence. *National Psychological Journal*. 2022; 2(46): 3-13. (In Russ.)]. doi: 10.11621/npj.2022.0201

24. Падун М.А., Котельникова А.В. Модификация методики исследования базисных убеждений личности Р. Янофф-Бульман. *Психологический журнал*. 2008; 29(4): 98-106. [Padun MA, Kotel'nikova AV. Modification of R. Janoff-Bulman's procedure for personality basic beliefs study. *Psychological Journal*. 2008; 29(4): 98-106. (In Russ.)].

25. Злоказов К.В., Новикова Ю.А., Гайдамашко И.В., Шахматов А.В. Связь базисных убеждений сотрудников органов внутренних дел с представлением о социальном взаимодействии. *Психология и педагогика служебной деятельности*. 2022; (1): 28-35. [Zlokazov KV, Novikova YA, Gaidamashko IV, Shakhma-

tov AV. Relationship of basic beliefs of internal affairs officers with the notion of social interaction. *Psychology and Pedagogy of Service Activity*. 2022; (1): 28-35. (In Russ.)]. doi: 10.24412/2658-638X-2022-1-28-35

26. Liss M, Schiffrin NH, Mackintosh VH, Miles-McLean H, Erchull MJ. Development and validation of a quantitative measure of intensive parenting attitudes. *J Child Family Studies*. 2013; 22: 621-636. doi: 10.1007/s10826-012-9616-y

27. Мисюк Ю.В., Тихонова И.В. Русскоязычная версия «Шкалы родительского стресса»: результаты первичной оценки внутренней надежности и валидности. *Общество: социология, психология, педагогика*. 2022; 9(101): 58-66. [Misiyuk YuV, Tikhonova IV. Russian version of the Parental Stress Scale: Results of the initial assessment of internal reliability and validity. *Society: Sociology, Psychology, Pedagogics*. 2022; 9(101): 58-66.]. doi: 10.24158/spp.2022.9.9

28. Ruppanner L, Perales F, Baxter J. Harried and unhealthy? Parenthood, time pressure, and mental health. *J Marriage Family*. 2019; 81(2): 308-326. doi: 10.1111/jomfm.12531

29. Мисюк Ю.В., Тихонова И.В., Хазова С.А. Интенсивное материнство в контексте родительского стресса. *Вопросы психологии*. 2022; 68(3): 71-81. [Misiyuk YuV, Tikhonova IV, Khazova SA. Intensive mothering in the context of parenting stress. *Voprosy Psichologii*. 2022; 68(3): 71-81. (In Russ.)].

30. Widding U. Parental determinism in the Swedish strategy for parenting support. *Soc Policy Soc*. 2018; 17(3): 481-490. doi: 10.1017/S1474746417000513

Сведения об авторах

Тихонова Инна Викторовна – кандидат психологических наук, доцент кафедры специальной педагогики и психологии, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: inn.007@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7756-0610>

Шипова Наталья Сергеевна – кандидат психологических наук, доцент кафедры специальной педагогики и психологии, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: ns.shipova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0741-1297>

Мисюк Юлия Викторовна – кандидат психологических наук, младший научный сотрудник управления научно-исследовательской деятельности, ФГБОУ ВО Костромской государственный университет, e-mail: misiyk@ysmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3257-1978>

Information about the authors

Inna V. Tikhonova – Cand. Sc. (Psychol.), Associate Professor at the Department of Special Pedagogy and Psychology, Kostroma State University, 156000 Russian Federation, Kostroma, e-mail: inn.007@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7756-0610>

Natalya S. Shipova – Cand. Sc. (Psychol.), Associate Professor at the Department of Special Pedagogy and Psychology, Kostroma State University, e-mail: ns.shipova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0741-1297>

Yuliya V. Misiyuk – Cand. Sc. (Psychol.), Junior Research Officer at the Department of Research Activity, Kostroma State University, e-mail: misiyk@ysmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3257-1978>

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОНОАМИНОВЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ В ТКАНЯХ МОЗГА КРЫС С ПОМОЩЬЮ ВЭЖХ-МС/МС

РЕЗЮМЕ

Хохлов А.Л.^{1,2},
Яичков И.И.^{1,2},
Корсаков М.К.¹,
Каграманян И.Н.³,
Вольхин Н.Н.¹,
Петухов С.С.^{1,2},
Зайкова В.Е.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский
государственный педагогический
университет им. К.Д. Ушинского»
(150010, г. Ярославль,
ул. Технопарковая, 11/2, Россия)

² ФГБОУ ВО «Ярославский
государственные медицинский
университет» Минздрава России
(150000, г. Ярославль,
ул. Революционная, 5, Россия)

³ ФГАОУ ВО Первый Московский
государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский
Университет) (119991, г. Москва,
ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Яичков Илья Игоревич,

e-mail: ilya_1993_08@mail.ru

Обоснование. Определение изменения содержания моноаминовых нейромедиаторов и их метаболитов в структурах головного мозга является необходимой частью изучения фармакодинамики противопаркинсонических лекарственных средств. Методика совместного определения норадреналина, адреналина, допамина, серотонина, 5-гидроксииндол-3-уксусной кислоты, 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты, гомованилиновой кислоты, ванилилминдальной кислоты в тканях мозга крыс ранее не была разработана. Цель исследования. Разработка и валидация методики количественного определения норадреналина, адреналина, допамина, серотонина, 5-гидроксииндол-3-уксусной кислоты, 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты, гомованилиновой кислоты, ванилилминдальной кислоты в тканях мозга крыс с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС).

Методы. Методика определения моноаминовых медиаторов и их метаболитов разработана с применением метода ВЭЖХ-МС/МС. Гомогенаты тканей мозга готовились с помощью механического ручного гомогенизатора. Изучено влияние различных антиоксидантов на стабильность норадреналина, адреналина, допамина и 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты в испытуемых образцах.

Результаты. Хроматографическое разделение компонентов пробы осуществлялось с помощью двух хроматографических колонок Synergi Max RP (20 × 2,0 мм, 2,5 мкм) и Synergi Fusion RP 80Å (250 × 4,6 мм, 4 мкм). Элюирование проводили в градиентном режиме с применением подвижной фазы на основе метанола и 0,1%-го раствора муравьиной кислоты в воде. Для подготовки проб гомогенатов использовалось разведение образцов раствором внутренних стандартов в метаноле. В качестве стабилизатора-антиоксиданта был выбран 5%-й водный раствор аскорбиновой кислоты.

Заключение. Разработанная методика прошла полную валидацию и соответствует требованиям российских и международных руководств. Выбранный способ стабилизации позволяет хранить образцы гомогенатов мозга в течение 30 дней после отбора.

Ключевые слова: ВЭЖХ-МС/МС, моноаминовые нейромедиаторы, ткани мозга, стабилизация образцов

Для цитирования: Хохлов А.Л., Яичков И.И., Корсаков М.К., Каграманян И.Н., Вольхин Н.Н., Петухов С.С., Зайкова В.Е. Разработка и валидация методики количественного определения моноаминовых нейромедиаторов и их метаболитов в тканях мозга крыс с помощью ВЭЖХ-МС/МС. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 177-191. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.18

Статья поступила: 24.07.2023

Статья принята: 19.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF MONOAMINE NEUROTRANSMITTERS AND THEIR METABOLITES IN RAT BRAIN TISSUE USING HPLC-MS/MS

Khokhlov A.L.^{1,2},
Yaichkov I.I.^{1,2},
Korsakov M.K.¹,
Kagramanyan I.N.³,
Volkhin N.N.¹,
Petukhov S.S.^{1,2},
Zaikova V.E.^{1,2}

¹ Yaroslavl State Pedagogical
University named after K.D. Ushinsky
(Tekhnoparkovaya str. 11/2,
Yaroslavl 150010, Russian Federation)

² Yaroslavl State Medical University
(Revolutsionnaya str. 5, Yaroslavl 150000,
Russian Federation)

³ I.M. Sechenov First Moscow State
Medical University (Sechenov University)
(Bolshaya Pirogovskaya str. 2, build. 4,
Moscow 119991 Russian Federation)

Corresponding author:
Ilya I. Yaichkov,
e-mail: ilya_1993_08@mail.ru

ABSTRACT

Background. Determining changes in the content of monoamine neurotransmitters and their metabolites in brain structures is a necessary part of studying the pharmacodynamics of antiparkinsonian drugs. A method for the joint determination of norepinephrine, adrenaline, dopamine, serotonin, 5-hydroxyindole-3-acetic acid, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid, vanillylmandelic acid in rat brain tissue has not previously been developed.

The aim of the study. To develop and to validate a method for the quantitative determination of norepinephrine, adrenaline, dopamine, serotonin, 5-hydroxyindole-3-acetic acid, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid, vanillylmandelic acid in rat brain tissue using high-performance liquid chromatography in combination with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS).

Materials and methods. A method for determining monoamine mediators and their metabolites was developed using the HPLC-MS/MS method. Brain tissue homogenates were prepared using a mechanical hand-operated homogenizer. The effect of various antioxidants on the stability of norepinephrine, adrenaline, dopamine and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid in the test samples was studied.

Results. Chromatographic separation of sample components was carried out using two Synergi Max RP (20 × 2.0 mm, 2.5 μm) and Synergi Fusion RP 80 Å (250 × 4.6 mm, 4 μm) chromatographic columns. Elution was carried out in a gradient mode using a mobile phase based on methanol and a 0.1% solution of formic acid in water. To prepare homogenate batches, the samples were diluted with a solution of internal standards in methanol. A 5% aqueous solution of ascorbic acid was chosen as an antioxidant stabilizer.

Conclusion. The developed methodology has been fully validated and meets the requirements of Russian and international guidelines. The chosen stabilization method allows samples of brain homogenates to be stored for 30 days after collection.

Key words: HPLC-MS/MS, monoamine neurotransmitters, brain tissue, sample stabilization

For citation: Khokhlov A.L., Yaichkov I.I., Korsakov M.K., Kagramanyan I.N., Volkhin N.N., Petukhov S.S., Zaikova V.E. Development and validation of a method for the quantitative determination of monoamine neurotransmitters and their metabolites in rat brain tissue using HPLC-MS/MS. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 177-191. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.18

Received: 24.07.2023

Accepted: 19.01.2024

Published: 26.03.2024

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона является нейродегенеративным заболеванием, при котором происходит снижение численности дофаминергических нейронов в чёрной субстанции, что приводит к уменьшению концентрации допамина (Dop) в стриатуме. Это вызывает классические двигательные симптомы – ригидность, нарушения осанки, акинезию, тремор, брадикинезию. Большинство существующих моделей данного заболевания предполагают использование крыс в качестве подопытных животных [1]. При изучении фармакодинамики новых противопаркинсонических лекарственных средств (ЛС) требуется количественное определение допамина и его основных метаболитов – 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (DOPAC, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid) и гомованилиновой кислоты (3-метокси-4-гидроксифенилуксусной кислоты; HVA, homovanillic acid) в стриатуме. Одной из перспективных групп ЛС, применяемых при лечении болезни Паркинсона, являются ингибиторы фермента МАО-Б, который селективно катализирует окисление допамина. С целью исследования влияния данных ЛС на активность МАО-А необходимо измерять концентрацию норадреналина (NA, noradrenaline), серотонина (5HT, 5-hydroxytryptamine) и его метаболита (5-гидроксииндол-3-ил)-уксусной кислоты (5HIAA, 5-hydroxyindoleacetic acid) [1, 2]. Для контроля правильности отбора проб мозга и стриатума и отсутствия контаминации частицами крови и других тканей необходимо контролировать содержание в пробах адреналина (Adr) и ванилилминдальной кислоты (2-гидрокси-2-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-уксусной кислоты; VMA, vanillylmandelic acid), которые в норме не должны быть обнаружены в данных образцах [3–7].

Для количественного определения перечисленных выше аналитов в биологических объектах применяли высокоэффективную жидкостную хроматографию со спектрофотометрическим (ВЭЖХ-УФ) [8], электрохимическим (ВЭЖХ-ЭД) [9–12] и tandemным масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС) [2, 5–7, 13–20]. Однако методика совместного анализа всех восьми изучаемых веществ в структурах головного мозга ранее не была опубликована. Процесс разработки данной методики осложнён тем, что норадреналин, адреналин, допамин и DOPAC содержат в своей структуре пирокатехиновый фрагмент, что способствует их быстрому окислению в образцах за счёт взаимодействия с эндогенными веществами и кислородом воздуха [4, 21]. Для предотвращения деградации этих соединений требуется добавление к пробам растворов антиоксидантов. На необходимость применения стабилизатора указано только в работах J. Lu и соавт. [2], J. Thomas и соавт. [8], G. Cannazza и соавт. [12], C. Ji и соавт. [15], A. Kovacs и соавт. [17]. Поэтому выбор оптимальных условий стабилизации и хранения отобранных тканей головного мозга крыс также является актуальным для обеспечения достоверности результатов доклинических исследований.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка и валидация методики совместного количественного определения норадреналина, адреналина, допамина, серотонина, 5-гидроксииндол-3-уксусной кислоты, 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты, гомованилиновой кислоты, ванилилминдальной кислоты в тканях мозга крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

На первом этапе исследования осуществлялся выбор оптимальных условий подготовки проб гомогената, а также параметров хромато-масс-спектрометрического определения. Затем производился подбор стабилизатора-антиоксиданта для предотвращения деградации норадреналина, адреналина, допамина и DOPAC. Далее оценивались матричные эффекты методики. На основании полученных результатов была выполнена коррекция объёмного соотношения растворителя и ткани при приготовлении гомогенатов. На следующем этапе проводилась полная валидация биоаналитической методики. Затем осуществлялась её апробация путём анализа проб стриатума шести интактных линейных крыс-самцов породы Wistar массой 362 ± 25 г (среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (SD, standard deviation)). Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 23.03.2023).

Оборудование

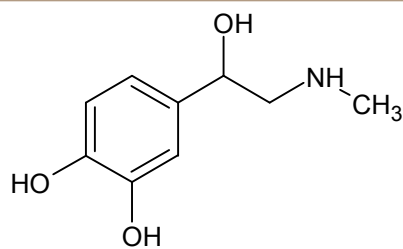
Разработка и валидация методики проводилась на ВЭЖХ-МС/МС-системе, включающей в себя гибридный tandemный масс-спектрометр QTRAP5500 (SCIEX, Канада) и хроматограф 1260 Infinity (Agilent, США) (насос G1312B, автосемплер G1329B с термостатом G1330B, термостат колонок G1316A).

Реактивы

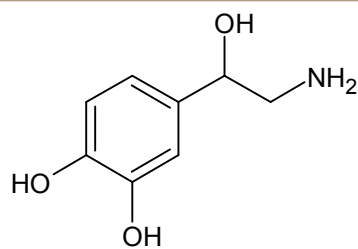
Метанол (кат. № 1060352500; Merck KGaA, Германия) и муравьиная кислота (кат. № A117-50; Thermo Fisher Scientific, США) качества «HPLC-MS-Grade» применяли для приготовления подвижной фазы. Субстанции аскорбиновой кислоты (х. ч.; кат. № 160003; АО «Ленреактив», Россия), натрия сульфита (ч. д. а.; кат. № 130231; АО «Ленреактив», Россия), натрия тиосульфата пентагидрата (кат. № SO07270500; Scharlau, Испания), натрия пиросульфита (ч.; кат. № 8.06.00804; АО «Химреактивснаб», США) были апробированы в качестве антиоксидантов. В качестве стандартных образцов определяемых веществ использовались вторичные стандартные образцы производства Sigma Aldrich (США): норадреналин (кат. № A7257-1G), адреналина гидрохлорид (кат. № E4642-5G), серотонин (кат. № 14927-25MG), допамина гидрохлорид (кат. № H8502-5G), (5-гидроксииндол-3-ил)-уксусная кислота (кат. № H8876-1G), 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота (кат. № 850217-1G), гомованилиновая кислота (кат. № H1252-1G), ванилилминдальная кислота (кат. № H0131-1G). Для пригото-

ния раствора внутренних стандартов (ВС) применяли субстанцию 3,4-дигидроксibenзиламина гидробромида (3,4-

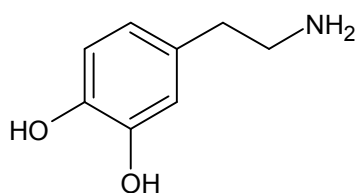
DHBA) (кат. № 858781-1G) и фармакопейный стандартный образец соталола (USP; кат. № 1617408) (рис. 1).



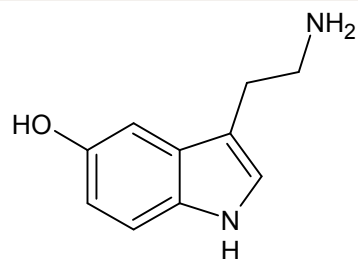
a



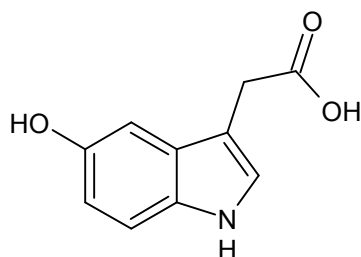
б



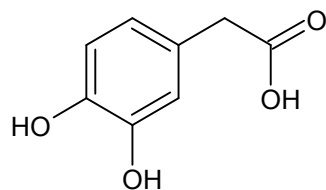
в



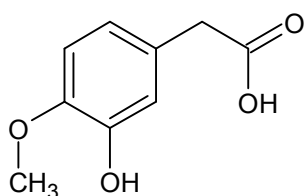
з



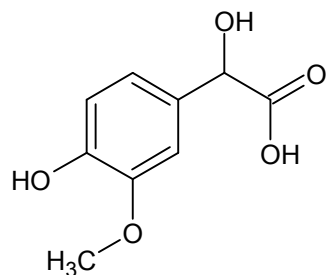
д



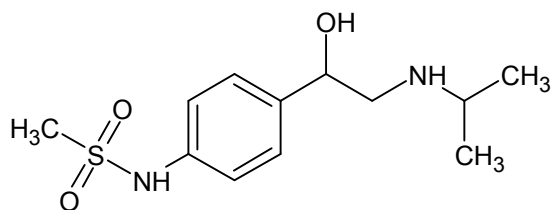
е



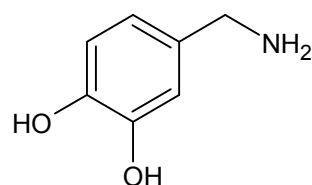
ж



з



и



к

РИС. 1.

Структурные формулы адреналина (а), норадреналина (б), допамина (в), серотонина (з), (5-гидроксииндол-3-ил)-уксусной кислоты (д), 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (е), гомованилиновой кислоты (ж), ванилилминдальной кислоты (з) и внутренних стандартов соталола (и) и 3,4-дигидроксibenзиламина (к)

FIG. 1.

Chemical structure of adrenaline (a), noradrenaline (б), dopamine (в), serotonin (з), (5-hydroxyindol-3-yl)-acetic acid (д), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (е), homovanillic acid (ж), vanillylmandelic acid (з) and internal standards of sotalol (и) and 3,4-dihydroxybenzylamine (к)

Методика хромато-масс-спектрометрического определения

Хроматографическое разделение проводили при градиентном режиме на двух колонках Synergi Max RP (20 × 2,0 мм, 2,5 мкм) и Synergi Fusion RP 80Å (250 × 4,6 мм, 4 мкм), используя в качестве компонентов подвижной фазы 0,1%-й водный раствор муравьиной кислоты и метанол (табл. 1). Данные обращённо-фазовые колонки имели дополнительные гидрофильные функциональные группы, необходимые для удерживания полярных катехоламинов. Температура термостата колонок составляла 40 °С.

ТАБЛИЦА 1
ПАРАМЕТРЫ ГРАДИЕНТНОГО ЭЛЮИРОВАНИЯ
TABLE 1
THE PARAMETERS OF GRADIENT ELUTION

Время, мин	Скорость потока, мкл/мин	A, %	B, %
0,0	650	98	2
2,0	650	98	2
9,0	650	20	80
14,1	650	20	80
14,5	1000	20	80
15,0	1000	20	80
15,1	1000	98	2
19,0	1000	98	2
19,2	650	98	2
21,0	650	98	2

Примечание. Подвижная фаза: А – 0,1%-й водный раствор муравьиной кислоты; В – метанол.

Детектирование проводилось в режиме MRM (multiple reaction monitoring) (табл. 2) с применением электрораспылительной ионизации (ESI, electrospray ionization). Определение NA, Adr, Dop, 5HT, 5HIAA, а также 3,4-DHBA осуществлялось в положительной полярности; DOPAC, HVA, VMA – в отрицательной полярности. Соталол детектировался в обоих полярностях: в положительной – для расчёта концентрации 5HT и 5HIAA; в отрицательной – для расчёта концентрации DOPAC, HVA и VMA. Данное соединение было использовано из-за структурного сходства с катехоламинами и близости его времени удерживания (10,4 мин) к временам удерживания 5HT (10,1 мин), 5HIAA (12,4 мин), DOPAC (11,9 мин), HVA (12,9 мин) и VMA (10,8 мин). В качестве внутреннего стандарта для определения норадреналина, адреналина и допамина применялся 3,4-DHBA. Его выбор основан на ранее опубликованных методиках количественного определения данных аналитов [9–12].

Параметры валидации методики

Полная валидация методики проводилась согласно требованиям руководства по валидации биоаналитических методов (M10) Международного совета по гармонизации (ICH, International Council on Harmonisation) [22], руководства Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA, Food and Drug Administration) [23], руководства (том 1) ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (НЦЭСМП) [24] и Решения Совета Евразийской экономической комиссии (ЕАК) № 85 (приложение 5) [25] к хроматографическим методикам. Модельные смеси гомогенатов готовились из образцов цельного мозга и образцов стриатума крыс породы Wistar. Данные объекты помещались в пред-

ТАБЛИЦА 2
ПАРАМЕТРЫ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ

TABLE 2
THE PARAMETERS OF MASS SPECTROMETRY DETECTION

№	Аналит	Полярность	Напряжение ESI, В	MRM-переход		DP	EP	CE	CXP
				Q1	Q3				
1	Adr	+	4500	184,0	77,0	60	10	45	25
2	NA	+	4500	170,0	77,0	60	10	40	25
3	Dop	+	4500	154,0	119,0	60	10	35	25
4	5HT	+	4500	177,0	160,0	60	10	30	25
5	5HTAA	+	4500	192,0	146,0	60	10	20	13
6	DOPAC	–	–4500	167,0	123,0	–60	–10	–10	–30
7	HVA	–	–4500	181,0	122,0	–60	–10	–20	–25
8	VMA	–	–4500	197,0	137,0	–60	–10	–25	–30
9	3,4-DHBA	+	4500	140,0	77,0	60	10	25	25
10	Sot	+	4500	273,0	133,0	60	10	80	13
		–	–4500	271,0	174,0	–60	–10	–40	–16

Примечание. Sot – соталол; DP – потенциал декластеризации (decluster potential); EP – входной потенциал (entrance potential); CE – энергия соударения (collision energy); CXP – потенциал на выходе из ячейки соударения (collision cell exit potential).

ТАБЛИЦА 3
КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛИБРОВОЧНЫХ ОБРАЗЦОВ
И ОБРАЗЦОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

TABLE 3
CONCENTRATION OF CALIBRATION AND QUALITY
CONTROL SAMPLES

Обозначение	Концентрация, нг/г							
	NA	Adr	Dop	5HT	DOPAC	5HTAA	HVA	VMA
K1 (LLOQ)	50	50	1250	75	200,0	150	80	67,50
K2	100	100	2500	150	400,0	300	160	135,00
K3	200	200	5000	300	800,0	600	320	270,00
K4	300	300	7500	450	1200,0	900	480	405,00
K5	400	400	10000	600	1600,0	1200	640	540,00
K6	600	600	15000	900	2400,0	1800	960	810,00
K7	900	900	22500	1350	3600,0	2700	1440	1215,00
K8	1200	1200	30000	1800,0	4800	3600	1920	1620,00
LQC	150	150	3750	225,0	600	450	240	202,50
MQC	500	500	12500	750,0	2000	1500	800	675,00
HQC	975	975	24375	1462,5	3900	2925	1560	1316,25
Dil	1800	1800	45000	2700,0	7200	5400	2880	2430

Примечание. Dil – концентрация для оценки эффекта разведения; К – калибровочная концентрация.

варительно тарированную пробирку ручного гомогенизатора и после добавления растворителя в нужном объёме гомогенизировались. После центрифугирования к надосадочной жидкости добавляли стандартный раствор смеси аналитов из расчёта 10 мкл стандартного раствора на 190 мкл супернатанта. Для изучения селективности методики (см. серию 1 в таблице 6), а также эффекта разведения проб использовались образцы мозга, хранившиеся в течение 2 лет при температуре не выше -20°C , в которых аналитический сигнал аналитов отсутствовал. Оценка линейности проводилась на 8 уровнях концентраций (K1–K8), правильности и прецизионности – на 4 уровнях концентрации (на нижнем пределе количественного определения (LLOQ, lower limit of quantitation), нижнем (LQC, lower quality control), среднем (MQC, middle quality control) и верхнем (HQC, higher quality control) уровнях контроля качества), эффекта разведения – на одном уровне (Dil) (табл. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На начальном этапе разработки в качестве растворителя для приготовления гомогенатов был выбран метанол, т. к. при использовании воды на хроматограммах отсутствовал пик NA (время удерживания $t_R = 4,7$ мин), а при использовании ацетонитрила его соотношение «сигнал/шум» (S/N, signal/noise) было в 10 раз ниже (106/1). Образцы готовились с помощью ручного гомогенизатора путём добавления растворите-

ля из расчёта 3 мкл растворителя на 1 мг тканей мозга¹. Затем гомогенаты центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об./мин и к 190 мкл супернатанта добавляли 10 мкл метанольного стандартного раствора с концентрацией K4 (табл. 3). К 50 мкл полученной пробы добавляли 120 мкл метанольного раствора смеси внутренних стандартов соталола и 3,4-DHBA. Смесь перемешивали на шейкере в течение 30 с, а затем центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об./мин.

На следующем этапе осуществлялся подбор раствора антиоксиданта (АО) путём изучения краткосрочной стабильности (STS, short-term stability) NA, Adr, Dop и DOPAC в образцах гомогенатов мозга, а также стабильности данных аналитов в приготовленных образцах в автосемплере (ASS, autosampler stability). В качестве стабилизатора применяли водные растворы аскорбиновой кислоты, натрия сульфита, натрия метабисульфита, натрия тиосульфата в концентрациях 5 и 10 % [21]. Раствор антиоксиданта добавлялся из расчёта 10 мкл раствора на 50 мкл гомогената. Результаты испытания приведены в таблице 4.

При добавлении растворов натрия сульфита и натрия тиосульфата не удалось предотвратить окисление всех аналитов (табл. 4). Так, при применении растворов Na_2SO_3 только концентрация DOPAC укладывалась в требуемый диапазон 85–115 % от исходного значения. Использование раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ в концентрации 5 %

¹ Пробу ткани взвешивали в предварительно тарированной пробирке гомогенизатора, а затем добавляли к ней метанол в нужном количестве: например, при массе ткани 100 мг к ней добавляли 300 мкл метанола.

ТАБЛИЦА 4
РЕЗУЛЬТАТЫ ПОДБОРА
СТАБИЛИЗАТОРА-АНТИОКСИДАНТА

TABLE 4
THE RESULTS OF THE ANTIOXIDANT STABILIZER
SELECTION

			Антиоксидант						
			Без АО (n = 2)	Аскорбиновая кислота		Na ₂ S ₂ O ₃		Na ₂ SO ₃	
				5 % (n = 2)	10 % (n = 2)	5 % (n = 2)	10 % (n = 2)	5 % (n = 2)	10 % (n = 2)
Гомогенат в метаноле 1:3 (масса/об.)	NA	ASS (+4 °C, 24 ч)	56,24	109,55	100,12	87,24	96,82	74,82	71,43
		STS (комнатная температура, 24 ч)	49,02	91,02	114,71	100,48	103,19	78,18	77,61
	Adr	ASS (+4 °C, 24 ч)	62,01	97,66	101,95	74,99	79,85	71,44	48,92
		STS (комнатная температура, 24 ч)	59,52	102,19	112,68	34,19	62,90	22,20	38,45
	Dop	ASS (+4 °C, 24 ч)	39,28	105,03	96,62	92,53	N/A	83,01	N/A
		STS (комнатная температура, 24 ч)	35,21	101,39	95,96	54,65	N/A	48,12	N/A
	DOPAC	ASS (+4 °C, 24 ч)	78,26	107,21	97,88	93,37	87,44	94,24	90,94
		STS (комнатная температура, 24 ч)	72,42	107,52	100,55	78,27	87,18	92,37	94,51
Гомогенат в метаноле 1:7 (масса/об.)	NA	ASS (+4 °C, 24 ч)	90,00	90,15	–	–	–	–	–
		STS (комнатная температура, 24 ч)	75,45	97,35	–	–	–	–	–
	Adr	ASS (+4 °C, 24 ч)	70,73	95,98	–	–	–	–	–
		STS (комнатная температура, 24 ч)	23,17	100,57	–	–	–	–	–
	Dop	ASS (+4 °C, 24 ч)	88,31	103,93	–	–	–	–	–
		STS (комнатная температура, 24 ч)	49,93	98,61	–	–	–	–	–
	DOPAC	ASS (+4 °C, 24 ч)	95,55	97,28	–	–	–	–	–
		STS (комнатная температура, 24 ч)	90,24	95,10	–	–	–	–	–

Примечание. N/A – отсутствие хроматографического пика аналита.

позволило предупредить окисление норадреналина, а также допамина и DOPAC в приготовленных образцах в автосемплере. В образцах с добавкой 10%-х растворов Na₂S₂O₃ и Na₂SO₃ хроматографический пик Dop не был обнаружен. При добавлении растворов натрия метабисульфита к метанольным гомогенатам данная соль выпадала в осадок, поэтому эти образцы не анализировались. Только при применении аскорбиновой кислоты концентрация всех аналитов при испытаниях краткосрочной стабильности и стабильности в автосемплере соответствовала установленным требованиям. Для дальнейших испытаний был выбран водный раствор аскорбиновой кислоты наименьшей концентрации 5 %, чтобы минимизировать риск загрязнения хроматографической колонки, источника ионов и ионной оптики масс-спектрометра избыточным количеством данного вещества.

На следующем этапе исследования проводилось изучение матричных эффектов. Для приготовления модельных смесей использовали гомогенаты свежееотобранного мозга крысы, гомогенаты свежееотобранного стриатума и гомогенаты мозга, хранившиеся в течение 2 лет при температуре не выше –20 °C, полученные от 6 разных животных. Согласно требованиям российских и зарубежных руководств по валидации биоаналитических методик [23–25], анализировалась по 6 образцов на уровне концентраций LQC и HQC (см. табл. 3), а также проба каждого гомогената без добавки стандарта для вычитания сигнала эндогенных веществ (табл. 5).

При первоначальных условиях подготовки проб величина коэффициент вариации (CV, coefficient of variation) нормализованного фактора матрицы (NMF, normal matrix factorization) при определении 5HT

ТАБЛИЦА 5
ОЦЕНКА ЭФФЕКТА МАТРИЦЫ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ
АНАЛИТОВ В ГОМОГЕНАТАХ МОЗГА

TABLE 5
ASSESSING THE MATRIX EFFECT WHEN DETERMINING
THE ANALYTES IN BRAIN HOMOGENATES

Аналиты		Гомогенат в соотношении 1:3		Гомогенат в соотношении 1:7
CV (NMF), %	NA	LQC	13,48	11,39
		HQC	14,09	4,80
	Adr	LQC	13,94	7,46
		HQC	12,76	10,56
	Dop	LQC	8,95	6,07
		HQC	5,15	7,29
	5HT	LQC	13,98	5,93
		HQC	17,69	4,37
	5HIAA	LQC	11,14	9,77
		HQC	6,25	5,23
	DOPAC	LQC	26,82	7,89
		HQC	21,38	7,49
	HVA	LQC	11,10	5,37
		HQC	11,95	8,65
	VMA	LQC	10,90	8,37
		HQC	10,31	5,07
Соотношение площадей пиков «аналит/ внутренний стандарт» (среднее значение)	5HT (гомогенат мозга) (n = 4)	LQC	0,183	0,135
		HQC	1,464	0,956
	5HT (гомогенат стриатума) (n = 2)	LQC	0,142	0,132
		HQC	1,021	0,940
	DOPAC (гомогенат мозга) (n = 4)	LQC	4,635	2,223
		HQC	33,255	15,538
	DOPAC (гомогенат стриатума) (n = 2)	LQC	2,701	2,115
		HQC	22,502	15,327

Примечание. CV (NMF) – коэффициент вариации нормализованного фактора матрицы (coefficient of variation for normal matrix factorization).

и DOPAC превышала допустимый предел в 15 % (табл. 5). Для снижения матричных эффектов было изменено соотношение метанола и тканей мозга при приготовлении гомогенатов: проба готовилась из расчёта 7 мкл растворителя на 1 мг ткани. При данных условиях подготовки проб результат CV (NMF) отвечал установленным требованиям для всех аналитов. Далее была повторно проверена стабильность NA, Adr, Dop и DOPAC в образцах метанольного гомогената, приготовленного в соотношении 1:7, с применением выбранного ранее 5%-го водного раствора аскорбиновой кислоты (см. табл. 4). Концентрации всех аналитов при испытаниях ASS и STS укладывались в допустимый диапазон 85,0–115,0 % от исходного значения.

Таким образом, для количественного определения концентрации изучаемых веществ в тканях мозга гомогенат готовился вручную в соотношении 1:7 (масса ткани/ объём метанола). Далее пробу центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об./мин. И стабилизировали водным раствором аскорбиновой кислоты в концентрации 5 % из расчёта 10 мкл раствора на 50 мкл супернатанта. Затем к 60 мкл смеси добавляли 120 мкл метанольного раствора внутренних стандартов, перемешивали в течение 30 с и центрифугировали в течение 5 мин при 10000 об./мин. Надосадочную жидкость переносили в микровставку и анализировали с помощью ВЭЖХ-МС/МС.

После выбора окончательных условий подготовки проб и хромато-масс-спектрометрического определе-

ния проводилась полная валидация методики. Аналитический диапазон для Adr и NA составил 50–1200 нг/г, для Dop – 1,25–30,00 мкг/г, для 5HT – 75–1800 нг/г, для DOPAC – 200–4800 нг/г, для 5HIAA – 150–3600 нг/г, для HVA – 80–1920 нг/г, для VMA – 67,5–1620 нг/г. Зависимость соотношения площадей пиков «аналит/внутренний стандарт» от концентрации каждого соединения носила линейный характер. При оценке селективности методики на образцах гомогенатов мозга, хранившихся при температуре не выше –20 °С в течение 2 лет, пло-

щадь хроматографических пиков в холостых образцах у аналитов не превышала 20 % от площади пиков в образцах LLOQ, для внутренних стандартов соталола, для внутренних стандартов 3,4-DHBA площадь хроматографических пиков не превышала 5 % от площади пиков в образцах LLOQ (рис. 2, 3).

Средние значения рассчитанных концентраций определения всех изучаемых соединений находились в пределах 85–115 % от номинального значения для уровней концентраций LQC, MQC и HQC, в пределах

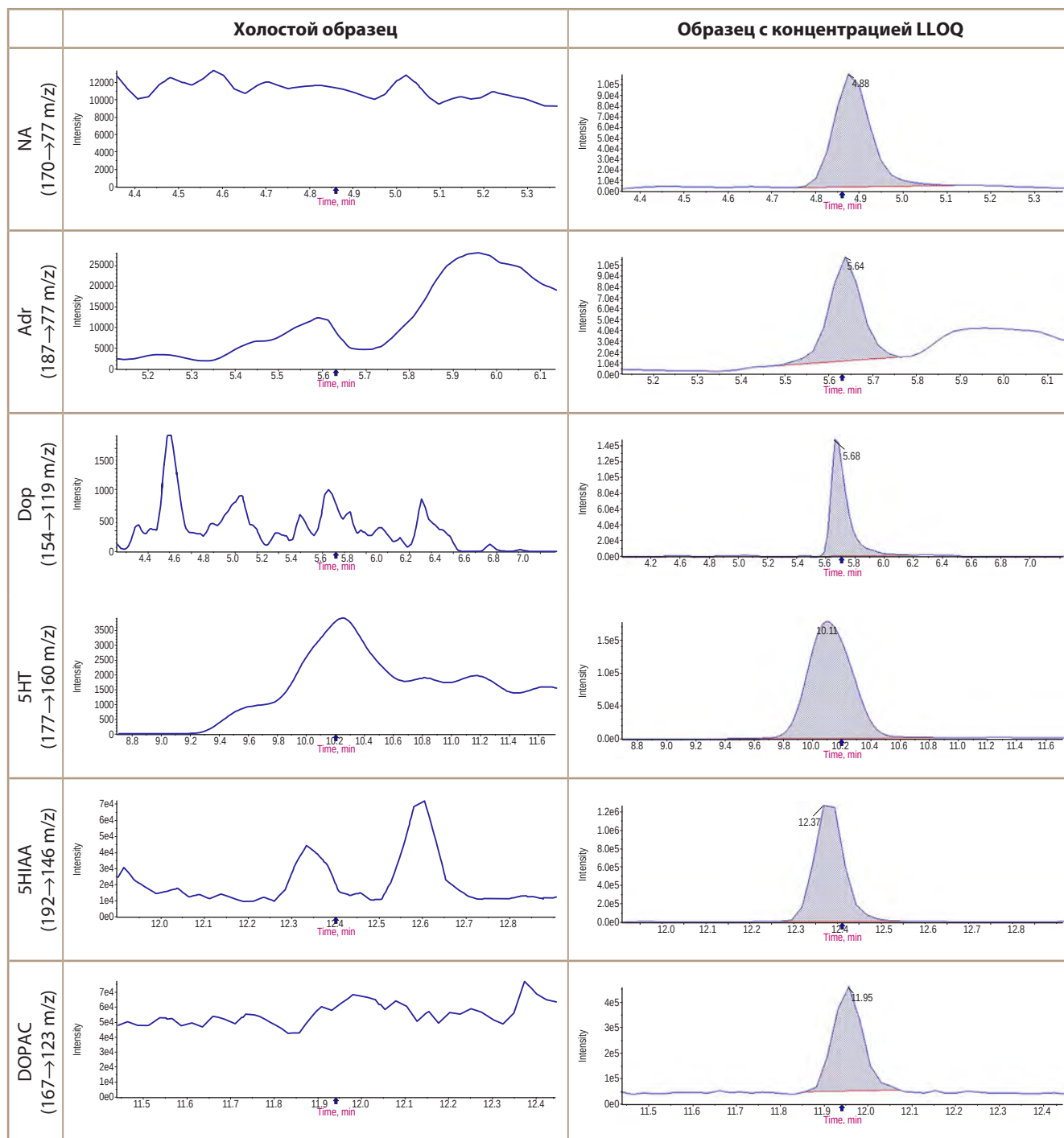


РИС. 2.

Примеры MRM-хроматограмм холостого образца и образца с добавкой стандарта на уровне LLOQ (аналиты – NA, Adr, Dop, 5HT, 5HIAA, DOPAC)

FIG. 2.

The examples of MRM chromatograms of a blank sample and a spiked LLOQ sample (analytes – NA, Adr, Dop, 5HT, 5HIAA, DOPAC)

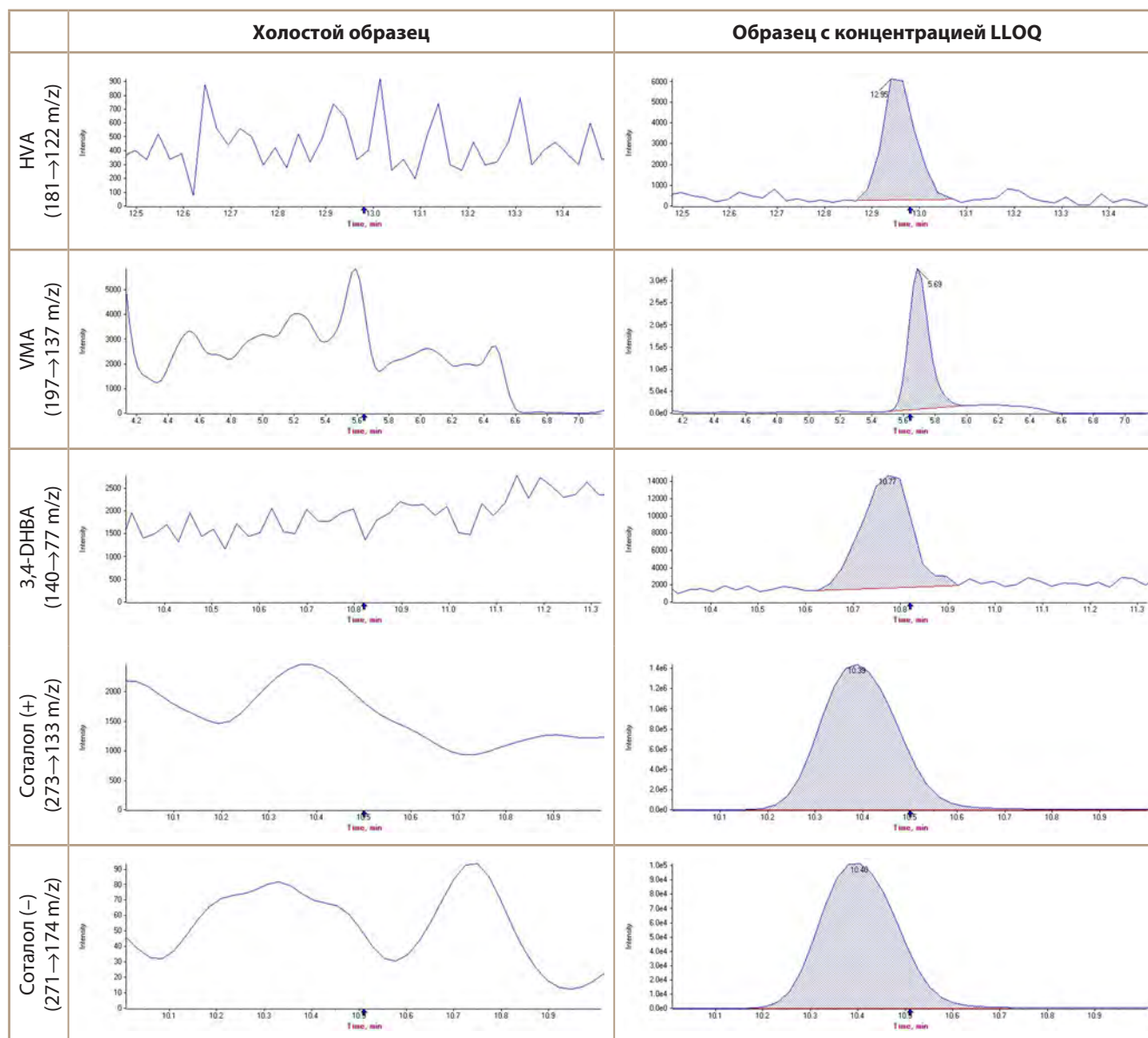


РИС. 3.

Примеры MRM-хроматограмм холостого образца и образца с добавкой стандарта на уровне LLOQ (аналиты – HVA, VMA, 3,4-DHBA (BC), соталол (BC))

FIG. 3.

The examples of MRM chromatograms of a blank sample and a spiked LLOQ sample (analytes – HVA, VMA, 3,4-DHBA (IS), Sotalol (IS))

80–120 % – для уровня концентраций LLOQ, в том числе при оценке селективности методики (табл. 6, серия 1). Величина коэффициента вариации рассчитанных концентраций при этом не превышала 15 %. При этом результат аналитических серий 2 и 3 (табл. 6), выполненных на образцах гомогенатов свежееотобранного мозга, рассчитывался с учётом эндогенного содержания аналитов в пробах без добавки стандарта. Двукратное разведение проб с содержанием изучаемых веществ, превышающим аналитический диапазон (Dil; см. табл. 3), холостой матрицей не влияло на метрологические характеристики методики: значение рассчитанных концентраций аналитов лежало в интервале 89,76–94,99 % от номинального значения, значение CV – в интервале 2,77–5,88 % (табл. 6). Перенос аналитов и внутренних стандартов из предыдущей пробы отсутствовал.

Выбранный раствор антиоксиданта обеспечивает стабильность аналитов в образцах гомогената в течение 24 ч хранения при комнатной температуре, 3 циклов заморозки/разморозки (FTS, freezing/thawing stability), 30 дней хранения в морозильной камере при температуре не выше –20 °C (LTS, long-term stability), а также стабильность в приготовленных пробах в автосемплере в течение 48 ч при температуре +4 °C (табл. 7).

Разработанная методика апробирована путём анализа образцов стриатума, полученного от 6 интактных линейных крыс-самцов породы Wistar. Пробы мозга сразу после забора охлаждали жидким азотом, извлекали стриатум. Гомогенизацию и добавление раствора стабилизатора проводили не позднее 20 мин после отбора. Результаты определения NA, Adr, Dop, 5HT, DOPAC, 5HIAA, VMA, HVA представлены в таблице 8.

ТАБЛИЦА 6
РЕЗУЛЬТАТЫ ВАЛИДАЦИИ РАЗРАБОТАННОЙ МЕТОДИКИ

TABLE 6
RESULTS OF THE VALIDATION OF DEVELOPED METHOD

Параметры		Adr	NA	Dop	5HT	5HIAA	DOPAC	HVA	VMA
Селективность		Интерференция в области времён удерживания аналитов в хроматограммах не превышала 20 % от уровня LLOQ, в области времён удерживания внутренних – не превышала 5 % от площади пика*							
LLOQ		50 нг/г	50 нг/г	1,25 мкг/г	75 нг/г	150 нг/г	200 нг/г	80 нг/г	67,5 нг/г
Калибровочный диапазон (линейная зависимость)		50–1200 нг/г	50–1200 нг/г	1,25–30,00 мкг/г	75–1800 нг/г	150–3600 нг/г	200–4800 нг/г	80–1920 нг/г	67,5–1620 нг/г
Правильность и прецизионность		Асс., %	CV, %	Асс., %	CV, %	Асс., %	CV, %	Асс., %	CV, %
Серия 1 (n = 6**)	LLOQ	112,73	8,34	109,61	12,06	104,46	13,48	82,64	6,28
	LQC	92,25	8,66	96,79	8,94	95,74	7,96	88,31	5,01
	MQC	97,49	8,59	90,04	7,47	97,45	6,48	86,98	2,30
	HQC	104,51	3,78	91,97	4,04	100,89	5,95	89,17	2,95
	LLQC	85,44	8,06	94,21	12,11	90,42	6,40	110,94	7,00
Серия 2 (n = 6**)	LQC	99,82	9,09	92,70	9,06	95,90	10,04	93,18	3,59
	MQC	96,97	9,16	91,98	8,04	92,33	8,77	87,29	3,36
	HQC	104,38	9,21	101,75	6,78	96,28	6,17	93,33	2,72
	LLQC	101,48	13,05	98,56	12,01	106,51	5,59	92,11	3,81
	LQC	93,43	9,26	93,27	7,95	92,70	4,95	91,44	3,09
Серия 3 (n = 6**)	MQC	89,70	3,36	96,11	5,02	91,00	2,70	93,15	3,48
	HQC	87,67	5,39	99,14	5,51	93,76	7,27	96,03	3,22
	LLQC	99,89	15,58	100,79	14,08	100,46	12,13	92,11	3,81
	LQC	95,17	9,95	94,26	9,14	94,78	8,37	91,44	3,09
	MQC	94,72	8,78	92,71	7,65	93,59	7,37	93,15	3,48
Правильность и прецизионность между сериями (n = 18**)	HQC	98,85	10,72	97,62	7,26	96,98	7,35	96,03	3,22
	Асс., %	93,77	90,73	94,99	94,71	89,76	93,58	91,17	93,36
	CV, %	4,63	4,05	3,60	5,88	2,77	3,97	4,68	4,24
	Эффект разведения (n = 6)								

Примечание. * – оценка селективности проводилась в рамках серии 1; ** – количество проб на каждом уровне концентраций; Асс. (assigasy) – отклонение среднего значения рассчитанных концентраций от номинального значения.

ТАБЛИЦА 7
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ СТАБИЛЬНОСТИ АНАЛИТОВ
В ГОМОГЕНАТАХ МОЗГА

Параметры			Adr	NA	Dop	5HT	5HIAA	DOPAC	HVA	VMA
% от исходной концентрации	STS (24 ч при комнатной температуре) (n = 6*)	LQC	100,88	96,58	99,85	91,80	96,93	97,80	99,01	101,79
		HQC	100,47	94,03	97,51	90,64	105,85	102,21	103,88	107,47
	FTS (n = 6*) (3 цикла)	LQC	100,60	101,04	101,40	95,56	97,26	100,69	102,62	105,00
		HQC	103,22	96,78	103,04	97,63	101,48	101,13	102,01	107,44
	ASS (48 ч при +4 °C) (n = 6*)	LQC	102,81	98,42	98,76	96,21	99,61	100,65	101,47	100,41
		HQC	102,48	95,96	96,22	93,82	100,83	97,95	100,79	104,58
	LTS (30 дней при температуре не выше –20 °C) (n = 6*)	LQC	103,11	100,12	104,84	95,50	98,41	102,41	102,43	96,99
		HQC	102,25	99,08	100,74	98,70	98,75	97,84	98,65	98,85

Примечание. * – количество проб на каждом уровне концентрации; FTS – стабильность после 3 циклов заморозки/разморозки (freezing/thawing stability); LTS – долгосрочная стабильность (long-term stability).

ТАБЛИЦА 8
РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
НОРАДРЕНАЛИНА, АДРЕНАЛИНА, ДОПАМИНА,
СЕРОТОНИНА, ДОРАС, 5HIAA, VMA, HVA В ОБРАЗЦАХ
СТРИАТУМА КРЫС

	Концентрация, нг/г							
	Adr	NA	Dop	5HT	5HIAA	DOPAC	HVA	VMA
Средние значения (n = 6)	менее LLOQ	354,85	9181,30	595,86	1180,49	1851,35	896,26	менее LLOQ
SD	–	33,43	1497,84	137,25	244,61	283,25	266,38	–
CV, %	–	9,42	16,31	23,03	20,72	15,30	29,72	–

TABLE 7
RESULTS OF ASSESSING STABILITY OF ANALYTES
IN BRAIN HOMOGENATES

TABLE 8
RESULTS OF QUANTIFICATION OF NORADRENALINE,
ADRENALINE, DOPAMINE, SEROTONIN, DOPAC, 5HIAA,
VMA, HVA IN RAT STRIATUM SAMPLES

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате подбора оптимальных условий анализа для приготовления проб тканей мозга после их механической гомогенизации было выбрано разведение образца метанольным раствором внутренних стандартов. Это значительно ускоряет производительность пробоподготовки по сравнению с работами, в которых использовались жидкостно-жидкостная экстракция [18], диализ [13, 17, 19], а также дериватизация аналитов [13, 14]. Применение ВЭЖХ-МС/МС даёт преимущество в селективности и чувствительности методики по сравнению с ВЭЖХ-УФ [8] и ВЭЖХ-ЭД [9–12] при проведении фармакодинамических исследований ЛС. Так, при использовании данных методик молекулы изучаемых ЛС могут экстрагироваться и коэлюироваться вместе с аналитами, давая тем самым завышенные результаты количественного определения [3]. Время хроматографического анализа составляет 21 мин, что дольше, чем в методиках E. Grouzmann и соавт. [5], N. Hwang и соавт. [6], L. Fang и соавт. [7], S. Greco и соавт. [14], C. Ji и соавт. [15]. Однако в данных работах анализируется меньшее количество моноаминовых нейромедиаторов и их метаболитов.

При подборе стабилизатора был использован подход, заключающийся в предварительной оценке краткосрочной стабильности аналитов в гомогенатах и стабильности проб в автосемплере без добавления и с добавлением антиоксидантов. Аналогичный подход был использован для образцов плазмы крови в работе [21], но он не предусматривал испытаний ASS. Приемлемые результаты при выборе антиоксиданта были достигнуты только при добавлении к супернатанту гомогената водных растворов аскорбиновой кислоты в объёмном соотношении 1:5 (см. табл. 5, 7). Это связано с тем, что в метанольных пробах солевые восстановители (Na_2SO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) растворяются значительно хуже, чем выбранный стабилизатор. При изучении долгосрочной стабильности показано (табл. 7), что для хранения образцов достаточно температуры не выше –20 °C.

Полученные в ходе апробации методики значения концентраций Dop, NA, 5HT, 5HIAA, DOPAC, HVA в образцах стриатума крыс совпадают с данными, опубликованными в работах J. Lu и соавт. [2] и N.N. Khlebnikova и соавт. [10]. Хроматографические пики Adr и VMA на хроматограммах испытуемых проб обнаружены не были, что свидетельствует о правильности забора образцов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная методика количественного определения норадреналина, адреналина, допамина, серотонина, ДОРАС, 5Н1АА, VMA, HVA в образцах мозга крысы соответствует требованиям руководств НЦЭСМП, ЕАК, ICH, FDA по показателям селективности, калибровочной зависимости, правильности и прецизионности внутри цикла и между циклами, эффекта разведения, эффекта переноса из предыдущей пробы, эффекта матрицы, стабильности. Применение выбранного способа стабилизации позволяет предотвратить окисление аналитов во время подготовки и анализа проб, а также их хранения в течение как минимум 30 дней. Это значительно снижает риски недостоверных результатов при проведении доклинических испытаний фармакодинамики и исключения из эксперимента фармакологически эффективных соединений из-за ложно заниженных концентраций нейромедиаторов и их метаболитов в пробах.

Ограничения исследования

Данная методика прошла валидацию и показала свою пригодность для определения аналитов в образцах тканей мозга крыс. Использование методики для количественного определения изучаемых веществ у другого вида животных потребует её частичной валидации путём оценки эффекта матрицы, калибровочной зависимости и селективности.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт средств гранта Российского научного фонда «Разработка новых фармакологических агентов для терапии нейродегенеративных заболеваний» № 22-13-20085.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая.* М.: Гриф и К; 2012. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.)].
2. Lu J, Sun F, Ma H, Qing H, Deng Y. Quantitative detection of dopamine, serotonin and their metabolites in rat model of Parkinson's disease using HPLC-MS/MS. *2015 IEEE International Conference on Mechatronics and Automation*. 2015: 1460-1465. doi: 10.1109/ICMA.2015.7237700
3. Яичков И.И., Джурко Ю.А., Шитов Л.Н. Основные ошибки в аналитической части исследований биоэквивалентности и фармакокинетики. *Медицинская этика*. 2018; 6(1): 33-38. [Yaichkov II, Dzhurko YA, Shitov LN. The main error in the analytical part of bioequivalence studies and pharmacokinetics. *Medical Ethics*. 2018; 6(1): 33-38. (In Russ.)].
4. Хохлов А.Л., Рыска М., Кукес В.Г., Писачкова М., Печена М., Яворский А.Н., и др. *Современные подходы к проведению*

биоаналитических исследований при создании лекарственных препаратов. М.: Российская академия наук; 2018. [Khokhlov AL, Ryska M, Kukes VG, Pisachkova M, Pechena M, Yavorsky AN, et al. *Modern approaches to conducting bioanalytical studies in the creation of drugs*. Moscow: Russian Academy of Sciences; 2018. (In Russ.)].

5. Grouzmann E, Centeno C, Eugster PJ. Quantification of vanillylmandelic acid, homovanillic acid and 5-hydroxyindoleacetic acid in urine using a dilute-and-shoot and ultra-high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *Clin Chem Lab Med*. 2018; 56(9): 1533-1541. doi: 10.1515/cclm-2017-1120
6. Hwang N, Chong E, Oh H, Cho HW, Lee JW, Sung KW, et al. Application of an LC-MS/MS method for the simultaneous quantification of homovanillic acid and vanillylmandelic acid for the diagnosis and follow-up of neuroblastoma in 357 patients. *Molecules*. 2021; 26(11): 3470. doi: 10.3390/molecules26113470
7. Fang L, Lv Y, Sheng X, Yao S. Sensitive, rapid and easy analysis of three catecholamine metabolites in human urine and serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr Sci*. 2012; 50(5): 450-456. doi: 10.1093/chromsci/bms068
8. Thomas J, Khanam R, Vohora D. A validated HPLC-UV method and optimization of sample preparation technique for norepinephrine and serotonin in mouse brain. *Pharm Biol*. 2015; 53(10): 1539-1544. doi: 10.3109/13880209.2014.991837
9. Brenes JC, Fornaguera J. The effect of chronic fluoxetine on social isolation-induced changes on sucrose consumption, immobility behavior, and on serotonin and dopamine function in hippocampus and ventral striatum. *Behav Brain Res*. 2009; 198(1): 199-205. doi: 10.1016/j.bbr.2008.10.036
10. Khlebnikova NN, Orshanskaya EV, Narkevich VB, Kudrin VS, Krupina NA. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors diprotin A and sitagliptin administered on weeks 2–3 of postnatal development modulate monoamine metabolism in the striatum of adult rats. *Bull Exp Biol Med*. 2017; 163(2): 190-194. doi: 10.1007/s10517-017-3763-5
11. Krupina NA, Khlebnikova NN, Narkevich VB, Naplekova PL, Kudrin VS. The levels of monoamines and their metabolites in the brain structures of rats subjected to two- and three-month-long social isolation. *Bull Exp Biol Med*. 2020; 168(5): 605-609. doi: 10.1007/s10517-020-04761-5
12. Cannazza G, Carrozzo MM, Cazzato AS, Bretis IM, Troisi L, Parenti C, et al. Simultaneous measurement of adenosine, dopamine, acetylcholine and 5-hydroxytryptamine in cerebral mice microdialysis samples by LC-ESI-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal*. 2012; 71: 183-186. doi: 10.1016/j.jpba.2012.08.004
13. Jampolska M, Andrzejewski K, Zaremba M, Joniec-Maciejak I, Kaczynska K. Deficiency of biogenic amines modulates the activity of hypoglossal nerve in the reserpine model of Parkinson's disease. *Cells*. 2021; 10: 531. doi: 10.3390/cells10030531
14. Greco S, Danysz W, Zivkovic A, Gross R, Stark H. Microdialysate analysis of monoamine neurotransmitters – A versatile and sensitive LC-MS/MS method. *Anal Chim Acta*. 2013; 771: 65-72. doi: 10.1016/j.aca.2013.02.004
15. Ji C, Walton J, Su Y, Tella M. Simultaneous determination of plasma epinephrine and norepinephrine using an integrated strategy of a fully automated protein precipitation technique, reductive ethylation labeling and UPLC-MS/MS. *Anal Chim Acta*. 2010; 670: 84-91. doi: 10.1016/j.aca.2010.04.051
16. Kim S, Jang EY, Song S-H, Kim JS, Ryu IS, Jeong C-H, et al. Brain microdialysis coupled to LC-MS/MS revealed that CVT-10216, a selective inhibitor of aldehyde dehydrogenase 2,

alters the neurochemical and behavioral effects of methamphetamine. *ACS Chem Neurosci*. 2021; 12(9): 1552-1562. doi: 10.1021/acscchemneuro.1c00039

17. Kovac A, Somikova Z, Zilka N, Novak M. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of panel of neurotransmitters in cerebrospinal fluid from the rat model for tauopathy. *Talanta*. 2014; 119: 284-290. doi: 10.1016/j.talanta.2013.10.027

18. Попов Н.С., Гавриленко Д.А., Балабаньян В.Ю., Петрова М.Б., Донсков С.А., Атаджанов И.Б., и др. Количественное определение моноаминовых нейротрансмиттеров в гомогенатах головного мозга крыс с помощью ВЭЖХ-МС/МС. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2022; (4): 33-42. [Popov NS, Gavrilenko DA, Balabanyan VYu, Petrova MB, Donskov SA, Atadzhanov IB, et al. Quantitative determination of monoamine neurotransmitters in rat brain homogenates using HPLC-MS/MS. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2022; (4): 33-42. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2022-4-33-42

19. Syslova K, Rambousek L, Kuzma M, Najmanova V, Bubenikova-Valesova V, Slamberova R, et al. Monitoring of dopamine and its metabolites in brain microdialysates: Method combining freeze-drying with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2011; 1218(21): 3382-3391. doi: 10.1016/j.chroma.2011.02.006

20. Xie Z, Lorkiewicz P, Riggs DW, Bhatnagar A, Srivastava S. Comprehensive, robust, and sensitive UPLC-MS/MS analysis of free biogenic monoamines and their metabolites in urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2018; 1099: 83-91. doi: 10.1016/j.jchromb.2018.09.012

21. Хохлов А.Л., Яичков И.И., Джурко Ю.А., Рыска М., Кубеш В., Шитов Л.Н. Подходы к разработке биоаналитических методик для определения нестабильных соединений в биологических жидкостях. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(5): 106-115. [Khokhlov AL, Yaichkov II, Dzhurko YuA, Ryska M, Kubeš V, Shitov LN. Approaches to the development of bioanalytical methods for determination of unstable substances in biological fluids. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(5): 106-115. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2018-3.5.16

22. ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. 2022. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-step-5_en.pdf [date of access: 15.05.2023].

23. Food and Drug Administration. *Guidance for industry. bioanalytical method validation*. 2018. URL: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf> [date of access: 15.05.2023].

24. *Руководство по экспертизе лекарственных средств*. М.: Полиграф-Плюс; 2014; (1). [Guide to the expert analysis of drugs. Moscow: Polygraph-Plus; 2014; (1). (In Russ.)].

25. Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза: Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85. 2016. [On approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of medicinal products within the framework of the Eurasian Economic Union. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of November 3, 2016 No. 85. 2016. (In Russ.)]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/456026107> [дата доступа: 15.05.2023].

Сведения об авторах

Хохлов Александр Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заместитель директора по научной работе Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»; заведующий кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ректор, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: al460935@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0032-0341>

Яичков Илья Игоревич – кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»; научный сотрудник Института фармации, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ilya_1993_08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0066-7388>

Корсаков Михаил Константинович – доктор химических наук, профессор кафедры химии, теории и методики преподавания химии, директор Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»; e-mail: m.korsakov@yspu.org, <https://orcid.org/0000-0003-0913-2571>

Каграманян Игорь Николаевич – доктор медицинских наук, профессор Института лидерства и управления здравоохранением, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: info@hsha.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2139-6847>

Вольхин Никита Николаевич – младший научный сотрудник Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»; e-mail: nnvolkhin@ysmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4275-9037>

Петухов Сергей Станиславович – инженер Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»; младший научный сотрудник Института фармации, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: sspp465@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-8435-7689>

Зайкова Валерия Евгеньевна – лаборант Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»; специалист Института фармации, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: valeria.zaykova@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0008-9431-1980>

Information about the authors

Alexander L. Khokhlov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of RAS, Deputy Director for Science of the Center of Pharmaceutical Technologies Transfer named after M.V. Dorogov, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky; Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rector, Yaroslavl State Medical University, e-mail: al460935@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0032-0341>

Ilya I. Yaichkov – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Center of Pharmaceutical Technologies Transfer named after M.V. Dorogov, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky; Research Officer at the Institute of Pharmacy, Yaroslavl State Medical University, e-mail: ilya_1993_08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0066-7388>

Mikhail K. Korsakov – Dr. Sc. (Chem.), Professor at the Department of Chemistry, Theory and Methods for Teaching of Chemistry, Director of the Center of Pharmaceutical Technologies Transfer named after M.V. Dorogov, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky, e-mail: m.korsakov@yspu.org, <https://orcid.org/0000-0003-0913-2571>

Igor N. Kagramanyan – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Institute of Leadership and Management of Healthcare, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: info@hsha.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2139-6847>

Nikita N. Volkhin – Junior Research Officer at the Center of Pharmaceutical Technologies Transfer named after M.V. Dorogov, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky, e-mail: nnvolkhin@ysmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4275-9037>

Sergey S. Petukhov – Engineer at the Center of Pharmaceutical Technologies Transfer named after M.V. Dorogov, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky; Junior Research Officer at the Institute of Pharmacy, Yaroslavl State Medical University, e-mail: sspp465@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0007-8435-7689>

Valeria E. Zaykova – Clinical Research Assistant at the Center of Pharmaceutical Technologies Transfer named after M.V. Dorogov, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky; Specialist at the Institute of Pharmacy, Yaroslavl State Medical University, e-mail: valeria.zaykova@bk.ru, <https://orcid.org/0009-0008-9431-1980>

ФТИЗИАТРИЯ PHTHISIOLOGY

ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Сираева Т.В.,
Комиссарова О.Г.,
Романов В.В.

ФГБНУ «Центральный
научно-исследовательский институт
туберкулёза»
(107564, г. Москва, Яузская аллея, 2,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сираева Татьяна Васильевна,
e-mail: tatjana.siraeva1972@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Несмотря на видимые успехи отечественной фтизиатрии в настоящее время, проблема медицинской реабилитации больных туберкулёзом остаётся актуальной. В последние годы значительно изменились подходы к медицинской реабилитации пациентов при различных заболеваниях, которые влекут за собой необходимость рассмотрения комплекса реабилитационных мероприятий у больных туберкулёзом с позиций Порядков организации медицинской реабилитации взрослых и детей и интеграцию их во фтизиатрическую практику.

Цель исследования. Изучить организационные аспекты медицинской реабилитации больных туберкулёзом органов дыхания в мире и Российской Федерации.

Методы. Выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы, нормативно-правовых документов по вопросам организации реабилитационной помощи больным туберкулёзом за период 2018–2023 гг. в электронных базах PubMed/Medline, Google Scholar по терминам «tuberculosis, pulmonary/rehabilitation», «туберкулёз/лёгочная реабилитация».

Результаты показывают растущий объём фактических данных, свидетельствующих о положительном эффекте лёгочной реабилитации у пациентов с респираторной патологией, в том числе при туберкулёзе. Проведённый анализ выявил дефекты организации системы медицинской реабилитации в структуре медицинской помощи больным туберкулёзом в Российской Федерации. Это касается вопросов маршрутизации, этапности, организационных моделей, кадровых и материальных ресурсов, стандартизации основных составляющих реабилитационного процесса, значимости и эффективности тех или иных реабилитационных мероприятий, что ведёт к низкой доступности реабилитационной помощи для больных туберкулёзом. Недостатки нормативно-правовой базы препятствуют встраиванию медицинской реабилитации в практику фтизиатрической службы.

Заключение. Современные вопросы организации реабилитационной помощи больным туберкулёзом требуют дальнейшего изучения и совершенствования. Развитие системы медицинской реабилитации больных туберкулёзом способствует повышению эффективности лечения, снижению количества осложнений, инвалидизации, смертности по причине туберкулёза, увеличению продолжительности и качества жизни больных.

Ключевые слова: туберкулёз, посттуберкулёзное лёгочное заболевание, реабилитация, пульмореабилитация, физическая и реабилитационная медицина

Статья поступила: 22.06.2023
Статья принята: 19.01.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Сираева Т.В., Комиссарова О.Г., Романов В.В. Организационные аспекты медицинской реабилитации больных туберкулёзом органов дыхания. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 192–202. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.19

ORGANIZATIONAL ASPECTS OF MEDICAL REHABILITATION OF PATIENTS WITH RESPIRATORY TUBERCULOSIS

Siraeva T.V.,
Komissarova O.G.,
Romanov V.V.

Central Tuberculosis Research Institute
(Yauzskaya alley 2, Moscow 107564,
Russian Federation)

Corresponding author:
Tatiana V. Siraeva,
e-mail: tatjana.siraeva1972@gmail.com

ABSTRACT

Background. Despite the visible successes of domestic phthisiology at the present time, the problem of medical rehabilitation of patients with tuberculosis remains relevant. In recent years, approaches to medical rehabilitation of patients with various diseases have changed significantly, which entail the need to consider a complex of rehabilitation measures for patients with tuberculosis from the perspective of the Procedures for organizing medical rehabilitation in adults and children and their integration into phthisiatric practice.

The aim. To study the organizational aspects of medical rehabilitation of patients with respiratory tuberculosis in the world and the Russian Federation.

Methods. We carried out an analysis of domestic and foreign literature, regulatory documents on the organization of rehabilitation for tuberculosis patients for 2018–2023 in electronic databases PubMed/Medline, Google Scholar using terms “tuberculosis, pulmonary/rehabilitation” in English and Russian languages.

The results show a growing amount of factual information demonstrating the positive effect of pulmonary rehabilitation in patients with respiratory diseases, including tuberculosis. The analysis revealed defects in the organization of the medical rehabilitation system in the structure of medical care for tuberculosis patients in the Russian Federation. This concerns problems of routing, phasing, organizational models, human and material resources, standardization of the main components of the rehabilitation process, the significance and effectiveness of certain rehabilitation measures, which leads to low availability of rehabilitation care for tuberculosis patients. Deficiencies in the regulatory framework prevent the integration of medical rehabilitation into the practice of TB services.

Conclusion. Modern issues of organizing rehabilitation care for patients with tuberculosis require further study and improvement. The development of a system of medical rehabilitation of patients with tuberculosis helps to increase the effectiveness of treatment, to reduce the number of complications, disability, mortality due to tuberculosis, and to increase the duration and quality of life of patients.

Key words: tuberculosis, post-tuberculosis pulmonary disease, rehabilitation, pulmonary rehabilitation, physical and rehabilitation medicine

Received: 22.06.2023
Accepted: 19.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Siraeva T.V., Komissarova O.G., Romanov V.V. Organizational aspects of medical rehabilitation of patients with respiratory tuberculosis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 192–202. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.19

ВВЕДЕНИЕ

В начале 1990-х Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) обозначила туберкулёз как глобальную проблему в области здравоохранения. С этого момента усилия по противостоянию недугу увеличились, а статистика заболеваний туберкулёзом снизилась [1].

Эпидемическая ситуация по туберкулёзу в Российской Федерации (РФ) в 2022 г. остаётся стабильной. Показатель заболеваемости туберкулёзом сохраняется на уровне 31,0 на 100 000 населения. Смертность от туберкулёза в 2021 г. составила 4,3 на 100 000 населения. Распространённость туберкулёза среди гражданского населения снизилась до исторического минимума (58,5 на 100 000 населения). Распространённость туберкулёза с бактериовыделением – 26,6 %; среди бактериовыделителей 56,9 % – больные туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Более четверти (26,1 %) больных туберкулёзом имеют сопутствующую ВИЧ-инфекцию [2].

И.А. Васильева и соавт. показали, что «несмотря на существенное снижение показателя заболеваемости туберкулёзом в 2020 г., в 2021 г. продолжилось снижение одновременно с утяжелением клинической структуры туберкулёза: ростом доли впервые выявленных больных туберкулёзом с деструкцией лёгочной ткани, массивным бактериовыделением и фиброзно-кавернозным туберкулёзом» [3], что играет одну из ведущих ролей в причинах инвалидности населения в России, вызванной туберкулёзом [4].

Благодаря новым и постоянно совершенствующимся методам диагностики и лечения в настоящее время в мире насчитывается около 155 млн лиц, успешно пролеченных от туберкулёза [5, 6]. Однако как сам туберкулёз, так и химиотерапия могут привести к необратимым последствиям в организме. Пациенты, перенёсшие туберкулёз, отмечают переход от острого состояния к жизни с многочисленными хроническими заболеваниями, затрагивающими посттуберкулёзные изменения лёгких, неврологические нарушения, сердечные и психические расстройства, ведущие к ухудшению качества жизни и повышению риска смерти [7–9].

Лёгочная реабилитация является важным компонентом восстановления пациентов с хроническими заболеваниями лёгких. В официальном заявлении Американского торакального общества (ATS, American Thoracic Society) и Европейского респираторного общества (ERS, European Respiratory Society) лёгочная реабилитация определяется как «комплексное вмешательство, основанное на тщательной оценке пациента, за которым следует индивидуальная терапия, включающая, но не ограничивающаяся физическими упражнениями, образованием и изменением поведения, направленное на улучшение физического и психологического состояния людей с хроническими респираторными заболеваниями и способствующее долгосрочной приверженности к поведению, способствующему укреплению здоровья» [10].

Имеются убедительные доказательства того, что лёгочная реабилитация улучшает состояние здоровья, фи-

зическую работоспособность, социальное функционирование и рекомендуется в международных руководствах [11]. Большая часть доказательств пользы лёгочной реабилитации получена из исследований в группах пациентов с хроническими заболеваниями лёгких, преимущественно с хронической обструктивной болезнью лёгких и бронхоэктатической болезнью [12]. Появляются данные по реабилитации посттуберкулёзных заболеваний лёгких, но для определения её эффективности требуется больше данных [13].

Несмотря на видимые успехи, демонстрируемые отечественной фтизиатрией в настоящее время, проблема медицинской реабилитации (МР) больных туберкулёзом остаётся весьма актуальной. В последние годы значительно изменились подходы к осуществлению МР пациентов при различных заболеваниях, которые влекут за собой необходимость рассмотрения комплекса реабилитационных мероприятий у больных туберкулёзом с позиций Порядков организации медицинской реабилитации взрослых и детей, утверждённых приказами Минздрава России № 788н от 31.07.2020 и № 878н от 23.10.2019 [14, 15], и интеграцию их во фтизиатрическую практику. В связи с этим в данной статье мы хотели затронуть проблемы МР больных туберкулёзом с учётом новой концепции развития в РФ системы комплексной реабилитации.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить организационные аспекты медицинской реабилитации больных туберкулёзом органов дыхания в мире и Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнен анализ отечественной и зарубежной литературы, нормативно-правовых документов по вопросам организации комплексной реабилитационной помощи больным туберкулёзом за период 2018–2023 гг. в электронных базах PubMed/Medline, Google Scholar по терминам «tuberculosis, pulmonary/rehabilitation», «туберкулёз/лёгочная реабилитация».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Реабилитация является неотъемлемой частью системы здравоохранения наряду с укреплением здоровья, профилактикой заболеваний, лечением и паллиативной помощью. С ростом уровня систем здравоохранения во многих странах мира увеличивается выживаемость пациентов после серьёзных заболеваний и тяжёлых травм, однако при этом растёт и число людей с остаточными сложными функциональными нарушениями, ведущими к инвалидности. По оценкам ВОЗ, в настоящее время около 2,4 млрд человек в мире страдают заболеваниями, при которых показана реабилитация

[16]. Распространённость инвалидизации в большинстве европейских стран составляет около 10 %, что ведёт к определённому бремени по уходу как для отдельных лиц, так и для общества в целом, увеличению расходов на медицинскую и социальную помощь [17].

Реабилитация является эффективным способом снижения уровня инвалидности, а также расширения возможностей для людей с нарушенными функциями. Структура, финансирование и доступность реабилитационных служб отличаются в разных государствах и зависят от систем здравоохранения. С целью создания единых базовых принципов организации реабилитационной помощи Европейским союзом медицинских специалистов (EUMS, European Union of Medical Specialists) опубликована Белая книга по физической и реабилитационной медицине (ФРМ), в которой изложены её основные позиции в Европе, определена специализация, функционирование, компетенции и профессиональные качества специалистов ФРМ, основанные на передовых стандартах оказания медицинской помощи в соответствии с доказательной базой и в контексте различных национальных рекомендаций и практик [17].

Федеральным законом «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» № 323-ФЗ от 21.11.2011 вводится определение понятия «медицинская реабилитация» [18]. В РФ диспансерное наблюдение и реабилитация больных туберкулёзом гарантируются Федеральным законом № 77-ФЗ от 18.06.2001 «О предупреждении распространения туберкулёза в Российской Федерации» [19]. Порядок диспансерного наблюдения за больными туберкулёзом, лицами, находящимися или находившимися в контакте с источником туберкулёза, а также лицами с подозрением на туберкулёз и излеченными от туберкулёза, регламентирует обследование пациентов, лечение, а также медицинскую реабилитацию указанных лиц. Диспансерное наблюдение осуществляется врачами-фтизиатрами противотуберкулёзных организаций на основе клинических рекомендаций и с учётом стандартов медицинской помощи, в функции которых вменяется, помимо диспансерных приёмов (осмотров, консультаций), и проведение реабилитационных мероприятий [20].

Порядки организации медицинской реабилитации взрослых и детей [14, 15] в качестве одного из основных условий осуществления деятельности по МР также предписывают следование клиническим рекомендациям и стандартам медицинской помощи. В клинических рекомендациях по туберкулёзу как у взрослых, так и у детей отмечается, что реабилитация пациентов с туберкулёзом должна начинаться с самого старта лечения пациента и сводится в основном к применению двигательного режима и высокобелковой диеты как методов патогенетического лечения, направленных на восстановление здоровья пациентов. Кроме того, к реабилитационным мероприятиям отнесены и другие медикаментозные и немедикаментозные компоненты патогенетического лечения, основной задачей которых является восстановление специфической и неспецифической реактивности организма пациента. Психологическая и/или социальная

поддержка для формирования приверженности к лечению также отнесены к разряду реабилитационных [21, 22].

Вышеуказанные клинические рекомендации для пациентов с туберкулёзом, получающих лечение в фазе продолжения при отсутствии противопоказаний рекомендуют санаторный этап лечения [21, 22]. Порядком оказания медицинской помощи больным туберкулёзом определены «Правила организации деятельности санатория для лечения туберкулёза всех форм», в которых МР лиц, состоящих на диспансерном учёте по поводу туберкулёза, заявлена как одна из основных функций санатория фтизиатрического профиля [23].

Порядками организации медицинской реабилитации как взрослых, так и детей предусмотрена этапность осуществления МР. Первый этап МР рекомендуется осуществлять в структурных подразделениях медицинской организации, оказывающих специализированную, в том числе высокотехнологичную, медицинскую помощь *в стационарных условиях по профилю «Фтизиатрия»*, где реабилитационные мероприятия должны быть начаты в острейший (до 72 ч) и острый периоды течения заболевания при неотложных состояниях, состояниях после оперативных вмешательств (в раннем послеоперационном периоде), хронических критических состояниях и осуществляться ежедневно в течение не менее 1 часа, но не более 3 часов [14, 15].

Второй этап МР осуществляется *в стационарных отделениях медицинской реабилитации*, созданных в медицинских организациях, в том числе в центрах медицинской реабилитации, санаторно-курортных организациях (СКО) [14, 15]. Однако в действующем Порядке оказания медицинской помощи больным туберкулёзом в структуре противотуберкулёзных учреждений организация отделений медицинской реабилитации не предусмотрена, соответственно отсутствуют их штатные нормативы и стандарты оснащения [23]. В настоящее время фактически второй этап МР больных туберкулёзом частично реализуется в туберкулёзных санаториях в рамках оказания санаторно-курортной помощи. Мероприятия по МР на втором этапе должны проводиться в раннем восстановительном периоде течения заболевания и в период остаточных явлений течения заболевания и осуществляться ежедневно в течение не менее 3 часов [14, 15].

Третий этап МР осуществляется при оказании первичной медико-санитарной помощи в амбулаторных условиях и (или) в условиях дневного стационара (*амбулаторное отделение медицинской реабилитации*, отделение медицинской реабилитации дневного стационара), в том числе в центрах МР, СКО. Мероприятия по МР на третьем этапе осуществляются не реже чем 1 раз каждые 48 часов, продолжительностью не менее 3 часов [14, 15].

Санаторно-курортное лечение было и остаётся важным звеном МР больных туберкулёзом на втором и третьем её этапах. Преамбула одного из действующих приказов Министерства здравоохранения РФ, регламентирующих организацию санаторно-курортной помощи больным в туберкулёзных санаториях, гласит, что «использование природных и преформированных лечебных факторов, кумысолечения, лечебного питания и ак-

тивного двигательного режима позволяет повысить эффективность лечения и ускорить процесс реабилитации» [24]. В Российской Федерации сохранена сеть противотуберкулёзных санаториев, имеющих огромный научный и практический опыт, а также потенциал в реабилитации больных туберкулёзом [25–27].

К сожалению, в настоящее время роль реабилитационных мероприятий и санаторно-курортного лечения как инструмента повышения эффективности лечения больных туберкулёзом с позиций доказательной медицины недооценена. По последним доступным данным официальной статистики от 2019 г., имеет место сокращение числа санаториев и количества санаторных коек в РФ для взрослых и детей для больных туберкулёзом, на которые были госпитализированы всего 3,2 % впервые выявленных пациентов с туберкулёзом и 7,0 % контингентов, состоящих на диспансерном учёте на окончание года, что свидетельствует о низкой доступности реабилитационных мероприятий для пациентов на втором и третьем этапах МР [28]. В связи с чем не утратила своего значения позиция Г.С. Баласанянц, которая считает, что современная концепция организации санаторного лечения лиц, состоящих на учёте в противотуберкулёзных учреждениях, должна предусматривать расширение роли и значения туберкулёзных санаториев, что определено принципами отечественной фтизиатрической доктрины [29].

Указания на организационную модель, позволяющую решать задачи оказания комплексной медико-социальной и реабилитационной помощи на третьем этапе МР, представлены на примере амбулаторного фтизиатрического учреждения Санкт-Петербурга СПб ГБУЗ «Противотуберкулёзный диспансер № 5», где было создано отделение медико-социальной помощи и реабилитации. Н.В. Корнева и соавт. указывают на эксклюзивность созданного отделения, которая потребовала разработки всей регламентирующей документации, в том числе положения об отделении, функциональных обязанностей сотрудников, алгоритмов работы и маршрутизации, программ реабилитации [30].

Для определения индивидуальной маршрутизации пациента при реализации мероприятий по МР на различных её этапах Порядком организации медицинской реабилитации предложена Шкала реабилитационной маршрутизации (ШРМ) [14].

При оценке 0–1 балл по ШРМ пациент не нуждается в реабилитации (показана только вторичная профилактика), при оценке 2–3 балла показан курс лечения в условиях отделения МР 3-го этапа (дневной стационар), а при 4–6 баллах – курс лечения в условиях специализированного отделения МР 2-го этапа (отделение круглосуточного пребывания/курс выездной реабилитации в домашних условиях/консультация в телемедицинском режиме) (рис. 1).

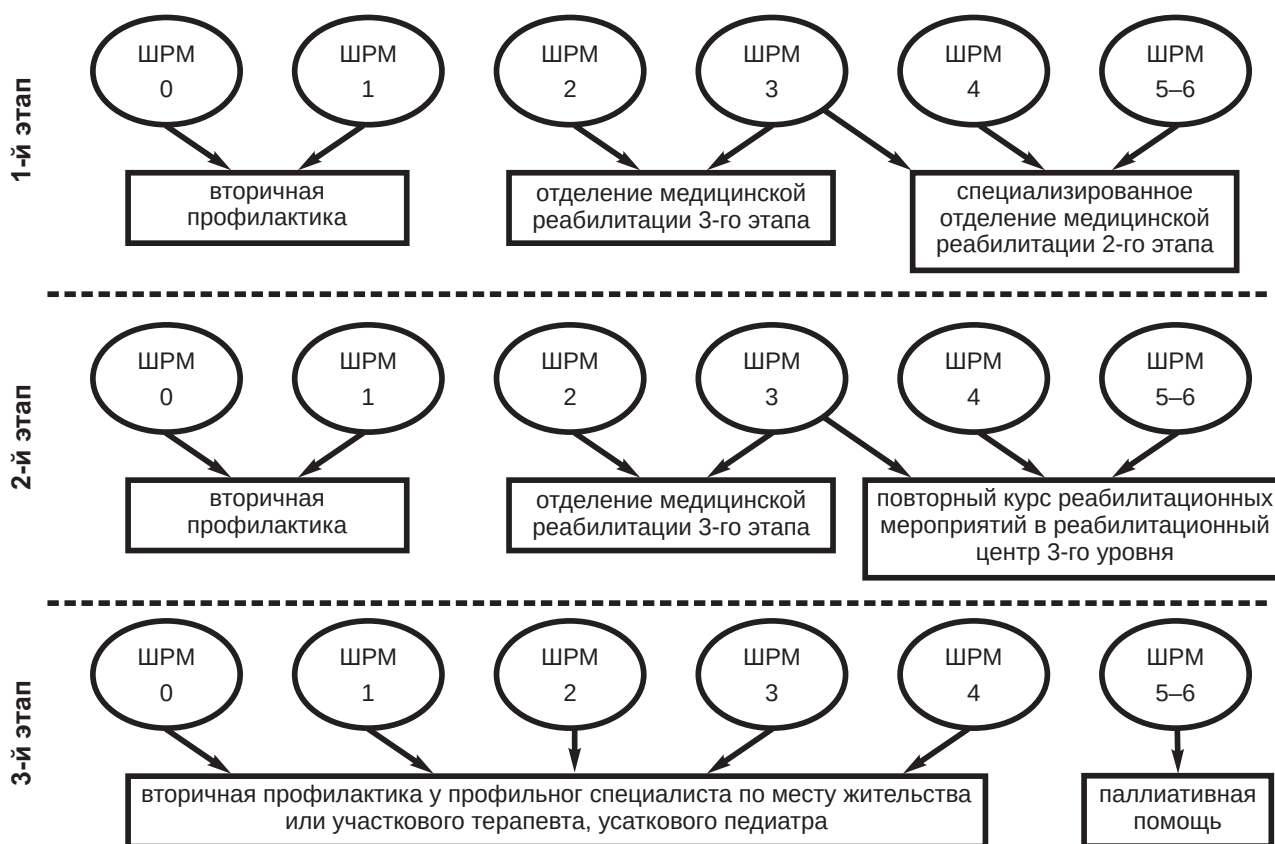


РИС. 1.
Маршрутизация пациентов на этапах медицинской реабилитации [31]

FIG. 1.
Routing of patients at the stages of medical rehabilitation [31]

В доступной литературе мы не нашли источников, где бы проводилась оценка статуса больных туберкулёзом по ШРМ, что необходимо для уточнения потребности в реабилитационной помощи больных туберкулёзом на всех этапах МР.

Реабилитационные мероприятия осуществляют мультидисциплинарной реабилитационной командой (МДРК), являющейся структурно-функциональной единицей структурного подразделения медицинской организации или иной организации, организованной на функциональной основе из работников указанных отделений [14, 15]. Руководит работой МДРК врач физической и реабилитационной медицины – специалист, соответствующий требованиям профессионального стандарта «Специалист по медицинской реабилитации» [32].

В состав МДРК могут входить: врач по физической и реабилитационной медицине/врач по медицинской реабилитации, специалист по физической реабилитации, специалист по эргореабилитации, медицинский психолог/врач-психотерапевт, медицинский логопед, медицинская сестра по медицинской реабилитации, медицинская сестра палатная, врач по лечебной физкультуре, врач-физиотерапевт, врач-рефлексотерапевт, инструктор-методист по лечебной физкультуре, медицинская сестра по физиотерапии, медицинская сестра по массажу, медицинская сестра по рефлексотерапии, инструктор по лечебной физкультуре [14, 15].

Нельзя не согласиться с мнением Н.В. Корневой и соавт. [30], что, несмотря на то, что одной из задач противотуберкулёзного диспансера, согласно Порядку оказания медицинской помощи больным туберкулёзом, является осуществление реабилитационных мероприятий в отношении больных туберкулёзом [23] и профессиональный стандарт врача-фтизиатра содержит трудовую функцию – «проведение и контроль эффективности медицинской реабилитации в стационарных условиях больных туберкулёзом, лиц с посттуберкулёзными остаточными изменениями при оказании специализированной медицинской помощи, в том числе при реализации индивидуальных программ реабилитации или абилитации инвалида» [33], в рекомендованных штатных нормативах учреждений фтизиатрического профиля, в том числе санатория для лечения туберкулёза всех форм, отсутствуют специалисты, необходимые для организации и осуществления МР, согласно Порядку организации реабилитационной помощи. Порядком № 932н в противотуберкулёзных диспансерах предусматривается кабинет медико-социальной помощи только в структуре амбулаторно-консультативного отделения, в штате которого обозначены заведующий, врач-методист, медицинский психолог, социальный работник, медицинская сестра по медико-социальной помощи [23]. Данного штата явно недостаточно для формирования МДРК.

При реализации мероприятий по МР на всех этапах МДРК осуществляется установление реабилитационного диагноза, включающего характеристику состояния функционирования и ограничения жизнедеятельности (функции, структуры организма, активности и участия пациента), влияния факторов среды и личностных фак-

торов на основе Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья (МКФ) и его изменения в процессе проведения мероприятий по МР [14, 15].

В 2001 г. издана Международная классификация функционирования, инвалидности и здоровья, принадлежащая к «семье» международных классификаций, разработанных ВОЗ, применимая к различным аспектам здоровья, обеспечивающая общие правила кодирования широкого круга информации, связанной со здоровьем, и использующая стандартизованный общий язык, позволяющий общаться по проблемам, связанным со здоровьем и здравоохранением, во всём мире в различных дисциплинах и отраслях науки [34].

Е.В. Мельникова и соавт. в опубликованной инструкции по использованию МКФ в амбулаторной и стационарной медицинской реабилитации (2017) акцентировали внимание специалистов на главном аспекте реабилитации, который до создания МКФ фокусировался вокруг нарушений функций и структур, что приводило к активной врачебной помощи, но при этом не учитывались иные, немедицинские проблемы пациента. Внедрение МКФ сместило фокус внимания специалиста на функционирование, а не на функции, что проявляется лучшим восприятием имеющихся нарушений со стороны категорий активности и участия, а также персональных факторов и факторов окружающей среды, что позволяет шире видеть проблемы пациента для постановки реабилитационного диагноза, определения цели и задач реабилитации и более эффективного использования имеющихся ресурсов [35].

МКФ на сегодня включает более 1,6 тыс. различных категорий [34], что существенно затрудняет её практическое применение, в связи с чем стали разрабатываться сокращённые варианты классификации при конкретных нозологических формах заболеваний, так называемые базовые наборы МКФ, формирование которых происходит по результатам научных исследований, основанных на многотысячных выборках, в которых принимают участие врачи-специалисты соответствующего профиля, смежных специальностей, с участием группы международных экспертов ВОЗ [36]. В настоящее время разработаны и опубликованы более 50 базовых наборов МКФ по наиболее распространённым заболеваниям, таким как инсульт, ишемическая болезнь сердца, черепно-мозговая травма и т. д. [37]. К сожалению, туберкулёз в их число не входит.

Базовый набор МКФ упрощает разработку программы реабилитации при конкретной патологии у конкретного больного, позволяет сделать её, с одной стороны, комплексной, с другой – максимально индивидуальной. В открытом доступе имеется большое количество работ, показывающих практическое применение МКФ для оценки здоровья и мер реабилитации при различных заболеваниях, результатом чего является формирование эффективных программ реабилитации, реализация которых приводит к решению поставленных задач и достижению цели МР описываемых больных [38, 39].

Для адекватной оценки различных категорий МКФ и выявления актуальных проблем обследуемого паци-

ента в медицинской реабилитации широко применяется ряд специальных методов обследования: лабораторных и инструментальных исследований, различных международных шкал, тестов и опросников в соответствии с патологией, для объективизации которой они созданы. Варианты их использования на конкретных клинических примерах были показаны Г.Е. Ивановой и соавт. Авторы считают, что создание единого инструмента для оценки общего состояния пациента на основе принципов МКФ с использованием современных методов обследования пациента, принятых профессиональным сообществом клинических тестов и шкал поможет МДРК в составлении реабилитационного диагноза и в определении более точного реабилитационного потенциала, что позволит обеспечить более высокую эффективность медицинской реабилитации в целом [36].

Во фтизиатрической практике «Шкалу оценки функционального дефицита у больных туберкулёзом», разработанную на основе МКФ, предложили Т.В. Пьянова и соавт. (2018); с помощью неё оценивали клинические и лабораторные признаки недостаточности внутренних органов, нарушения общения, мобильности и способности к самообслуживанию больных туберкулёзом с ВИЧ-инфекцией [40, 41].

Таким образом, разработка и апробация базового набора доменов МКФ у больных туберкулёзом, подбор методов лабораторных и инструментальных исследований, специальных тестов и шкал для описания категорий МКФ, разработка критериев для оценки степени выраженности ограничений жизнедеятельности, распределения доменов базового набора МКФ между специалистами МДРК для проведения оценочных процедур, определение связи категорий МКФ с определёнными реабилитационными мероприятиями должны стать одними из направлений дальнейших исследований.

Одним из основных принципов МР является раннее начало проведения реабилитационных мероприятий, что важно с точки зрения профилактики дегенеративных изменений в тканях и обеспечивает более благоприятное течение и исход заболевания, служит одним из моментов профилактики инвалидности [42]. Однако в зарубежных литературных источниках чаще всего освещаются вопросы лёгочной реабилитации больных после перенесённого туберкулёза [13].

Проведённые исследования показывают, что до 50 % пациентов с туберкулёзом сообщают о проблемах со здоровьем, связанных с перенесённым заболеванием, после завершения лечения [43–45], что отрицательно сказывается на качестве жизни с негативными последствиями для психологических, социальных и экономических его составляющих и сокращают общую ожидаемую продолжительность жизни [46–48]. Посттуберкулёзные изменения лёгких в виде бронхоэктазов, стеноза бронхов, кавитации, фиброзно-узловых рубцов и утолщения плевры приводят к изменениям эластичности лёгочной ткани, газообмена, функциональных объёмов лёгких и воздушного потока и влекут за собой нарушения вентиляционной функции лёгких [13, 49]. В связи с этим значительная часть пациентов, завершивших

лечение туберкулёза, сообщают об остаточном кашле, слабости, одышке, трудностях при подъёме по лестнице или при повседневной жизни, на работе. Истинное бремя посттуберкулёзных состояний полностью не известно из-за отсутствия эпидемиологических данных, однако, по оценкам некоторых авторов, ими страдают 18–87 % пациентов, излеченных от туберкулёза [50].

В 2019 г. в Стелленбосе (Южная Африка) проведён первый Международный симпозиум по посттуберкулёзным заболеваниям, на котором было принято определение понятия «посттуберкулёзное лёгочное заболевание» (ПТЛЗ) как признаки хронической респираторной патологии с симптомами или без них, которые по крайней мере частично можно отнести к предшествующему (лёгочному) туберкулёзу [51, 52]. Указана настоятельная необходимость признания ПТЛЗ в качестве ведущей причины хронических заболеваний лёгких и проведения дополнительных исследований в области диагностики, патофизиологии, оптимального ведения, ориентированного на человека, для снижения заболеваемости и достижения лучших результатов лечения у клинически излеченных от туберкулёза лиц [53, 54].

Международным союзом по борьбе с туберкулёзом и заболеваниями лёгких опубликованы Руководство по посттуберкулёзному заболеванию лёгких [13], основанное на Глобальном плане по искоренению туберкулёза [55], и Клинические стандарты оценки, ведения и реабилитации посттуберкулёзного заболевания лёгких [51], которые представляют собой первую официальную попытку разработать на основе консенсуса мнений международных экспертов подход к решению этой важной глобальной проблемы. Документ содержит универсальные принципы, которые требуется адаптировать к конкретным условиям и ситуациям для последующей реализации реабилитационных программ. Предлагается пять стандартов, включающих: базовый набор обследований на наличие ПТЛЗ, выявление показаний у пациентов с ПТЛЗ для лёгочной реабилитации, изложение основных компонентов программы реабилитации, методы оценки эффективности реабилитационных мероприятий и схему обследования пациента во время противотуберкулёзного лечения и последующего наблюдения, краткое изложение компонентов образовательных программ [51].

Предварительные данные исследований среди пациентов, перенёвших туберкулёз, показывают, что программы лёгочной реабилитации могут быть полезными для людей с одышкой при ПТЛЗ и нарушениями функции лёгких. Доступ к программам лёгочной реабилитации в условиях высокого бремени туберкулёза в настоящее время ограничен, и требуется больше данных для понимания наилучшего сочетания инструментов и методик, которые могли быть как полезными, так и широкодоступными для поставщиков и получателей медицинских услуг [56]. В исследованиях по лёгочной реабилитации у лиц с ПТЛЗ в основном использовался целостный подход, включающий такие методы, как тест с 6-минутной ходьбой, тесты с задержкой дыхания, дыхательные упражнения, дренирующие дыхательные техники, рекомендации по питанию и психологическую поддержку [13].

Результаты исследований, проведённых в странах как с высоким, так и с низким уровнем дохода, свидетельствуют о том, что программы лёгочной реабилитации для людей с ПТЛЗ жизнеспособны и связаны с улучшением качества жизни, физической работоспособности и респираторных исходов [13]. Данные о конкретных программах лёгочной реабилитации, адаптированных к пациентам с ПТЛЗ, существуют и в учреждениях с адекватными ресурсами, логистикой и квалифицированными кадрами – и они, как правило, признаны эффективными [57–59].

Имеются сведения об успешном применении упрощённых программ, не требующих значительных материальных затрат и оборудования. Возможность модуляции программ лёгочной реабилитации путём их адаптации к личностным факторам пациента и доступным ресурсам, делает лёгочную реабилитацию потенциально доступной для отдельных лиц (включая детей и подростков) в различных условиях [13, 51, 58].

Таким образом, растущий объём фактических данных свидетельствует о положительном эффекте лёгочной реабилитации у пациентов с хроническими заболеваниями лёгких. Однако несмотря на эти важные преимущества, лёгочная реабилитация повсеместно используется недостаточно, а показатели направления, охвата и завершения лечения тревожно низки. Во всём мире лёгочной реабилитацией пользуются менее 3 % пациентов с хроническими заболеваниями лёгких [60]. Одним из ключевых препятствий для направления на лёгочную реабилитацию является слабое признание её преимуществ организациями здравоохранения, что частично объясняется ограниченными ресурсами и финансированием, которые выделяются на услуги лёгочной реабилитации. Два наиболее распространённых препятствия для направления пациентов на лёгочную реабилитацию связаны с недостатком знаний медицинских работников о содержании программ лёгочной реабилитации и об её преимуществах [61].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ публикаций и актуальной нормативно-правовой базы в области реабилитации в РФ и публикаций в отечественных и зарубежных источниках свидетельствует о несовершенстве организации системы медицинской реабилитации в структуре медицинской помощи больных туберкулёзом. Это касается вопросов маршрутизации, этапности, организационных моделей, кадровых и материальных ресурсов, стандартизации основных составляющих реабилитационного процесса, значимости и эффективности тех или иных реабилитационных мероприятий, что ведёт к низкой доступности реабилитационной помощи для больных туберкулёзом.

Недостатки нормативно-правовой базы препятствуют встраиванию МР в практику фтизиатрической службы. Для организации эффективной системы реабилитационной помощи больным туберкулёзом необходимо формирование реабилитационных подразделений

в структуре противотуберкулёзных учреждений с соблюдением штатных нормативов для формирования МДРК и стандартов оснащения, рекомендованных Порядком организации медицинской реабилитации, для чего необходимо внести соответствующие дополнения в Порядок оказания медицинской помощи больным туберкулёзом.

В настоящее время вопросы организации реабилитационной помощи больным туберкулёзом требуют дальнейшего изучения и совершенствования. Решающее значение имеет определение показаний для проведения реабилитационных мероприятий, всестороннее обследование пациента с использованием диагностических инструментов, оценочных средств, шкал и опросников для установления реабилитационного диагноза, и приоритетных проблем пациента с позиций МКФ, для персонализации программ лёгочной реабилитации с целью достижения цели реабилитации и эффективного решения индивидуальных задач пациента.

Развитие медицинской реабилитации в составе медицинской помощи больным туберкулёзом в конечном итоге будет способствовать повышению эффективности лечения туберкулёза, снижению количества осложнений, инвалидизации, смертности по причине туберкулёза, увеличению продолжительности и качества жизни больных.

Конфликт интересов

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

Финансирование

Статья подготовлена в рамках выполнения темы НИР № 1220411001206-7 «Инновационные подходы к организации оказания медицинской помощи, диагностике и лечению больных лекарственно-устойчивым туберкулёзом органов дыхания, в том числе с сопутствующей патологией».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Статистика заболеваний туберкулёзом. Открытая база. [Statistics of tuberculosis diseases. Open base. (In Russ.)]. URL: <https://openbase.online/statistika-zabolevaniya-tuberkulom-v-mire> [дата доступа: 17.05.2023].
2. Эпидемическая ситуация по туберкулёзу в 2022 г. [Epidemic situation for tuberculosis in 2022. (In Russ.)]. URL: https://nmrc.ru/for_specialists/main-directions/tuberculosis/ [дата доступа: 17.05.2023].
3. Васильева И.А., Тестов В.В., Стерликов С.А. Эпидемическая ситуация по туберкулёзу в годы пандемии COVID-19 – 2020–2021 гг. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2022; 100(3): 6-12. [Vasilyeva IA, Testov VV, Sterlikov SA. Tuberculosis situation in the years of the COVID-19 pandemic – 2020–2021. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2022; 100(3): 6-12. (In Russ.)]. doi: 10.21292/2075-1230-2022-100-3-6-12
4. Тярасова К.Г., Алтунина М.М., Морозов А.М. Жуков С.М. Клинические аспекты медико-социальной экспертизы при ту-

беркулёзе у взрослых. *Менеджер здравоохранения*. 2022; (5): 20-27. [Tyarsova KG, Morozov AM, Pototskaya LA, Zhukov SV. Clinical aspects of medical-social examination of tuberculosis in adults. *Manager zdravooohranenia*. 2022; 5: 20-27. (In Russ.)]. doi: 10.37690/1811-0185-2022-5-20-27

5. World Health Organization. *Global tuberculosis report 2020*. Geneva: World Health Organization; 2020. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf> [date of access: 17.05.2023].

6. Dodd PJ, Yuen CM, Jayasooriya SM, van der Zalm MM, Seddon JA. Quantifying the global number of tuberculosis survivors: A modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2021; 21(7): 984-992. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30919-1

7. Ranzani OT, Rodrigues LC, Bombarda S, Minto CM, Waldman EA, Carvalho CRR. Long-term survival and cause-specific mortality of patients newly diagnosed with tuberculosis in São Paulo state, Brazil, 2010-15: A population-based, longitudinal study. *Lancet Infect Dis*. 2020; 20(1): 123-132. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30518-3

8. Schultink MP, Kerstjens HAM, Ter Beek L, Zondag H, Brijan R, de Lange WCM, et al. Assessment of TB treatment on patient well-being. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021; 25(4): 315-317. doi: 10.5588/ijtld.21.0816

9. Kawahara K, Tabusadani M, Yamane K, Takao S, Kuroyama Y, Matsumura Y, et al. Health-related quality of life associates with clinical parameters in patients with NTM pulmonary disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021; 25(4): 299-304. doi: 10.5588/ijtld.20.0790

10. Holland AE, Cox NS, Houchen-Wolloff L, Rochester CL, Garvey C, ZuWallack R, et al. Defining modern pulmonary rehabilitation. An official American Thoracic Society workshop report. *Ann Am Thorac Soc*. 2021; 18(5): 12-29. doi: 10.1513/AnnalsATS.202102-146ST

11. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. The Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD*. 2021. URL: <https://goldcopd.org/2021-gold-reports/> [date of access: 17.05.2023].

12. Nahid P, Mase SR, Migliori GB, Sotgiu G, Bothamley GH, Brozek JL, et al. Treatment of drug-resistant tuberculosis. An official ATS/CDC/ERS/IDSA clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019; 200(10): 93-142. doi: 10.1164/rccm.201909-1874ST

13. Nightingale R, Carlin F, Meghji J, McMullen K, Evans D, van der Zalm MM, et al. Post-TB health and wellbeing. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2023; 27(4): 248-283. doi: 10.5588/ijtld.22.0514

14. Об утверждении Порядка организации медицинской реабилитации взрослых: Приказ Министерства здравоохранения РФ от 31.07.2020 № 788н. 2020. [On approval of the procedure for organizing medical rehabilitation of adults: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation d.d. July 31, 2020 No. 788n. 2020. (In Russ.)]. URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/74581688/#review> [дата доступа: 17.05.2023].

15. Об утверждении Порядка организации медицинской реабилитации детей: Приказ Министерства здравоохранения РФ от 23.10.2019 № 878н. [On approval of the Procedure for organizing medical rehabilitation of children: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation d.d. October 23, 2019 No. 878n. 2019. (In Russ.)]. URL: <https://base.garant.ru/73325898/> [дата доступа: 17.05.2023].

16. *Rehabilitation*. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rehabilitation>. [date of access: 17.05.2023].

17. European Physical and Rehabilitation Medicine Bodies Alliance. White book on physical and rehabilitation medicine (PRM) in Europe. Chapter 5. The PRM organizations in Europe: structure and activities. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2018; 54(2): 198-213. doi: 10.23736/S1973-9087.18.05149-3

18. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации: Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (последняя редакция). 2011. [On the fundamentals of protecting the health of citizens in the Russian Federation: Federal Law d.d. November 21, 2011 No. 323-FZ (latest edition). 2011. (In Russ.)]. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895 [дата доступа: 17.05.2023].

19. О предупреждении распространения туберкулёза в Российской Федерации (с изменениями и дополнениями): Федеральный закон от 18.06.2001 № 77-ФЗ. 2001. [On preventing the spread of tuberculosis in the Russian Federation (with amendments and additions): Federal Law d.d. June 18, 2001 No. 77-FZ. 2001. (In Russ.)]. URL: <https://base.garant.ru/12123352> [дата доступа: 17.05.2023].

20. Об утверждении порядка диспансерного наблюдения за больными туберкулёзом, лицами, находящимися или находившимися в контакте с источником туберкулёза, а также лицами с подозрением на туберкулёз и излеченными от туберкулёза и признании утратившими силу пунктов 16–17 Порядка оказания медицинской помощи больным туберкулёзом, утвержденного приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 ноября 2012 г. № 932н: Приказ Министерства здравоохранения РФ от 13.03.2019 N 127н. 2019. [On approval of the procedure for dispensary observation of patients with tuberculosis, persons who are or have been in contact with a source of tuberculosis, as well as persons with suspected tuberculosis and cured of tuberculosis and recognition as no longer in force paragraphs 16–17 of the Procedure for providing medical care to patients with tuberculosis, approved by order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated November 15, 2012 No. 932n: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation d.d. March 13, 2019 No. 127n. 2019. (In Russ.)]. URL: <https://base.garant.ru/72275106> [дата доступа: 17.05.2023].

21. Клинические рекомендации «Туберкулёз у взрослых», МКБ 10: A15–A19. 2022. [Clinical guidelines “Tuberculosis in adults”, ICD 10: A15–A19. 2022. (In Russ.)]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/16_2 [дата доступа: 17.05.2023].

22. Клинические рекомендации «Туберкулёз у детей», МКБ 10: A15–A19. 2022. [Clinical guidelines “Tuberculosis in children”, ICD 10: A15–A19. 2022. (In Russ.)]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/507_2 [дата доступа: 17.05.2023].

23. Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным туберкулёзом (с изменениями и дополнениями): Приказ Министерства здравоохранения РФ от 15.11.2012 № 932н. 2012. [On approval of the Procedure for providing medical care to patients with tuberculosis (with amendments and additions): Order of the Ministry of Health of the Russian Federation d.d. November 15, 2012 No. 932n. 2012. (In Russ.)]. URL: <https://base.garant.ru/70340750> [дата доступа: 17.05.2023].

24. О совершенствовании организации санаторно-курортной помощи больным в туберкулёзных санаториях: Приказ Министерства здравоохранения РФ от 17.03.2004 № 124. 2004. [On improving the organization of sanatorium and resort care for patients in tuberculosis sanatoriums: Order of the Ministry of Health

of the Russian Federation d.d. 17.03.2004 No. 124. 2004. (In Russ.)). URL: <https://base.garant.ru/4179969> [дата доступа: 17.05.2023].

25. Закирова З.М. Опыт организации лечения больных активным туберкулёзом с лекарственной устойчивостью на санаторном этапе. *Медицинский альянс*. 2020; (2): 40-45. [Zakirova ZM. Experience in organizing the treatment of patients with active drug-resistant tuberculosis on sanatorium stage. *Medical Alliance*. 2020; (2): 40-45. (In Russ.)). doi: 10.36422/23076348-2020-8-2-40-46

26. Гришин М.Н., Аухадиев Н.Н., Корчагина Е.О., Зайцев Ю.А. Значение санаторного этапа лечения в реабилитации больных туберкулёзом. *Вестник физиотерапии и курортологии*. 2018; 24(3): 178-178. [Grishin MN, Aukhadiev NN, Korchagina EO, Zaitsev YuA. The importance of the sanatorium stage of treatment in the rehabilitation of patients with tuberculosis. *Herald of Physiotherapy and Health Resort Therapy*. 2018; 24(3): 178-178. (In Russ.)).

27. Лозовская М.Э., Осипова М.А., Суслова Г.А., Карасев Г.Г., Власова Е.Ю. Связь санаторной реабилитации и качества жизни у подростков с туберкулёзом. *Вестник восстановительной медицины*. 2019; 4(92): 2-7. [Lozovskaya ME, Osipova MA, Suslova GA, Karasev GG, Vlasova EY. Relation between sanatorium rehabilitation and quality of life in adolescents with tuberculosis. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2019; 4(92): 2-7. (In Russ.)).

28. Основные показатели по туберкулёзу в России за 2019 год. [Main indicators on tuberculosis in Russia for 2019. (In Russ.)). URL: <https://mednet.ru/images/materials/CMT/tuberkulez-2019.pdf> [дата доступа: 17.05.2023].

29. Баласанянц Г.С. Концепция развития фтизиатрической санаторной помощи в Российской Федерации. *Медицинский альянс*. 2013; (4): 79-83. [Balasaniantc GS. Concept of TB sanatorium services development in the Russian Federation. *Medical Alliance*. 2013; (4): 79-83. (In Russ.)).

30. Корнева Н.В., Божков И.А., Владимиров О.Н., Севастьянов М.А., Силиди И.Ю. Актуальные вопросы реабилитационной помощи в амбулаторной фтизиатрии. *Таврический медико-биологический вестник*. 2022; 1(25): 83-96. [Korneva NV, Bozhkov IA, Vladimirova ON, Sevastyanov MA, Silidi IYu. Important issues of rehabilitation care in outpatient phthisiology. *Tavricheskiy mediko-biologicheskii vestnik*. 2022; 1(25): 83-96. (In Russ.)). doi: 10.29039/2070-8092-2022-25-1-83-96

31. Сарана А.М. Организация реабилитации для пациентов Санкт-Петербурга. [Sarana AM. Organization of rehabilitation for patients in St. Petersburg. (In Russ.)). URL: http://zdrav.spb.ru/media/filebrowser/организация_реабилитации_для_пациентов_спб.pdf [дата доступа: 17.05.2023].

32. Об утверждении профессионального стандарта «Специалист по медицинской реабилитации»: Приказ Минтруда России от 03.09.2018 № 572н. 2018. [On approval of the professional standard "Medical Rehabilitation Specialist": Order of the Ministry of Labor of Russia d.d. September 3, 2018 No. 572n. 2018. (In Russ.)). URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_307256/b2de419a7e7f272948f501f63d52f9802f8aa8c4/#dst100009 [дата доступа: 17.05.2023].

33. Об утверждении профессионального стандарта «Врач-фтизиатр»: Приказ Минтруда России от 31.10.2018 № 684н. 2018. [On approval of the professional standard "Phthisiatrician" Order of the Ministry of Labor of Russia d.d. October 31, 2018 No. 684n. 2018. (In Russ.)). URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_311651/ [дата доступа: 17.05.2023].

34. Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья (МКФ). [International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF). (In Russ.)). URL: <http://who-fic.ru/ifc> [дата доступа: 17.05.2023].

35. Мельникова Е.В., Буйлова Т.В., Бодрова Р.А., Шмонин А.А., Мальцева М.Н., Иванова Г.Е. Использование международной классификации функционирования (МКФ) в амбулаторной и стационарной медицинской реабилитации: инструкция для специалистов. *Вестник восстановительной медицины*. 2017; 6(82): 7. [Melnikova EV, Builova TV, Bodrova RA, Shmonin AA, Maltseva MN, Ivanova GE. Use of the International Classification of Functioning (ICF) in outpatient and inpatient medical rehabilitation: Instructions for specialists. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2017; 6(82): 7. (In Russ.)).

36. Иванова Г.Е., Мельникова Е.В., Шамалов Н.А., Бодрова Р.А., Шмонин А.А., Суворов А.Ю., и др. Использование МКФ и оценочных шкал в медицинской реабилитации. *Вестник восстановительной медицины*. 2018; 3(85): 14-20. [Ivanova GE, Melnikova EV, Shamalov NA, Bodrova RA, Shmonin AA, Suvorov AYU, et al. The use of the ICF and rating scales in medical rehabilitation. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2018; 3(85): 14-20. (In Russ.)).

37. ICF core sets. URL: <https://www.icf-core-sets.org> [date of access: 18.05.2023].

38. Saketkoo LA, Escorpizo R, Varga J, Keen KJ, Fligelstone K, Birring SS, et al. World Health Organization (WHO) International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF) core set development for interstitial lung disease. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 979788. doi: 10.3389/fphar.2022.979788

39. Афанасьева В.В., Потапчук А.А. Применение категорий Международной классификации функционирования при организации медицинской реабилитации больных хронической обструктивной болезнью легких. *Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова*. 2020; 1(27): 26-36. [Afanasyeva VV, Potapchuk AA. Application of categories of the international classification of functioning in the organization of medical rehabilitation of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *The Scientific Notes of the Pavlov University*. 2020; 27(1): 26-36. (In Russ.)). doi: 10.24884/1607-4181-2020-27-1-26-36

40. Пьянзова Т.В., Васильева И.А., Джангильдин Ю.Т. Оценка функциональных ограничений у пациентов фтизиатрического профиля при тяжелом течении заболевания. *Туберкулёз и болезни легких*. 2020; 3(98): 37-44. [Pyanzova TV, Vasilyeva IA, Dzhangildin YuT. Evaluation of functional disorders in tuberculosis patients with the severe course of the disease. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2020; 98(3): 37-44. (In Russ.)). doi: 10.21292/2075-1230-2020-98-3-37-44

41. Пьянзова Т.В., Лузина Н.В., Белоусова Н.С. Оценка функциональных нарушений у пациентов фтизиатрического стационара: методические рекомендации для врачей. Кемерово: Ин-фолио; 2018. [Pyanzova TV, Luzina NV, Belousova NS. Assessment of functional disorders in patients of a phthisiological hospital: guidelines for doctors. Kemerovo: In-folio; 2018. (In Russ.)).

42. Владимиров О.Н., Афонина К.П., Пономаренко Г.Н., Шошмин А.В. Организация системы комплексной реабилитации в Российской Федерации на основе изучения потребностей инвалидов. *Медицина в Кузбассе*. 2018; 4: 20-27. [Vladimirova ON, Afonina KP, Ponomarenko GN, Shoshmin AV. Organization of the comprehensive rehabilitation system based on studying needs of persons with disabilities in the Russian Federation. *Medicine in Kuzbass*. 2018; 4: 20-27. (In Russ.)).

43. Nuwagira E, Stadelman A, Baluku JB, Rhein J, Byakika-Kibwika P, Mayanja H, et al. Obstructive lung disease and quality of life after cure of multi-drug-resistant tuberculosis in Uganda: A cross-sectional study. *Trop Med Health*. 2020; 48: 34. doi: 10.1186/s41182-020-00221-y
44. Loveday M, Hlangu S, Larkan LM, Cox H, Daniels J, Mohr-Holland E, et al. "This is not my body": Therapeutic experiences and post-treatment health of people with rifampicin-resistant tuberculosis. *PLoS One*. 2021; 16(10): 0251482. doi: 10.1371/journal.pone.0251482
45. Alene KA, Wangdi K, Colquhoun S, Chani K, Islam T, Rahevar K, et al. Tuberculosis related disability: A systematic review and meta-analysis. *BMC Med*. 2021; 19(1): 203. doi: 10.1186/s12916-021-02063-9
46. Romanowski K, Baumann B, Basham CA, Ahmad Khan F, Fox GJ, Johnston JC. Long-term all-cause mortality in people treated for tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19(10): 1129-1137. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30309-3
47. Allwood BW, Byrne A, Meghji J, Rachow A, van der Zalm MM, Schoch OD. Post-tuberculosis lung disease: Clinical review of an under-recognised global challenge. *Respiration*. 2021; 100(8): 751-763. doi: 10.1159/000512531
48. Чухин М.И., Попова Л.А., Шергина Е.А., Карпина Н.А. Вентиляционная функция легких и качество жизни пациентов после перенесенного туберкулеза легких. *Медицинский альянс*. 2021; (4): 37-44. [Chushkin MI, Popova LA, Shergina EA, Karpina NA. Ventilation function of lung and quality of life after cured pulmonary tuberculosis. *Medical Alliance*. 2021; (4): 37-44. (In Russ.)]. doi: 10.36422/23076348-2021-9-4-37-44
49. Ravimohan S, Kornfeld H, Weissman D, Bisson GP. Tuberculosis and lung damage: From epidemiology to pathophysiology. *Eur Respir Rev*. 2018; 27(147): 170077. doi: 10.1183/16000617.0077-2017
50. Allwood BW, Van Der Zalm MM, Amaral AFS, Byrne A, Datta S, et al. Post-tuberculosis lung health: Perspectives from the First International Symposium. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2020; 24(8): 820-828. doi: 10.5588/ijtld.20.0067
51. Migliori GB, Marx FM, Ambrosino N, Zampogna E, Schaaf HS, van der Zalm MM, et al. Clinical standards for the assessment, management and rehabilitation of post-TB lung disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021; 25(10): 797-813. doi: 10.5588/ijtld.21.0425
52. Osman M, Welte A, Dunbar R, Brown R, Hoddinott G, Hesselting AC, et al. Morbidity and mortality up to 5 years post tuberculosis treatment in South Africa: A pilot study. *Int J Infect Dis*. 2019; 85: 57-63. doi: 10.1016/j.ijid.2019.05.024
53. Mpagama SG, Msaji KS, Kaswaga O, Zurba LJ, Mbelele PM, Allwood BW, et al. The burden and determinants of post-TB lung disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021; 10(25): 846-853. doi: 10.5588/ijtld.21.0278
54. Günther G, Ithete S. Clinical care for patients with post-TB lung disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2021; 25(3): 252-253. doi: 10.5588/ijtld.20.0824
55. Stop TB Partnership. *The global plan to end TB, 2023–2030*. URL: <https://www.stoptb.org/global-plan-to-end-tb/global-plan-to-end-tb-2023-2030> [date of access: 18.05.2023].
56. Singh SK, Naaraayan A, Acharya P, Menon B, Bansal V, Jesmajian S. Pulmonary rehabilitation in patients with chronic lung impairment from pulmonary tuberculosis. *Cureus*. 2018; 10(11): 3664. doi: 10.7759/cureus.3664
57. Visca D, Zampogna E, Sotgiu G, Centis R, Sadari L, D'Ambrosio L, et al. Pulmonary rehabilitation is effective in patients with tuberculosis pulmonary sequelae. *Eur Respir J*. 2019; 53(3): 1802184. doi: 10.1183/13993003.02184-2018
58. Tiberi S, Torricco MM, Rahman A, Krutikov M, Visca D, Silva DR, et al. Managing severe tuberculosis and its sequelae: From intensive care to surgery and rehabilitation. *J Bras Pneumol*. 2019; 45(2): 20180324. doi: 10.1590/1806-3713/e20180324
59. Чухин М.И., Стручков П.В., Отс О.Н., Карпина Н.Л. Реабилитация больных с туберкулезом легких и посттуберкулезными изменениями. *Клиническая медицина*. 2022; 100(2-3): 91-96. [Chushkin MI, Struchkov PV, Ots ON, Karpina NL. Rehabilitation of the patients with pulmonary tuberculosis and tuberculosis sequelae. *Clinical Medicine (Russian Journal)*. 2022; 100(2-3): 91-96. (In Russ.)]. doi: 10.30629/0023-2149-2022-100-2-3-91-96
60. Rochester CL, Spruit MA, Holland AE. Pulmonary rehabilitation in 2021. *JAMA*. 2021; 326(10): 969-970. doi: 10.1001/jama.2021.6560
61. Lahham A, Holland AE. The need for expanding pulmonary rehabilitation services. *Life (Basel)*. 2021; 11(11): 1236. doi: 10.3390/life11111236

Сведения об авторах

Сираева Татьяна Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела фтизиатрии, заведующая отделением физиотерапии с кабинетом лечебной физкультуры, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», e-mail: tatjana.siraeva1972@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-8505-5348>

Комиссарова Оксана Геннадьевна – доктор медицинских наук, заместитель директора по лечебной и научной работе, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», e-mail: oksana.komissarova.72@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4427-3804>

Романов Владимир Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом фтизиатрии, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», e-mail: romanov-vladimir-vik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0240-5514>

Information about the authors

Tatiana V. Siraeva – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of the Department of Phthisiology, Head of the Department of Physiotherapy with Physical Therapy Room, Central Tuberculosis Research Institute, e-mail: tatjana.siraeva1972@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-8505-5348>

Oksana G. Komissarova – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Medical and Scientific Work, Central Tuberculosis Research Institute, e-mail: oksana.komissarova.72@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4427-3804>

Vladimir V. Romanov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Phthisiology, Central Tuberculosis Research Institute, e-mail: romanov-vladimir-vik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0240-5514>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ЭКСПРЕССИЮ БЕЛКОВ Bcl-2 и Bad В КЛЕТКАХ ЖЁЛТЫХ ТЕЛ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

Мичурина С.В.¹,
Колесников С.И.^{2,3},
Ищенко И.Ю.¹,
Архипов С.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мичурина Светлана Викторовна,
e-mail: michurinasv3000@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Растёт интерес к выяснению роли мелатонина (МТ) в регуляции пролиферации и апоптоза клеток яичников при различных заболеваниях и дестабилизирующих воздействиях. Считается, что выбор между реализацией программы гибели или выживания клетки определяет соотношение антиапоптотических и проапоптотических белков.

Цель. Выявить влияние мелатонина на экспрессию антиапоптотического Bcl-2 и проапоптотического Bad и соотношение Bcl-2/Bad в лютеоцитах яичников крыс Вистар в острый (3-и сутки) и восстановительный (7-е и 14-е сутки) периоды после однократного воздействия экспериментальной гипертермии (ЭГ).

Методы. Разогревание составляло не более 17 минут. МТ вводили подкожно (0,1 мг в 0,2 мл физиологического раствора (ФР)) в течение 3 суток после ЭГ. Группы сравнения – крысы с введением ФР (контроль) и животные после ЭГ и ФР. Экспрессию Bad и Bcl-2 определяли иммуногистохимически на 3-и, 7-е и 14-е сутки после ЭГ и введения МТ/ФР.

Результаты. На 3-и сутки после ЭГ эффект гормона не выявлялся. Через неделю после ЭГ + МТ площадь экспрессии Bad уменьшалась значительно, чем у крыс после ЭГ + ФР, что приводило к росту Bcl-2/Bad. Это свидетельствовало об увеличении антиапоптотической защиты, блокирующей развитие внутреннего пути апоптоза на данном сроке. Через 2 недели после ЭГ + ФР площадь Bcl-2 уменьшалась значительно, чем площадь Bad. В результате Bcl-2/Bad практически в 2 раза снижался по сравнению с контролем. Это свидетельствовало об активации «митохондриальной ветви» апоптоза лютеоцитов. Через 2 недели после ЭГ + МТ площади Bad и Bcl-2 уменьшались синхронно, что восстанавливало Bcl-2/Bad до контроля.

Заключение. Введение МТ после ЭГ сдвигает соотношение площадей экспрессии Bcl-2/Bad в сторону увеличения антиапоптотического Bcl-2 уже через неделю восстановительного периода и способствует более ранней нормализации Bcl-2/Bad до физиологического уровня (уже через 2 недели после ЭГ + МТ).

Ключевые слова: мелатонин, апоптоз, экспериментальная гипертермия, яичники крыс, жёлтые тела, лютеоциты, Bad, Bcl-2, Bcl-2/Bad

Для цитирования: Мичурина С.В., Колесников С.И., Ищенко И.Ю., Архипов С.А. Влияние мелатонина на экспрессию белков Bcl-2 и Bad в клетках жёлтых тел яичников после воздействия экспериментальной гипертермии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 203-213. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.20

Статья поступила: 21.04.2023

Статья принята: 15.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

THE EFFECT OF MELATONIN ON THE Bcl-2 AND Bad PROTEINS EXPRESSION IN OVARIAN CORPUS LUTEUM CELLS AFTER EXPOSURE TO EXPERIMENTAL HYPERTHERMIA

Michurina S.V.¹,
Kolesnikov S.I.^{2,3},
Ishchenko I.Yu.¹,
Arkhipov S.A.¹

¹ Research Institute of Clinical
and Experimental Lymphology –
Branch of the Institute of Cytology
and Genetics, Siberian Branch
of Russian Academy of Sciences
(Timakova str. 2, Novosibirsk 630060,
Russian Federation)

² Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

³ Lomonosov Moscow State University
(Leninskie Gory 1, Moscow 119991,
Russian Federation)

Corresponding author:
Svetlana V. Michurina,
e-mail: michurinasv3000@gmail.com

ABSTRACT

Background. There is growing interest in determining the role of melatonin in the regulation of proliferation and apoptosis of ovarian cells at various diseases and destabilizing influences. It is believed that the choice between the implementation of a cell death or survival program determines the ratio of anti-apoptotic and pro-apoptotic proteins.

The aim. To identify the effect of melatonin on the expression of anti-apoptotic Bcl-2 and pro-apoptotic Bad and the Bcl-2/Bad ratio in the ovarian luteocytes of Wistar rats in the acute (day 3) and recovery (days 7 and 14) periods after a single exposure to experimental hyperthermia.

Methods. Warming up took no more than 17 minutes. Melatonin was injected subcutaneously (0.1 mg in 0.2 ml of physiological solution) for 3 days after experimental hyperthermia. Comparison groups included rats with physiological solution injection (control) and animals after experimental hyperthermia + physiological solution injection. The Bad and Bcl-2 expression was determined immunohistochemically on days 3, 7 and 14 after experimental hyperthermia + physiological solution or melatonin injection.

Results. On the day 3 after experimental hyperthermia, the effect of the hormone was not detected. A week after experimental hyperthermia + melatonin injection, the Bad expression area decreased more significantly than in rats after experimental hyperthermia + physiological solution injection, which led to an increase in Bcl-2/Bad ratio. This indicated an increase in anti-apoptotic protection, blocking the development of the internal apoptosis pathway at this time. 2 weeks after experimental hyperthermia + physiological solution injection, the Bcl-2 area decreased more significantly than the Bad area. As a result, the Bcl-2/Bad ratio decreased almost 2-fold compared to the control group. This indicated the activation of the “mitochondrial branch” of luteocyte apoptosis. 2 weeks after experimental hyperthermia + melatonin injection, the Bad and Bcl-2 areas decreased synchronously, which restored Bcl-2/Bad to control values.

Conclusion. The melatonin injection after experimental hyperthermia shifts the ratio of Bcl-2/Bad expression areas towards an increase in anti-apoptotic Bcl-2 already a week after the recovery period and promotes earlier normalization of Bcl-2/Bad to physiological levels (as early as 2 weeks after experimental hyperthermia + melatonin injection).

Key words: melatonin, apoptosis, experimental hyperthermia, rat ovaries, corpus luteum, luteocytes, Bad, Bcl-2, Bcl-2/Bad

Received: 21.04.2023

Accepted: 15.01.2024

Published: 26.03.2024

For citation: Michurina S.V., Kolesnikov S.I., Ishchenko I.Yu., Arkhipov S.A. The effect of melatonin on the Bcl-2 and Bad proteins expression in ovarian corpus luteum cells after exposure to experimental hyperthermia. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 203-213. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.20

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях возрастает влияние высокой температуры на организм человека в связи с глобальным изменением климата, освоением регионов с жарким климатом, развитием туризма и миграции, а также с работой в ряде отраслей промышленности (металлургической, угольной, горнорудной и др.). Вместе с тем к настоящему времени накоплен обширный научный материал об использовании гипертермии для терапии онкологических, инфекционных, паразитарных заболеваний, наркозависимых состояний, СПИДа. Общая гипертермия в диапазоне температур от 42,5° до 44,0 °C является экстремальным фактором внешней среды, на действие которого организм реагирует комплексом сложных изменений, приводящих к глубоким расстройствам клеточных и внеклеточных взаимоотношений в биологических структурах и значительным нарушениям кровообращения и лимфотока, развитием гипоксии и стимуляцией апоптоза. В таких условиях значительную нагрузку испытывают репродуктивные органы, в частности яичники, являющиеся центральным звеном женской половой сферы [1].

Важно отметить, что вызванная стрессом регулируемая клеточная гибель также представляет собой стратегию сохранения биологического равновесия, напоминающую адаптивный ответ на стресс.

Выделяются два основных пути передачи сигнала апоптоза: рецептор-зависимый (внешний) сигнальный путь с участием рецепторов клеточной гибели, экспрессируемых на поверхности клеточной мембраны, и митохондриальный (внутренний или собственный) путь. Внутренний путь апоптоза – это форма регулируемой клеточной гибели, запускаемая различными изменениями микроокружения, включая повреждение ДНК, стресс эндоплазматического ретикула, избыток активных форм кислорода и др. Митохондриальный сигнальный путь апоптоза реализуется в результате повышения проницаемости наружной мембраны митохондрий, выхода апоптогенных белков из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму клетки и последующего запуска целого каскада реакций, приводящего в итоге к развитию программируемой клеточной гибели. Важную роль в механизмах регуляции программируемой клеточной гибели играет ингибитор апоптоза – белок Bcl-2, предотвращающий транслокацию Bcl-2-ассоциированных проапоптозных белков клеточной гибели Bax и Bad за счёт олигомеризации с этими белками и блокирующий таким образом высвобождение проапоптотических малых молекул из митохондрий [2]. Соотношение активных форм ингибиторов и индукторов апоптоза определяет выбор между реализацией программы гибели и выживанием клетки и информативно при определении степени ингибирования апоптоза [3]. Возможность влиять на взаимодействие антиапоптотических и проапоптотических членов семейства BCL-2 с помощью фармакологических или генетических вмешательств имеет большое значение в медицине при лечении различных (онкологических, аутоиммунных, нейродегенеративных и др.) заболеваний [3].

Любые стрессы и экстремальные воздействия, включая гипертермию, приводят к нарушениям систем детоксикации и адаптации организма. В восстановлении нарушенного гомеостаза и оптимизации функций различных органов и систем принимает участие гормон эпифиза – мелатонин (МТ). Этот гормон, обладающий широким спектром свойств, является основным синхронизатором эндогенных ритмов организма, а также мощным антиоксидантом. Причём МТ является антиоксидантом, который находится в митохондриях клеток, при этом в более высоких концентрациях, чем в других органеллах или субклеточных участках. Считается, что МТ даже может синтезироваться в митохондриях [4]. Одним из наиболее значимых физиологических свойств эпифизарного МТ является его способность регулировать клеточную пролиферацию и апоптоз [5, 6].

Эпифизарный МТ участвует в регуляции секреции половых гормонов и процессов полового созревания, обеспечивая тем самым полноценное функционирование репродуктивной системы. Дефицит МТ у мышей приводит к атрезии фолликулов и ускоряет возрастное снижение фертильности [7]. Этот гормон является ключевым регулятором репродуктивных функций человека [8].

Жёлтое тело выполняет роль временно функционирующего органа и определяет решающее значение в регуляции эстрального цикла и поддержании беременности. Лютеиновую функцию в значительной степени осуществляет прогестерон – основной стероидный гормон, синтезируемый этой железой. Установлено, что МТ играет ключевую роль в физиологии репродукции, регулируя выработку пролактина, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Синтез МТ в яичниках и яичках отражает ауто- и паракринную регуляцию репродуктивной физиологии, гарантируя высокое качество яйцеклетки и спермы. Гормон вырабатывается в клетках эпителия, стромы, миометрия и участвует в поддержании гомеостаза органа, регулируя множественные пути, связанные с процессами децидуализации и имплантации [9]. МТ функционирует как важный регулятор в яичнике, на что указывает экспрессия мелатониновых рецепторов МТ1 и МТ2 в различных компартментах яичника [10]. Подтверждено наличие МТ1 и МТ2 в лютеоцитах и регулирующая роль МТ в эндокринной функции жёлтых тел яичников лошадей [11], свиней, мышей [10, 12]. Установлено, что этот гормон способен увеличивать высвобождение прогестерона жёлтыми телами у супоросных свиноматок [10], индуцировать выработку прогестерона гранулезными и лютеиновыми клетками у человека [13]. МТ активирует набор генов, экспрессирующихся в жёлтых телах свиноматок и мышей, связанных с синтезом прогестерона, включая член 1 подсемейства А семейства 11 цитохрома P450 (*Cyp11a1*), член C18 семейства 1 альдокеторедуктазы (*Akr1c18*), изопентенилдифосфат-дельта-изомеразу 1 (*Idi1*) и рецептор лютеинизирующего гормона/хориогонадотропина (LHCGR), и, как следствие, повышает выработку прогестерона у свиноматок [14].

В настоящее время возрос интерес к выяснению роли МТ в регуляции клеточной пролиферации и апоп-

тоза в ряде различных клеток яичника. Однако в научных публикациях недостаточно освещены аспекты, касающиеся роли МТ и его влияния на «митохондриальную ветвь» апоптоза в лютеоцитах жёлтых тел яичников в экспериментальных моделях перегрева. Это определило наш интерес к изучению влияния МТ на процессы программируемой клеточной гибели в клетках жёлтых тел яичников при воздействии высокой температуры.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ влияния мелатонина после однократного воздействия экспериментальной гипертермии (ЭГ) на экспрессию ингибитора апоптоза белка Bcl-2 и индуктора программируемой клеточной гибели протеина Bad и на соотношение Bcl-2/Bad в лютеоцитах крыс Wistar в острый (3-и сутки) и восстановительный (7-е и 14-е сутки) периоды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 3-месячных самках крыс линии Wistar массой тела 180–200 г. Животные содержались в сертифицированном виварии Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России при температуре воздуха 20–22 °C на стандартном пищевом рационе и при свободном доступе к воде. Эксперименты выполняли в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза о защите животных, используемых в научных целях, и правилами надлежащей лабораторной практики. Исследование одобрено Этическим комитетом Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (протокол № 128 от 15.03.2017). Определение фаз полового цикла проводили методом вагинальных мазков [15]. Крыс, находившихся в фазе диэструс полового цикла, подвергали однократному воздействию ЭГ в соответствии со «Способом экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных» [16]. Согласно способу моделирования общей гипертермии, разогревание животных производилось в резервуаре стандартной термобани ТБ-110 при погружении в горячую воду до уровня шеи. Конструкция термобани предусматривает автоматическое поддержание температуры нагрева воды и равномерное перемешивание её слоёв, что позволяет считать в эксперименте температуру теплоносителя величиной постоянной. Преимущество моделирования общей гипертермии в водной среде перед воздушной заключается в том, что осуществляется равномерное, глубокое и быстрое нагревание организма животного. Температурный режим нагрева горячей воды-теплоносителя подбирался экспериментально и составил 45 °C. Время разогре-

вания каждой особи до уровня ректальной температуры 43,5 °C (стадия теплового удара) составляло не более 17 минут и было индивидуальным. Гибели крыс от гипертермии не зарегистрировано.

Было сформировано три группы: 1-я (контроль) – крысы без воздействия ЭГ, которым подкожно вводили 0,2 мл физиологического раствора (ФР); 2-я (ЭГ + ФР) – животные, подвергнутые воздействию ЭГ и получавшие 0,2 мл ФР; 3-я (ЭГ + МТ) – животные, подвергнутые воздействию ЭГ и получавшие МТ. МТ (ICN Biomedicals, Inc, США) вводили подкожно в дозе по 0,1 мг в 0,2 мл ФР. Первое введение МТ осуществляли в день проведения ЭГ, затем – в последующие 2 суток (вечером, после захода солнца, 1 раз в сутки). Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом через 3 (острый период), 7 и 14 суток (восстановительный период) после воздействия ЭГ и МТ, что соответствовало представлениям о фазности в течении постгипертермического периода. На каждую точку выведения из опыта приходилось по 5 особей из каждой группы.

Фиксацию яичников проводили в 10%-м растворе нейтрального формалина, затем их обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заключали в парафин. Иммуногистохимическое исследование экспрессии белков Bcl-2 и Bad проводили на парафиновых срезах яичников толщиной 3 мкм с помощью непрямого двухэтапного стрептавидин-биотинового метода, используя набор Novostain 500 (NCL-RTU-D, Novocastra; Великобритания), мышиные моноклональные антитела к антиапоптотическому белку Bcl-2 (IgG, № 610538; BD Biosciences, США) и к проапоптотическому белку Bad (IgG, № 610392; ICN Biosciences, Inc., США). На последнем этапе иммуногистохимическое окрашивание осуществлялось в хромогенном субстрате, содержащем диаминобензидин. Изучение срезов и получение микрофотографий выполняли при помощи моторизованного микроскопа Axiolmager M2 (Carl Zeiss, Германия) с камерой AxioCam HRc (Carl Zeiss, Германия) при конечном увеличении в 630 раз. Количественную оценку относительных площадей окрашенных участков осуществляли с помощью компьютерной программы Axio Vision 4.7.1 (Carl Zeiss, Германия) и блока автоматических измерений (NEXIV AutoMeasure; Nikon, Япония). Вычисляли соотношение площадей Bcl-2/Bad.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Statistica 6.1 (StatSoft Inc.; серийный № AXXR101E832903FA). В качестве исходных данных по каждому маркеру сравнивали различия по среднему полю зрения в группе. Каждая выборка включала до 50 полей зрения на каждую группу для каждого маркера. Выборки соответствовали нормальному распределению. Вычисляли значения среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Статистическую значимость различий сравниваемых величин определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для соотношения Bcl-2/Bad определяли значения медианы, первого и третьего квартилей. Статистическую значимость различий сравниваемых величин вычисля-

ли с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В клетках жёлтых тел на 3-и сутки эксперимента при введении как плацебо, так и МТ после ЭГ площади экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и проапоптотического протеина Bad увеличивались синхрон-

но (рис. 2). Наряду с этим происходило усиление интенсивности окрашивания лютеоцитов на оба белка (рис. 1). В результате у животных обеих групп соотношение Bcl-2/Bad оставалось на уровне контроля (рис. 3). Это свидетельствует о том, что интенсивность апоптоза в клетках жёлтых тел яичников в острый период после ЭГ остаётся в пределах физиологических значений, и на этом этапе МТ не оказывает статистически значимого влияния на развитие клеточной гибели.

Через неделю после ЭГ и введения ФР площади экспрессии Bcl-2 и Bad в лютеоцитах и соотношение Bcl2/Bad

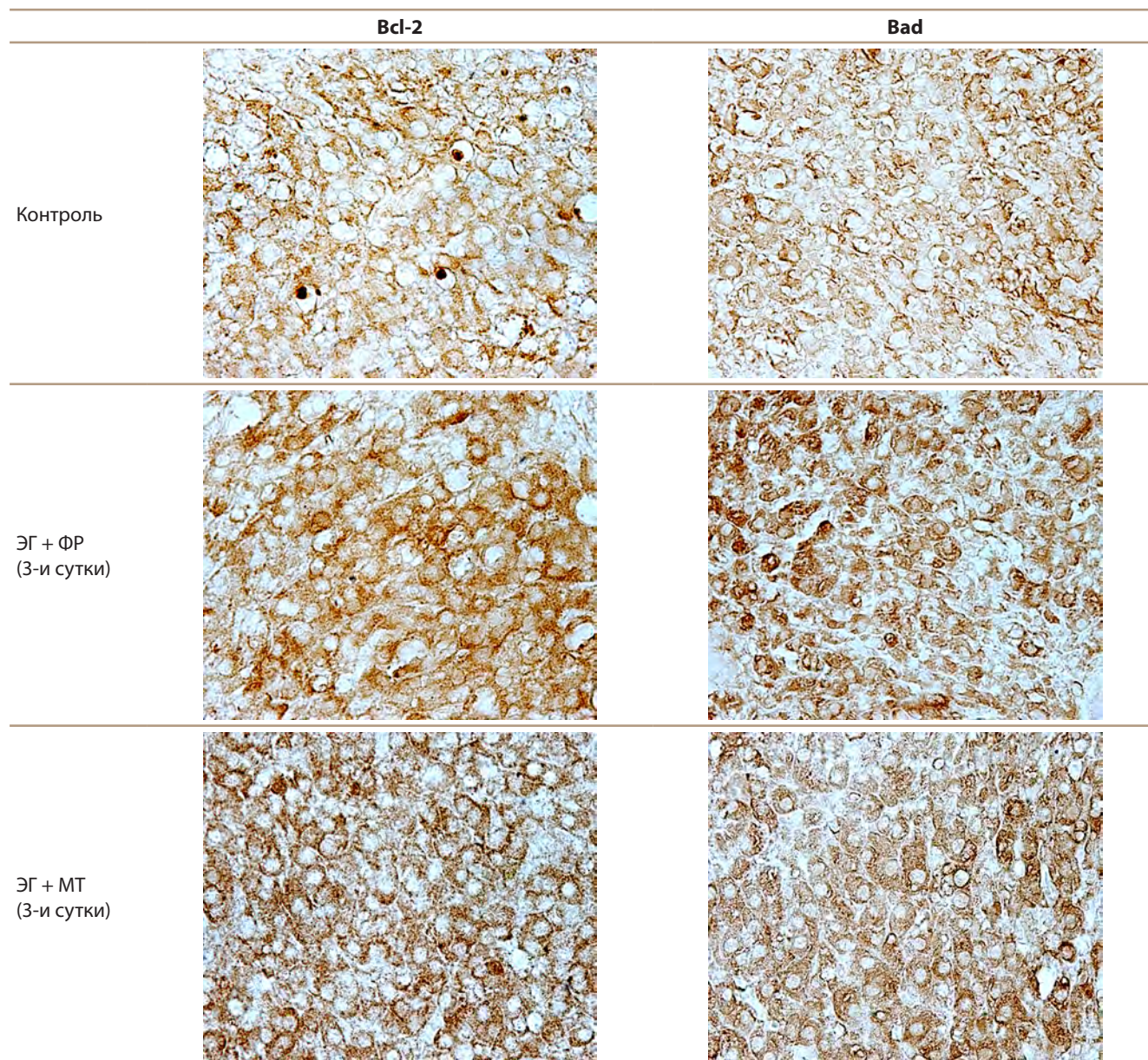


РИС. 1.
Микрофотографии жёлтых тел яичников крыс на 3-и сутки после воздействия экспериментальной гипертермии (ЭГ) и введения физиологического раствора (ФР) либо мелатонина (МТ). Иммуногистохимическая окраска непрямым стрептавидин-биотиновым методом на антиапоптотический белок Bcl-2 и проапоптотический белок Bad в клетках жёлтых тел; увеличение $\times 400$

FIG. 1.
Microphotographs of rat ovarian corpus luteum on day 3 after exposure to experimental hyperthermia (ЭГ) and physiological solution (ФР) or melatonin (MT) injection. Immunohistochemical staining by indirect streptavidin-biotin method for anti-apoptotic protein Bcl-2 and pro-apoptotic protein Bad in corpus luteum cells; magnification $\times 400$

сохранялись на уровне 3-х суток (рис. 2, 3). Введение МТ после гипертермии способствовало уменьшению интенсивности окрашивания (рис. 1, 2) и снижению показателей для обоих белков по сравнению со всеми группами (рис. 2). Однако площадь экспрессии проапоптотического белка Bad уменьшалась значительно, чем антиапоптотического протеина Bcl-2 (рис. 2). В результате на этом сро-

ке восстановительного периода соотношение Bcl2/Bad статистически значимо возрастало по сравнению со всеми группами (рис. 3). Это свидетельствует о более раннем создании антиапоптотической защиты, блокирующей развитие внутреннего пути апоптоза клеток жёлтых тел яичников уже на 7-е сутки после гипертермии и введения МТ по сравнению с животными без лечения МТ.

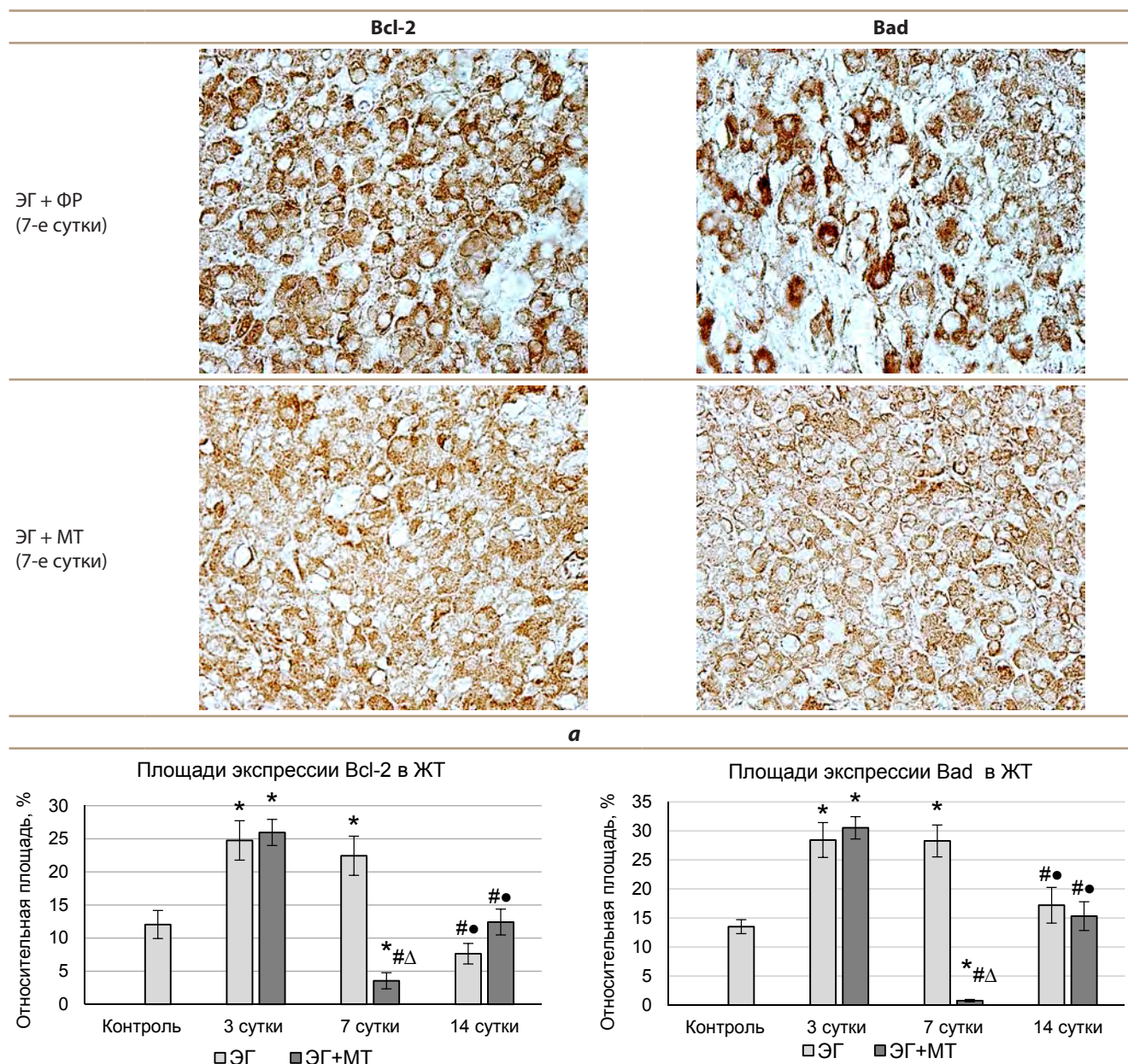


РИС. 2.

а – микрофотографии жёлтых тел яичников крыс на 7-е сутки после воздействий ЭГ + ФР и ЭГ + МТ; иммуногистохимическая окраска непрямым стрептавидин-биотиновым методом на Bcl-2 и Bad в клетках жёлтых тел; увеличение $\times 400$.

б – графики площади экспрессии исследуемых белков в разные сроки эксперимента ($p < 0,05$): * – по сравнению с контролем; # – по сравнению с 3-ми сутками; • – по сравнению с 7-ми сутками; Δ – межгрупповое сравнение одного и того же срока

6

FIG. 2.

а – microphotographs of rat ovarian corpus luteum on day 7 after exposure to experimental hyperthermia (ЭГ) and physiological solution (ФР) or melatonin (MT) injection; immunohistochemical staining by indirect streptavidin-biotin method for Bcl-2 and Bad in corpus luteum cells; magnification $\times 400$. **б** – graphs of the expression area of the studied proteins at different time periods of the experiment ($p < 0,05$): * – compared to the control; # – compared to day 3; • – compared to day 7; Δ – an intergroup comparison of the same period

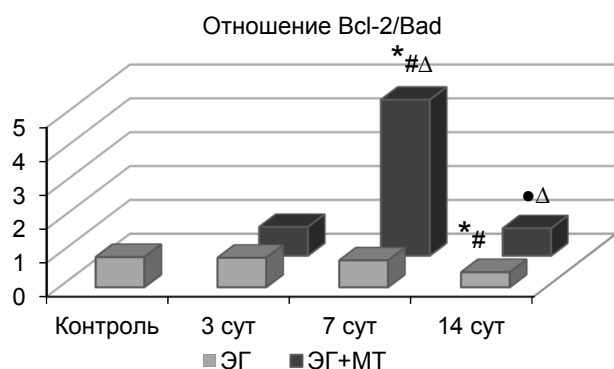


РИС. 3.

Соотношение площадей экспрессии Bcl-2/Bad в разные сроки эксперимента ($p < 0,05$): * – по сравнению с контролем; # – по сравнению с 3-ми сутками; • – по сравнению с 7-ми сутками; Δ – межгрупповое сравнение одного и того же срока

FIG. 3.

Bcl-2/Bad expression area ratio at different time periods of the experiment ($p < 0.05$): * – compared to the control; # – compared to day 3; • – compared to day 7; Δ – an intergroup comparison of the same period

На 14-е сутки эксперимента у крыс, получавших ФР после ЭГ, площадь экспрессии Bcl-2 в клетках жёл-

тых тел яичников уменьшалась, причём значительнее, чем для Bad (рис. 2). В результате соотношение площадей Bcl-2/Bad снижалось практически в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 3). Это свидетельствует об активации «митохондриальной ветви» программируемой клеточной гибели лютеоцитов на данном этапе восстановительного периода. Введение МТ животным, подвергшихся гипертермии, способствовало снижению интенсивности окрашивания (рис. 4) и более выраженному уменьшению Bad по сравнению со снижением Bcl-2, что приводило к восстановлению индекса Bcl-2/Bad до контрольного уровня (рис. 2, 3). Полученные результаты свидетельствуют о цитопротективном эффекте введения МТ животным после гипертермии, который уже на 14-е сутки восстановительного периода обеспечивает развитие митохондриального пути апоптоза лютеоцитов в рамках физиологической нормы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Тепловой стресс является известным стимулятором образования активных форм кислорода (АФК), которые могут поставить под угрозу беременность и развитие плода. Перегревание/термический стресс оказы-

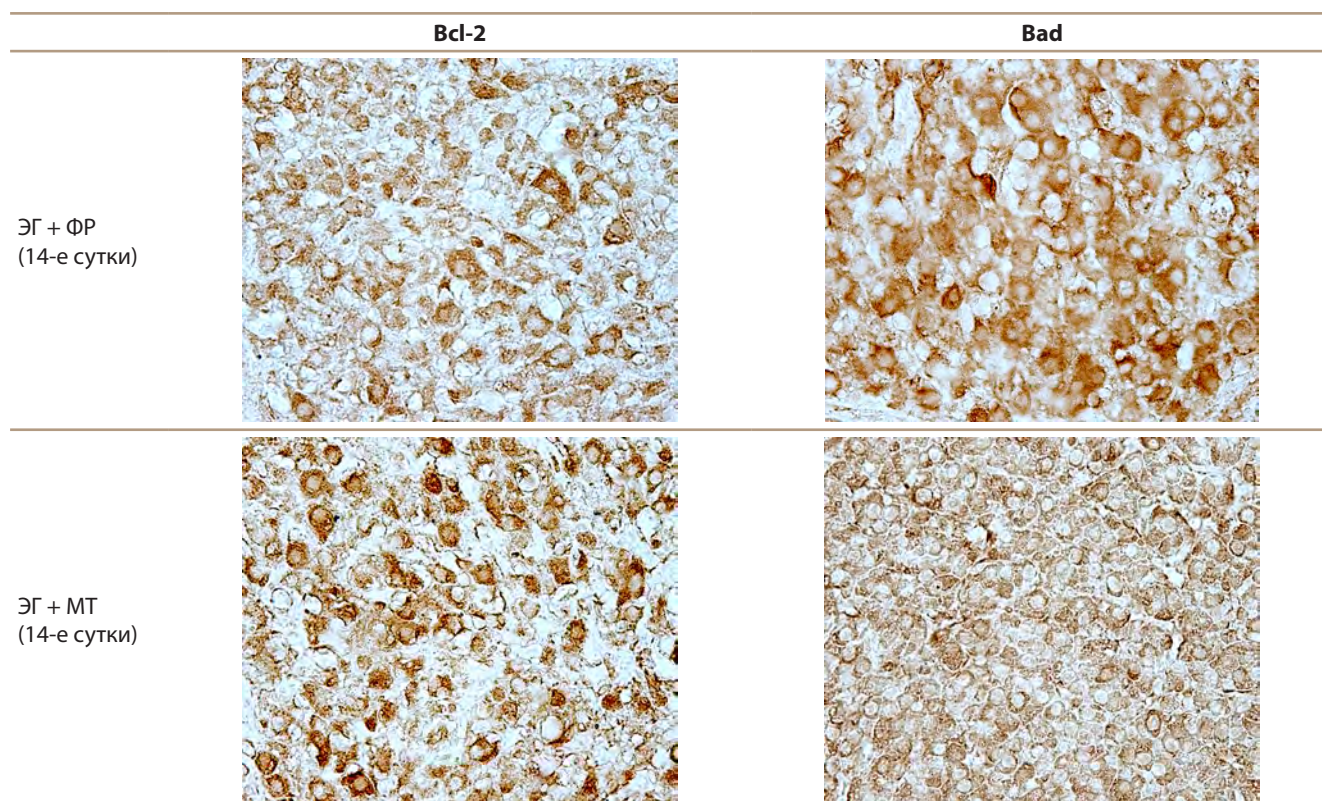


РИС. 4.

Микрофотографии жёлтых тел яичников крыс на 14-е сутки после воздействий ЭГ + ФР и ЭГ + МТ. Иммуногистохимическая окраска непрямым стрептавидин-биотиновым методом на Bcl-2 и Bad в лютеоцитах яичников; увеличение $\times 400$

FIG. 4.

Microphotographs of rat ovarian corpus luteum on day 14 after exposure to experimental hyperthermia (ЭГ) + physiological solution (ФР) injection or after exposure to experimental hyperthermia (ЭГ) + melatonin (MT) injection. Immunohistochemical staining by indirect streptavidin-biotin method for Bcl-2 and Bad in ovarian luteocytes; magnification $\times 400$

вает пагубное влияние на потенциал развития ооцитов у свиней, мышей, крупного рогатого скота, включая неблагоприятное воздействие на выживаемость, скорость созревания и мейотическую компетентность ооцитов, образование в них F-актина и α -тубулина, экспрессию генов *NRF2*, *CDK1* и *GDF9* [17].

МТ представляет собой плейотропную молекулу, которая регулирует различные процессы, включая беременность. Применение МТ в условиях теплового стресса у свиней улучшает качество и скорость созревания ооцитов (частично за счёт восстановления распределения F-актина) [17], оказывает положительное влияние на продолжительность эстрального периода и выживаемость эмбрионов [18]. Использование МТ снижает выработку АФК в созревающих ооцитах крупного рогатого скота и повышает способность к развитию эмбрионов из ооцитов, подвергшихся тепловому шоку [17]. Введение МТ на протяжении всей беременности у овец, находившихся в условиях термического стресса, улучшает их окислительно-восстановительный статус и приводит к увеличению среднего количества потомства, массы ягнят, а также к росту производства молока [19]. Обнаружено, что при тепловом стрессе этот гормон подавляет экспрессию p53 и повышает уровень лютеинизирующего гормона и экспрессию гена *Bcl-2* в клетках гранулезы овец [20].

Наши исследования показали, что действие высокой внешней температуры приводило к изменению соотношения белков регуляторов апоптоза (преобладание проапоптотического белка Bad над антиапоптотическим белком Bcl-2) в жёлтых телах яичников через 2 недели после ЭГ. Важно, что площадь экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 уменьшалась значительнее, чем площадь экспрессии проапоптотического белка Bad, что приводило к снижению индекса соотношения Bcl-2/Bad в 2 раза по сравнению с контролем. Это свидетельствовало о недостаточности антиапоптотической защиты и об активации «митохондриальной ветви» апоптоза лютеоцитов. Воздействие гипертермии способствует возникновению состояния окислительного стресса. Повреждающие эффекты таких воздействий приводят к митохондриальной дисфункции и избыточному накоплению в них АФК, что способствует развитию апоптоза клеток в различных компартментах яичника. Соответственно, благодаря своим антиоксидантным и антиапоптотическим эффектам МТ может значительно снижать окислительный стресс и сдерживать апоптоз [20–22]. При этом соотношение активных форм проапоптотических (Bax, Bad) и антиапоптотических (Bcl-2, Bcl-xL) белков будет определять выбор между реализацией программы выживания и гибели клетки [3]. Так, Bcl-2 может предотвращать транслокацию индукторов апоптоза Bax и Bad за счёт олигомеризации с этими белками и тем самым блокировать высвобождение этих молекул из митохондрий, что в свою очередь будет сдерживать апоптоз. Установлено, что Bcl-2 с Bad связывается сильнее, чем с Bax [2].

Показано, что МТ значительно ингибирует апоптоз текальных клеток у овец, снижая экспрессию проапоп-

тотического белка Bax и повышая экспрессию антиапоптотического протеина Bcl-2, что имеет значение для замедления атрезии яичников и старения [23]. Установлено, что МТ подавляет митохондриальный путь апоптоза гранулезных клеток в яичниках мышей, подвергавшихся химиотерапии циклофосфамидом, – снижает повышенные уровни экспрессии расщепленной каспазы 3, Bax, цитоплазматического Cyt-c и повышает сниженную экспрессию Bcl-2 в яичниках [24]. МТ может защищать яичники мышей от преждевременной недостаточности, вызванной гликозидами триптеригия, уменьшая апоптотическое повреждение – гормон снижает экспрессию каспазы 3, Bax и увеличивает экспрессию Bcl-2 [25].

В результате настоящего исследования мы установили, что введение МТ крысам после гипертермии сдвигает соотношение площадей экспрессии Bcl-2/Bad в жёлтых телах яичников в сторону увеличения антиапоптотического Bcl-2 уже на 7-е сутки восстановительного периода, в отличие от животных, не получавших лечения этим гормоном, что способствует нормализации Bcl-2/Bad до физиологического уровня (уже на 14-е сутки). В более раннем исследовании нами также было выявлено, что МТ может ингибировать митохондриальный путь апоптоза в фолликулах яичников крыс уже на 7-й день постгипертермии [5].

МТ, уменьшая окислительный стресс и апоптотическое повреждение, защищает клетки жёлтых тел в яичниках. Гормон восстанавливает пониженное в результате токсических воздействий количество жёлтых тел и численную плотность фолликулов у мышей и крыс [25, 26], улучшает уровни лютеинизирующего гормона, лютеиновую функцию и выживаемость эмбрионов овец и коз [19]. МТ защищает жёлтое тело от АФК и играет ключевую роль в поддержании его функции у женщин [19]. Лечение этим гормоном бесплодных женщин с дефектом лютеиновой фазы увеличивает внутрифолликулярную концентрацию МТ, уменьшает внутрифолликулярное окислительное повреждение, улучшает выработку прогестерона жёлтым телом и повышает уровень оплодотворения и беременности [27].

МТ и его рецептор MT1 играют важную роль в лютеинизации. Установлено, что передача сигналов мелатонин/MT1 заметно улучшает экспрессию маркерных генов жёлтого тела. Результаты высокопроизводительного секвенирования выявили, что взаимодействие с рецептором внеклеточного матрикса, фокальная адгезия и активация пути PI3K/Akt, которые участвуют в лютеинизации клеток гранулезы, могут опосредовать действие сигнала мелатонин/MT1 [28]. МТ увеличивает выработку прогестерона в жёлтом теле супоросных свиноматок, повышает экспрессию как P450_{ssc}, так и StAR, что приводит к повышению жизнеспособности лютеиновых клеток. Эпифизарный гормон выполняет свою регулирующую роль в функционировании лютеоцитов через пути передачи сигналов, опосредованных мелатониновыми рецепторами MT1 и MT2, наличие которых подтверждено в клетках жёлтых тел [10, 12].

Механизмы передачи сигналов, опосредованных МТ, через рецепторы этого гормона очень сложны и ва-

рируются в зависимости от типа и вида клеток в яичнике. В основном они включают путь циклического аденозинмонофосфата/протеинкиназы А (сАМР/РКА), путь внеклеточной регулируемой сигналом киназы/активируемой митогеном протеинкиназы (ERK/MAPK), путь фосфатидилинозитол-3-киназы/регулируемой сигналом апоптоза киназы (PI3K/AKT) и кальций-регулируемый путь [23, 29]. В частности, МТ активирует путь PI3K/Akt, опосредуя синтез и секрецию прогестерона текальными клетками [30]. В дополнение к своим антиоксидантным свойствам МТ может активировать путь SIRT1/PGC-1 α , что способствует митохондриальному биогенезу, нарушенному в результате воздействия токсинов из окружающей среды [20].

Противодействие окислительному стрессу и перепрограммирование нарушенного метаболизма в клетках обеспечивается МТ, синтезируемым в митохондриях, где его распределение значительно выше, чем в других субклеточных органеллах, и не имеет циркадного ритма. Установлено, что МТ высвобождается из митохондрий и затем через МТ1-рецептор на мембране контролирует выброс цитохрома с, т. е. обеспечивает аутомитокринную регуляцию. МТ присутствует в митохондриальных мембранах и переходит в митохондрии с помощью олигопептидных транспортеров PEPT1 и PEPT2, расположенных на мембране. Высокие концентрации МТ и его множественное действие в качестве антиоксиданта обеспечивают мощную защиту этих органелл, подвергающихся воздействию свободных радикалов. Внутри митохондрий МТ действует как прямой поглотитель свободных радикалов и связанных с ними нерадикальных продуктов и стимулирует антиоксидантные ферменты, включая супероксиддисмутазу 2, каталазу и глутатионредуктазу, при этом подавляя прооксидантные ферменты. Регулируя активность липоксигеназы, МТ защищает клетки от гидропероксидации полиненасыщенных жирных кислот. Он модулирует реакции эндоплазматического ретикула на стресс, активность сиртуинов, процессы митофагии и аутофагии. МТ путём прямого захвата АФК в митохондриях, активации антиоксидантной защиты и сохранения целостности мембран играет решающую роль в поддержании нормальных функций митохондрий и энергетического обмена в клетках [9]. Таким образом, воздействие мелатонином в условиях гипертермии приводит к снижению апоптотической гибели клеток жёлтых тел и, как следствие, к уменьшению повреждающего действия перегрева на морфологическую организацию органа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение МТ после ЭГ сдвигает соотношение площадей экспрессии Bcl-2/Bad в сторону увеличения антиапоптотического Bcl-2 уже на 7-е сутки восстановительного периода. Введение этого гормона после гипертермии способствует более ранней нормализации Bcl-2/Bad до физиологического уровня – уже на 14-е сутки после воздействия ЭГ и МТ.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование поддержано бюджетным проектом Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (FWNR-2022-0009).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бочкарева А.Л., Мичурина С.В., Коненков В.И., Бочкарев И.Г. Влияние мелатонина на фолликулярный аппарат и сосуды яичников крыс в условиях гипертермии. *Морфология*. 2015; 148(5): 71-76. [Bochkareva AL, Michurina SV, Konenkov VI, Bochkarev IG. The effect of melatonin on the follicular apparatus and vessels of the ovaries of rats in hyperthermia. *Morphology*. 2015; 148(5): 71-76. (In Russ.)].
2. Duan L, Dong S, Huang K, Cong Y, Luo S, Zhang JZH. Computational analysis of binding free energies, hotspots and the binding mechanism of Bcl-xL/Bcl-2 binding to Bad/Bax. *Phys Chem Chem Phys*. 2021; 23(3): 2025-2037. doi: 10.1039/d0cp04693k
3. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 2018; 25(3): 486-541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4
4. Reiter RJ, Sharma R, Pires de Campos Zuccari DA, de Almeida Chuffa LG, Manucha W, Rodriguez C. Melatonin synthesis in and uptake by mitochondria: Implications for diseased cells with dysfunctional mitochondria. *Future Med Chem*. 2021; 13(4): 335-339. doi: 10.4155/fmc-2020-0326
5. Michurina SV, Kolesnikov SI, Ishchenko IY, Bochkareva AL, Arkhipov SA. Effect of melatonin on expression of apoptosis regulator proteins Bcl-2 and Bad in ovarian follicular apparatus after high temperature exposure. *Bull Exp Biol Med*. 2021; 170(5): 598-603. doi: 10.1007/s10517-021-05114-6
6. Michurina SV, Ishchenko IY, Arkhipov SA, Letyagin AY, Korolev MA, Zavjalov EL. The expression of apoptosis-regulating proteins Bcl-2 and Bad in liver cells of C57Bl/6 mice under light-induced functional pinealectomy and after correction with melatonin. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektii*. 2021; 25(3): 310-317. doi: 10.18699/VJ21.034
7. Yang C, Liu Q, Chen Y, Wang X, Ran Z, Fang F, et al. Melatonin delays ovarian aging in mice by slowing down the exhaustion of ovarian reserve. *Commun Biol*. 2021; 4(1): 534. doi: 10.1038/s42003-021-02042-z
8. Russo M, Forte G, Montanino Oliva M, Laganà AS, Unfer V. Melatonin and myo-inositol: supporting reproduction from the oocyte to birth. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(16): 8433. doi: 10.3390/ijms22168433
9. Kvetnoy I, Ivanov D, Mironova E, Evsyukova I, Nasyrov R, Kvetnaia T, et al. Melatonin as the cornerstone of neuroimmunoendocrinology. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(3): 1835. doi: 10.3390/ijms23031835

10. Zhang W, Wang Z, Zhang L, Zhang Z, Chen J, Chen W, et al. Melatonin stimulates the secretion of progesterone along with the expression of cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450scc) and steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in corpus luteum of pregnant sows. *Theriogenology*. 2018; 108: 297-305. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.12.026
11. Pedreros M, Ratto M, Guerra M. Expression of functional melatonin MT(1) receptors in equine luteal cells: In vitro effects of melatonin on progesterone secretion. *Reprod Fertil Dev*. 2011; 23(3): 417-423. doi: 10.1071/RD10137
12. Zhang ZL, Peng J, Yang ST, Chen JX, Wang CX, Tong DW. Expression of arylalkylamine n-acetyltransferase (AANAT) and acetylserotonin o-methyltransferase (ASMT) in the corpus luteum of pregnant sows and synthesis of melatonin in luteal cells. *Cell Tissue Res*. 2022; 388(1): 167-179. doi: 10.1007/s00441-021-03556-y
13. Fang L, Li Y, Wang S, Yu Y, Li Y, Guo Y, et al. Melatonin induces progesterone production in human granulosa-lutein cells through upregulation of StAR expression. *Aging (Albany NY)*. 2019; 11(20): 9013-9024. doi: 10.18632/aging.102367
14. Wang J, Zhu T, Ma X, Wang Y, Liu J, Li G, et al. Melatonergic systems of AANAT, melatonin, and its receptor MT2 in the corpus luteum are essential for reproductive success in mammals. *Biol Reprod*. 2021; 104(2): 430-444. doi: 10.1093/biolre/iaaa190
15. Ajayi AF, Akhigbe RE. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: An update. *Fertil Res Pract*. 2020; 6: 5. doi: 10.1186/s40738-020-00074-3
16. Ефремов А.В., Пахомова Ю.В., Пахомов Е.А., Ибрагимов Р.Ш., Шорина Г.Н. Способ экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных: Патент № 2165105 С1 Рос. Федерация; МПК G09B 23/28 (2000.01). № 99126978/13; заявл. 22.12.1999; опубл. 10.04.2001. Бюл. № 10. [Efremov AV, Pakhomova YuV, Pakhomov EA, Ibragimov RSh, Shorina GN. *Method of experimental modeling of general hyperthermia in small laboratory animals*: Patent No. 2165105 C1 of the Russian Federation. 2001; (10). (In Russ.)].
17. Yang L, Zhao Z, Cui M, Zhang L, Li Q. Melatonin restores the developmental competence of heat stressed porcine oocytes, and alters the expression of genes related to oocyte maturation. *Animals (Basel)*. 2021; 11(4): 1086. doi: 10.3390/ani11041086
18. Arend LS, Knox RV. Fertility responses of melatonin-treated gilts before and during the follicular and early luteal phases when there are different temperatures and lighting conditions in the housing area. *Anim Reprod Sci*. 2021; 230: 106769. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106769
19. Bouroutzika E, Kouretas D, Papadopoulos S, Veskoukis AS, Theodosiadou E, Makri S, et al. Effects of melatonin administration to pregnant ewes under heat-stress conditions, in redox status and reproductive outcome. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(3): 266. doi: 10.3390/antiox9030266
20. Chen Y, Shan X, Jiang H, Guo Z. Exogenous melatonin directly and indirectly influences sheep oocytes. *Front Vet Sci*. 2022; 9: 903195. doi: 10.3389/fvets.2022.903195
21. Данилова М.В., Усольцева Е.Н. Значение гормона мелатонина эпифиза в поддержании здоровья женщин репродуктивного возраста (обзор). *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2019; 13(4): 337-344. [Danilova MV, Usoltseva EN. Significance of the pineal gland hormone melatonin in maintaining the health of women of reproductive age (a review). *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2019; 13(4): 337-344. (In Russ.)]. doi: 10.17749/2313-7347.2019.13.4.337-344
22. Xing CH, Wang Y, Liu JC, Pan ZN, Zhang HL, Sun SC, et al. Melatonin reverses mitochondria dysfunction and oxidative stress-induced apoptosis of Sudan I-exposed mouse oocytes. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 225: 112783. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112783
23. Ma J, Wang J, Hu S, Li Y, Zhang Y, Yang Y, et al. Effects of melatonin on development and hormone secretion of sheep theca cells *in vitro*. *Theriogenology*. 2023; 198: 172-182. doi: 10.1016/j.theriogenology.2022.12.036
24. Feng J, Ma WW, Li HX, Pei XY, Deng SL, Jia H, et al. Melatonin prevents cyclophosphamide-induced primordial follicle loss by inhibiting ovarian granulosa cell apoptosis and maintaining AMH expression. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 895095. doi: 10.3389/fendo.2022.895095
25. Ma M, Chen XY, Li B, Li XT. Melatonin protects premature ovarian insufficiency induced by tripterygium glycosides: Role of SIRT1. *Am J Transl Res*. 2017; 9(4): 1580-1602.
26. Goktepe O, Balcioglu E, Baran M, Cengiz O, Ceyhan A, Suna PA, et al. Protective effects of melatonin on female rat ovary treated with nonylphenol. *Biotech Histochem*. 2023; 98(1): 13-19. doi: 10.1080/10520295.2022.2075566
27. Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Kizuka F, Lee L, et al. Melatonin as a free radical scavenger in the ovarian follicle. *Endocr J*. 2013; 60(1): 1-13. doi: 10.1507/endocr.ej12-0263
28. He C, Ma T, Shi J, Zhang Z, Wang J, Zhu K, et al. Melatonin and its receptor MT1 are involved in the downstream reaction to luteinizing hormone and participate in the regulation of luteinization in different species. *J Pineal Res*. 2016; 61(3): 279-290. doi: 10.1111/jpi.12345
29. Wang X, Meng K, He Y, Wang H, Zhang Y, Quan F. Melatonin stimulates STAR expression and progesterone production via activation of the PI3K/AKT pathway in bovine theca cells. *Int J Biol Sci*. 2019; 15(2): 404-415. doi: 10.7150/ijbs.27912

Сведения об авторах

Мичурина Светлана Викторовна – профессор, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующая группой экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: michurinasv3000@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3630-4669>

Колесников Сергей Иванович – академик РАН, Советник РАН, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; профессор кафедры государственной политики, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Ищенко Ирина Юрьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник группы экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: irenisch@mail, <https://orcid.org/0000-0001-6281-0402>

Архипов Сергей Алексеевич – доктор биологических наук, старший научный сотрудник группы экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: arhipowsergei@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1390-4426>

Information about the authors

Svetlana V. Michurina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: michurinasv3000@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3630-4669>

Sergey I. Kolesnikov – Member of RAS, Advisor of RAS, Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Professor at the Department of the State Policy, Lomonosov Moscow State University, e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Irina Yu. Ischenko – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: irenisch@mail, <https://orcid.org/0000-0001-6281-0402>

Sergey A. Arkhipov – Dr. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: arhipowsergei@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1390-4426>

ВЛИЯНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МАРГАНЦА НА МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН КРЫС ЛИНИИ WISTAR

Казакова Т.В.,
Маршинская О.В.,
Нотова С.В.

ФГБНУ «Федеральный научный центр
биологических систем и агротехнологий
Российской академии наук»
(460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Казакова Татьяна Витальевна,
e-mail: vaisvais13@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Наличие повышенных концентраций марганца в почвах, на водозаборах питьевого и хозяйственно-бытового назначения в ряде субъектов Российской Федерации свидетельствует о хроническом влиянии данного металла на все слои населения. Усугубляет данное положение нарушение принципов оптимального питания, что приводит к изменению усвоения микронутриентов организмом. В связи с этим особое значение приобретает изучение элементного статуса организма на фоне воздействия марганца.

Цель исследования. Изучить эффекты субхронического воздействия марганца на минеральный статус крыс линии Wistar.

Материалы и методы. Для проведения исследования было отобрано 20 половозрелых крыс, из которых были сформированы две группы – контрольная (n = 10) и опытная (n = 10). Животные контрольной группы получали общий рацион, животные опытной группы – рацион с дополнительным введением сульфата марганца в дозе 1433 мг/кг в течение 28 дней. По окончании подготовительного периода осуществлялся забор крови и головного мозга для определения содержания химических элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и металл-лигандных форм марганца методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой.

Результаты. Установлено, что субхроническое пероральное воздействие марганца приводит к повышению содержания данного микроэлемента в сыворотке крови, снижению уровня кальция, калия, магния, железа и меди. В коре головного мозга повышается уровень марганца, свинца, ртути и стронция на фоне снижения железа и йода. Повышение валового содержания марганца в сыворотке крови приводит к перегрузке основных высокомолекулярных носителей и инициирует образование низкомолекулярных форм марганца.

Заключение. Субхроническое пероральное воздействие марганца приводит к кумуляции данного микроэлемента в организме животных и развитию дисбаланса ряда макро- и микроэлементов.

Ключевые слова: минеральный обмен, марганец, микроэлементы, анализ содержания химических форм элементов, токсичность

Статья поступила: 24.03.2023
Статья принята: 11.01.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Казакова Т.В., Маршинская О.В., Нотова С.В. Влияние субхронического воздействия марганца на минеральный обмен крыс линии Wistar. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 214-221. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.21

EFFECT OF SUBCHRONIC EXPOSURE TO MANGANESE ON MINERAL METABOLISM IN WISTAR RATS

Kazakova T.V.,
Marshinskaia O.V.,
Notova S.V.

Federal Research Centre of Biological
Systems and Agrotechnologies
of the Russian Academy of Sciences
(9 Yanvarya str. 29, Orenburg 460000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Tatiana V. Kazakova,
e-mail: vaisvais13@mail.ru

ABSTRACT

Background. The presence of increased manganese concentrations in soils and water intakes areas for drinking and household purposes in a number of the Russian Federation subjects indicates the chronic influence of this metal on all segments of the population. This situation is aggravated by violation of the optimal nutrition principles, which leads to changes in the organism absorption of micronutrients. In this regard, the study of the elemental status of an organism against the background of manganese exposure is of particular importance.

The aim. To study the effects of subchronic exposure to manganese on the mineral status of Wistar rats.

Materials and methods. To conduct the study, 20 mature rats were selected, from which two groups were formed – control ($n = 10$) and experimental ($n = 10$). Animals in the control group received a general diet, animals in the experimental group received a diet with additional administration of manganese sulfate at a dose of 1433 mg/kg for 28 days. At the end of the preparatory period, blood and brain samples were taken to determine the content of chemical elements using inductively coupled plasma mass spectrometry and of metal-ligand manganese forms using high-performance liquid chromatography combined with inductively coupled plasma mass spectrometry.

Results. It has been established that subchronic oral exposure to manganese leads to an increase in the content of this microelement in the blood serum and to a decrease in the levels of calcium, potassium, magnesium, iron and copper. In the cerebral cortex, the level of manganese, lead, mercury and strontium increases against the background of a decrease in iron and iodine levels. An increase in the gross content of manganese in blood serum leads to an overload of the main high-molecular carriers and initiates the formation of low-molecular forms of manganese.

Conclusion. Subchronic oral exposure to manganese leads to the accumulation of this microelement in the body of animals and to the development of an imbalance of a number of macro- and microelements.

Keywords: mineral metabolism, manganese, microelements, analysis of the content of chemical forms of elements, toxicity

Received: 24.03.2023
Accepted: 11.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Kazakova T.V., Marshinskaia O.V., Notova S.V. Effect of subchronic exposure to manganese on mineral metabolism in Wistar rats. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 214-221. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.21

ВВЕДЕНИЕ

Доказано, что жизнедеятельность человека и животных тесным образом связана с химическим составом среды обитания и содержанием в ней различных макро- и микроэлементов, которые принимают участие в формировании ряда адаптивных механизмов организма, включая функционирование жизненно важных систем, таких как нервная, дыхательная, сердечно-сосудистая, иммунная, пищеварительная, эндокринная [1].

Одним из эссенциальных химических элементов, связанных с геохимическими параметрами территории, является марганец. С одной стороны, данный металл представляет собой жизненно необходимый микроэлемент, контролирующий целый ряд физиологических процессов в организме человека и животных [2]. Известно, что марганец принимает участие в регуляции углеводного, белкового и липидного обменов, защите клеток от окислительного стресса, синтезе нейромедиаторов, обеспечении полноценной репродуктивной функции [3–5]. Наряду с этим при повышенном экзогенном поступлении марганца способен оказывать негативный эффект на функциональное состояние организма [6, 7]. Впервые это было зарегистрировано среди шахтёров, сварщиков, плавильщиков и других рабочих, которые подвергались ингаляционному воздействию марганца в связи с использованием данного металла в производственных циклах [8, 9]. Однако следует отметить, что риск для здоровья не ограничивается только профессиональным воздействием. Наличие повышенных концентраций марганца в почвах и воде в ряде субъектов Российской Федерации свидетельствует о его хроническом влиянии на всё население в целом [10]. Особенно это касается той части населения, которая проживает вблизи промышленных районов и дорог [11]. Усугубляет данное положение и нарушение принципов оптимального питания, что приводит к изменению усвоения химических микронутриентов организмом [12]. Таким образом, именно пища и питьевая вода являются основным промежуточным звеном в поступлении марганца в организм человека и животных из окружающей среды, в значительной степени определяющим состояние минерального обмена [13]. В связи с вышеизложенным возрастает важность изучения метаболизма макро- и микроэлементов на фоне хронического воздействия марганца.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить состояние минерального обмена крыс линии Wistar на фоне субхронического воздействия марганца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа была выполнена в полном соответствии с этическими стандартами, прописанными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., пересмотр 2013 г.). Дизайн эксперимента был одобрен локальным этическим комите-

том ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (г. Оренбург). Исследование проведено на 20 половозрелых самках крыс линии Wistar. Возраст животных на момент начала эксперимента составлял 3 месяца. Все животные получали основной рацион (ОР) в виде рассыпного комбикорма и содержались в пластиковых клетках с подстилкой из древесных опилок в условиях искусственного освещения (12-часовой световой день) и приточно-вытяжной вентиляции. Длительность эксперимента составила 4 недели (28 дней).

Животные были разделены на две группы. Крысы из контрольной группы ($n = 10$) получали общий рацион, животные опытной группы ($n = 10$) – ОР с добавлением пятиводного сульфата марганца ($\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) в дозе 1433 мг/кг. Данная соль произведена компанией АО «Вектон» (г. Санкт-Петербург) с сертифицированной чистотой не менее 98 %, представляет собой кристаллический порошок от белого до бледно-розового цвета (ТУ 6-09-01-218-84). Подбор дозы $\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ был проведён на основе данных информационных систем GESTIS Substance Database и Европейского агентства по химическим веществам (ECHA, European Chemicals Agency).

По истечении 28 дней животные выводились из эксперимента для забора биоматериалов (кровь, кора головного мозга) с целью оценки действия марганца на минеральный обмен.

Кровь отбиралась из сердечной артерии в вакуумные пробирки VACUETTE с активатором свёртывания крови и гелем (Greiner Bio-One International AG, Австрия) объёмом 6 мл. Для получения сыворотки проводилось центрифугирование пробирок в течение 10 минут при 1000 г с использованием центрифуги ELMi CM-6M (Латвия). Отделённую сыворотку хранили при температуре -70°C в пробирках типа эппендорфа. Сразу же после быстрого извлечения головного мозга проводили срез ткани с поверхности полушария толщиной около 1–1,5 мм. Образцы взвешивали и хранили при температуре -20°C до проведения анализа.

Анализ содержания макро- и микроэлементов в образцах сыворотки крови и коры головного мозга проводился с использованием масс-спектрометра NexION 300D (PerkinElmer Inc., США) методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Определение содержания отдельных химических форм марганца в сыворотке крови осуществлялось с помощью масс-спектрометра NexION 300D (PerkinElmer Inc., США) в сочетании с жидкостным хроматографом PerkinElmer Series 200 (PerkinElmer Inc., США) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой (ВЭЖХ-ИСП-МС). Данный этап исследования проводился в аттестованной лаборатории ООО «Микронутриенты» (г. Москва; регистрационный номер лицензии Л041-01137-77/00370156).

Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с использованием статистического пакета Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Гипотеза о принадлежности данных нормально-

му распределению отклонена во всех случаях с вероятностью 95 %, что обосновало применение непарметрических процедур обработки статистических совокупностей (U-критерий Манна – Уитни). Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го процентилей (Q_{25} – Q_{75}). Взаимосвязи между параметрами оценивали при помощи метода ранговых корреляций Спирмена. Для определения тесноты связи между изучаемыми признаками проводили вычисление коэффициента корреляции (r). Коэффициенты корреляции оценивались следующим образом: менее 0,3 – слабая связь; от 0,3 до 0,5 – умеренная; от 0,5 до 0,7 – значительная; от 0,7 до 0,9 – сильная; более 0,9 – очень сильная [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты исследования показали, что субхроническое пероральное воздействие марганца не привело к изменениям внешних признаков животных и степени их активности. Однако сравнительный анализ содержания макро- и микроэлементов в сыворотке крови выявил, что в опытной группе к концу эксперимента уровень марганца статистически значимо превышал контрольные значения на 70 %; также фиксировалась тенденция к увеличению содержания йода и селена. На фоне этого было установлено, что сывороточный уровень калия был статистически значимо ниже,

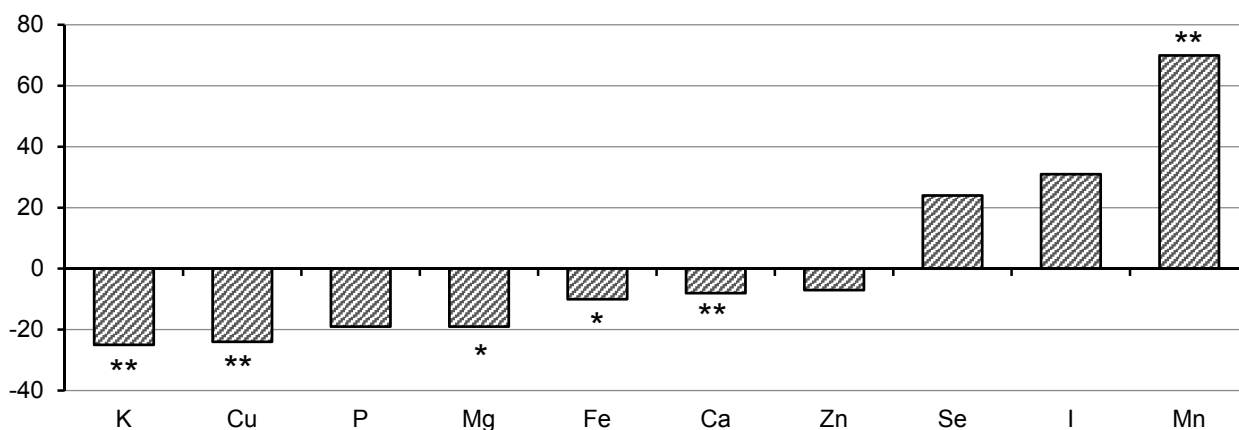


РИС. 1.

Относительные значения содержания химических элементов в сыворотке крови животных опытной группы (%): ось X (0) – уровень элементов в контрольной группе; * – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,05$; ** – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,01$

FIG. 1.

Relative values of the content of chemical elements in the blood serum of animals of the experimental group (%): X axis (0) – level of elements in the control group; * – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.05$; ** – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.01$

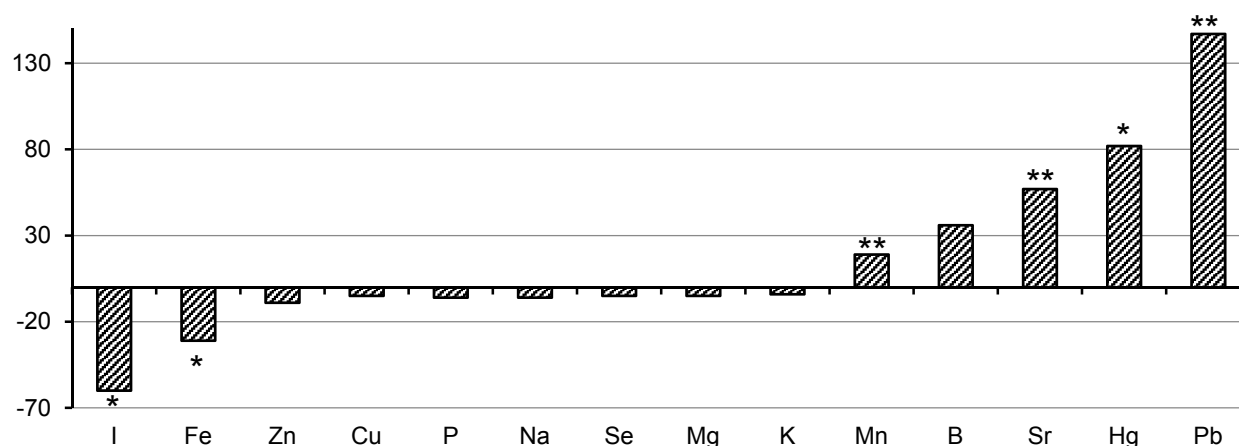


РИС. 2.

Относительные значения содержания химических элементов в коре головного мозга животных опытной группы (%): ось X (0) – уровень элементов в контрольной группе; * – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,05$; ** – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,01$

FIG. 2.

Relative values of the content of chemical elements in the cerebral cortex of animals of the experimental group (%): X axis (0) – level of elements in the control group; * – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.05$; ** – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.01$

чем в контроле, на 25 %, меди – на 24 %, магния – на 19 %, железа – на 10 %, кальция – на 8 %; отмечалась тенденция к снижению фосфора и цинка (рис. 1).

Повышенная чувствительность к токсичным факторам воздействия фило- и онтогенетически более молодых и высоко расположенных отделов головного мозга по сравнению с более древними и ниже расположенными является общей закономерностью для центральной нервной системы, в связи с чем нами также был проанализирован элементный состав коры головного мозга [15] (рис. 2).

Установлено, что в сером веществе животных опытной группы содержание ряда тяжёлых металлов было статистически значимо выше контрольных значений: уровень марганца превышал контроль на 19 %, стронция – на 57 %, ртути – на 82 %, свинца – на 147 %. Напротив, уровни железа и йода были статистически значимо меньше, чем в контроле, – на 31 % и 60 % соответственно.

С точки зрения диагностики особый интерес представляет выявление возможных взаимосвязей между химическими элементами сыворотки крови и коры головного мозга, так как последние не имеют эквивалентных измерений *in vivo*. Анализ корреляционной матрицы показал, что сывороточный уровень магния статистически значимо положительно ассоциировался с магнием коры головного мозга ($r \geq 0,3$), в то время как уровень меди сыворотки крови положительно коррелировал с медью мозга ($r \geq 0,3$).

Известно, что марганец является достаточно активным химическим элементом, в связи с чем в организме он стабилизируется в комплексе с различными биологическими лигандами. По этой причине нами был проведён анализ химических форм данного металла (speciation analysis). Установлено, что марганец сыворотки крови крыс линии Wistar в основном связан с соединениями

с высокой молекулярной массой – такими фракциями, как трансферрин/альбумин (Mn-Tf/Alb), в меньшем количестве – с фракцией α -2-макроглобулина (Mn-A2M); с низкомолекулярными соединениями (Mn-LMM), а также представлен свободной неорганической формой (Mn-free) (рис. 3).

Обнаружено, что основное количество марганца в опытной группе животных было представлено в виде фракции Mn-free (6,6 мкг/л), превышающее контрольные значения в 1,8 раза. Среди органических форм было зафиксировано, что концентрации Mn-LMM и Mn-Tf/Alb были статистически значимо больше контроля – в 4 и 1,9 раза соответственно. На фоне этого отмечалась тенденция к снижению содержания фракции Mn-A2M.

Для наглядности на рисунке 4 представлены результаты анализа процентного распределения Mn по фракциям на фоне его различного содержания в сыворотке крови животных.

Согласно корреляционному анализу, выявлено, что валовое содержание марганца в сыворотке крови статистически значимо положительно ассоциировалось с такими фракциями, как Mn-free ($r = 0,89$), Mn-Tf/Alb ($r = 0,81$) и Mn-LMM ($r = 0,63$); фиксировалась отрицательная корреляционная связь с Mn-A2 ($r = -0,6$) (рис. 5).

Из диаграммы рассеяния видно, что чем выше был уровень общего марганца в сыворотке крови у животных опытной группы, тем выше была концентрация фракций Mn-free, Mn-LMM и Mn-Tf/Alb и тем меньше становилась концентрация фракции Mn-A2. На рисунке также наглядно показано, что повышение общей концентрации марганца в сыворотке крови крыс (выше 12 мкг/л) приводит к перегрузке основных высокомолекулярных носителей и инициирует ещё большее образование низкомолекулярных форм Mn.

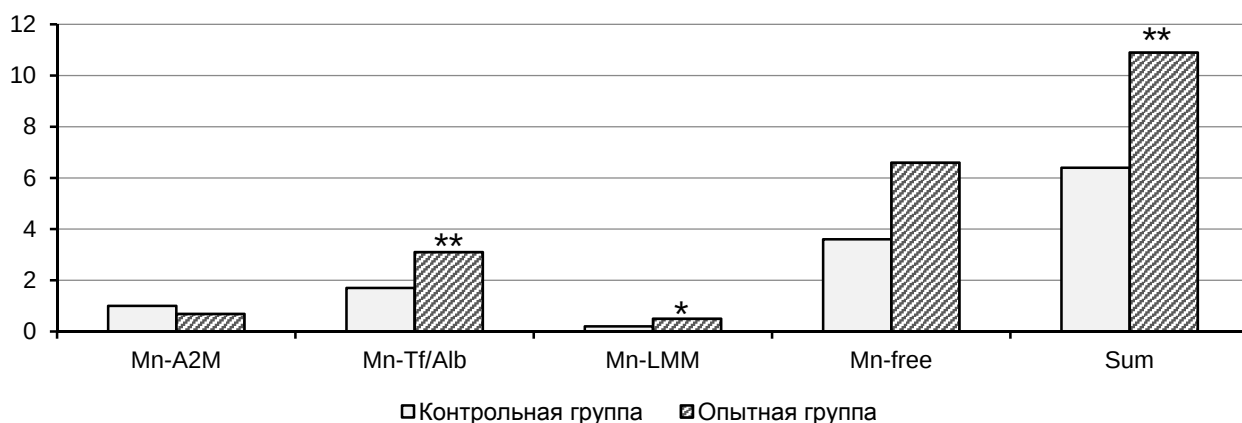


РИС. 3.

Содержание марганцевых фракций в сыворотке крови животных (мкг/л): данные представлены по значениям медиан; * – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,05$; ** – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,01$

FIG. 3.

The content of manganese fractions in the blood serum of animals (μg/l): data are presented based on median values; * – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.05$; ** – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.01$

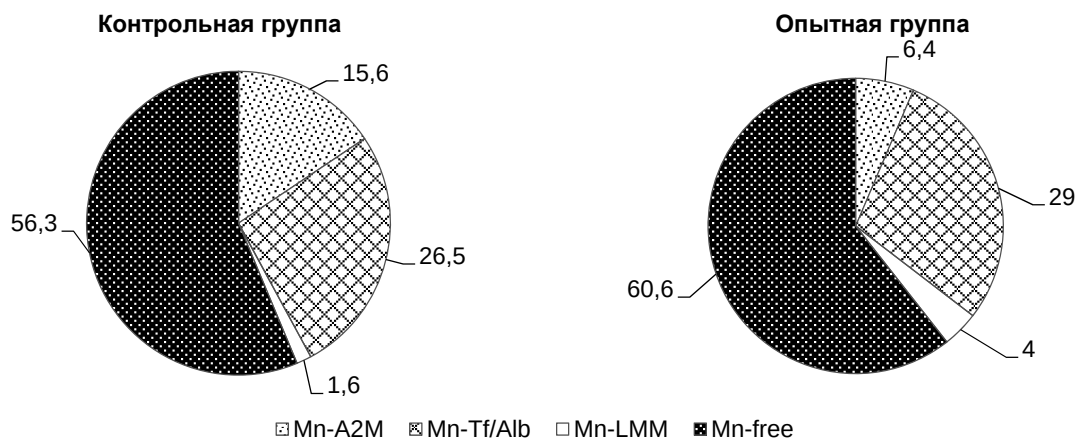


РИС. 4.

Процентное распределение марганца по фракциям (%):

* – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,05$; ** – статистически значимая разница между опытной группой и контролем при $p \leq 0,01$

FIG. 4.

Percentage distribution of manganese by fractions (%): * – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.05$; ** – statistically significant difference between the experimental and the control groups at $p \leq 0.01$

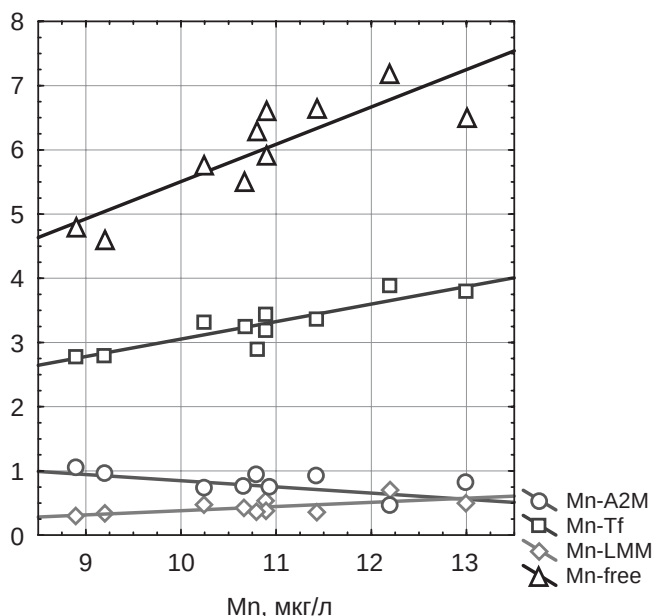


РИС. 5.

Корреляционная взаимосвязь между общей концентрацией марганца и его отдельными фракциями в сыворотке крови животных опытной группы ($n = 10$), мкг/л

FIG. 5.

Correlation between the total concentration of manganese and its individual fractions in the blood serum of animals of the experimental group ($n = 10$), µg/l

ОБСУЖДЕНИЕ

За последнее десятилетие значительно возрос интерес к исследованиям по изучению обмена марганца в организме человека и животных, а также возможных негативных последствий его воздействия. Большое внимание к данной проблеме вызвано целым рядом объек-

тивных причин, среди которых главное место занимает ухудшение экологической обстановки [16].

Проведённое экспериментальное исследование показало, что субхроническое пероральное воздействие марганца способно приводить к нарушению баланса химических элементов в организме животных.

Выявленное в ходе анализа снижение уровней марганца, железа и меди в сыворотке крови обусловлено избыточным поступлением в организм лабораторных животных функционального антагониста этих металлов – марганца. Всасывание данных элементов в желудочно-кишечном тракте осуществляется общими транспортными системами, и, следовательно, пищевой статус марганца способен влиять на кинетику данных химических элементов [17, 18]. Выявленная тенденция к повышению содержания йода, возможно, обусловлена блокирующим действием ионов марганца на поглощение щитовидной железой йода [19]. Хорошо известно, что соединения селена оказывают антиоксидантное действие при отравлении солями многих тяжёлых металлов. Главный селенопротеин крови SeP имеет большое сродство к тяжёлым металлам, благодаря чему способен образовывать комплексы с металлами и транспортировать их [20, 21]. Так, в исследовании китайских учёных было установлено, что воздействие ртути влияет дозозависимым образом на концентрацию селена и распределение селенопротеинов в сыворотке крови [22]. Возможно, это и объясняет выявленную в нашей работе тенденцию к повышению уровня селена.

Полученные результаты наглядно продемонстрировали, что хроническое воздействие марганца изменяет гомеостаз железа в системном кровообращении, снижая его содержание в сыворотке крови, а также в головном мозге, что согласуется с исследованиями зарубежных учёных [23]. С химической точки зрения это обосновывается тем, что марганец и железо расположены рядом друг с другом в периодической таблице, позволяя конкурировать за связывание с транспортными белками [24]. Как правило, в железодефицитных областях головного

мозга происходит усиленное накопление марганца, приводящее к активации окислительного стресса [25]. Вполне вероятно, что марганец-индуцированный окислительный стресс вызывает повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, приводящее к увеличению притока тяжёлых металлов – свинца, ртути и стронция [26].

Развитие методов аналитической химии привело к пониманию того, что общая концентрация химических элементов не может предоставить полную информацию об их метаболизме, биодоступности и возможном токсическом воздействии на живые организмы. Только знание химической формы элемента может предоставить информацию о возможных химических и биохимических процессах и, таким образом, привести к большему пониманию токсичности или эссенциальности элемента [27, 28]. Полученные результаты анализа соединений химических элементов (speciation analysis) наглядно демонстрируют, что длительное воздействие субхронических доз марганца может привести к смещению его металл-лигандных форм в сторону низкомолекулярных соединений, а также неорганической фракции, что может быть связано с перегрузкой других транспортных молекул. Предполагается, что именно Mn-LMM способны преодолевать гематоэнцефалический барьер и накапливаться в головном мозге, вызывая нейротоксический эффект [29]. Перфузионное исследование, проведённое американскими учёными, показало, что более высокий коэффициент притока из крови в мозг характерен для Mn-LMM (выше в 3 раза) по сравнению с комплексами Mn-free и Mn-Tf [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты исследования позволяют заключить, что субхроническое пероральное воздействие марганца приводит к его кумуляции в организме животных и развитию дисбаланса ряда макро- и микроэлементов. Подобные отклонения могут потенцировать развитие функциональных нарушений систем организма. Установлено, что избыточное поступление марганца способствует статистически значимому повышению содержания данного тяжёлого металла в сыворотке крови на фоне статистически значимого снижения уровня кальция, калия, магния, железа и меди. Наряду с этим в коре головного мозга статистически значимо повышается уровень марганца, свинца, ртути и стронция; происходит снижение железа и йода.

Выявленные корреляционные связи между содержанием химических элементов в сыворотке крови и коре головного мозга свидетельствуют о том, что изменение сывороточных уровней магния и меди может служить прогностическим признаком нарушения их гомеостаза в головном мозге.

На фоне повышения валового содержания марганца в сыворотке крови происходит перераспределение данного металла по его металл-лигандным формам. При концентрации марганца в сыворотке крови крыс выше 12 мкг/л происходит смещение уровней марганцевых фракций в сторону низкомолекулярных соединений LMM, что может быть связано с перегрузкой других

транспортных молекул и может являться новым инструментом донозологической диагностики.

Финансирование

Исследования проводились в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (FNWZ-2022-0011).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. *Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология)*. М.: Медицина; 1991. [Avtsyn AP, Zhavoronkov AA, Rish MA, Strochkova LS. *Human microelementoses (etiology, classification, organopathology)*. Moscow: Meditsina; 1991. (In Russ.).]
2. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. *Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных*. СПб.: Наука; 2018. [Oberlis D, Harland B, Skalny A. *Biological role of macro- and microelements in humans and animals*. Saint Petersburg: Nauka; 2018. (In Russ.).]
3. Erikson KM, Aschner M. Manganese: Its role in disease and health. *Met Ions Life Sci*. 2019; 19:books/9783110527872/9783110527872-016/9783110527872-016.xml. doi: 10.1515/9783110527872-016
4. Studer JM, Schweer WP, Gabler NK, Ross JW. Functions of manganese in reproduction. *Anim Reprod Sci*. 2022; 238: 106924. doi: 10.1016/j.anireprosci.2022.106924
5. Li L, Yang X. The essential element manganese, oxidative stress, and metabolic diseases: Links and interactions. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 2018: 7580707. doi: 10.1155/2018/7580707
6. O'Neal SL, Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure: A decade in review. *Curr Environ Health Rep*. 2015; 2(3): 315-328. doi: 10.1007/s40572-015-0056-x
7. Evans GR, Masullo LN. *Manganese toxicity*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
8. Lotz A, Pesch B, Casjens S, Lehnert M, Zschiesche W, Taeger D, et al. Association of exposure to manganese and fine motor skills in welders – Results from the WELDOX II study. *Neurotoxicology*. 2021; 82: 137-145. doi: 10.1016/j.neuro.2020.12.003
9. Mehrifar M, Bahrami E, Sidabadi Pirami H. The effects of occupational exposure to manganese fume on neurobehavioral and neurocognitive functions: An analytical cross-sectional study among welders. *EXCLI Journal*. 2020; 19: 372-386. doi: 10.17179/excli2019-2042
10. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. *Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году»*. М.; 2021. [Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. *State report "On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020"*. Moscow; 2021. (In Russ.).]
11. Martin KV, Edmondson D, Cecil KM, Bezi C, Vance ML, McBride D, et al. Manganese exposure and neurologic out-

comes in adult populations. *Neurol Clin.* 2020; 38(4): 913-936. doi: 10.1016/j.ncl.2020.07.008

12. Радыш И.В., Скальный А.В., Нотова С.В., Маршинская О.В., Казакова Т.В. *Введение в элементологию*. Оренбург: ОГУ; 2017. [Radysh IV, Skalny AV, Notova SV, Marshinskaya OV, Kazakova TV. *Introduction to elementology*. Orenburg: OSU; 2017. (In Russ.).]

13. Тутельян В.А., Самсонов М.А. (ред.). *Справочник по диетологии*. М.: Медицина; 2002. [Tutelyan VA, Samsonov MA (eds.). *Handbook of dietetics*. Moscow: Meditsina; 2002. (In Russ.).]

14. Зайцев В.М. *Прикладная медицинская статистика: учебно-практическое пособие*. М.: Фолиант; 2006. [Zaitsev VM. *Applied medical statistics: workbook*. Moscow: Foliant; 2006. (In Russ.).]

15. Аврущенко М.Ш., Мороз В.В., Острова И.В. Значение нейроморфологических исследований в изучении постреанимационной патологии организма: развитие взглядов академика В.А. Неговского. *Общая реаниматология*. 2009; 5(1): 14-20. [Avrushchenko MSh, Moroz VV, Ostrova IV. Significance of neuromorphological studies in the investigation of postresuscitative pathology: Development of academician V.A. Negovsky's views. *General Reanimatology*. 2009; 5(1): 14. (In Russ.).] doi: 10.15360/1813-9779-2009-1-14

16. Черногаева Г.М., Журавлева Л.Р., Малеванов Ю.А., Пешков Ю.В., Котлякова М.Г., Красильникова Т.А. *Обзор состояния и загрязнения окружающей среды в Российской Федерации за 2021 год*. М.: Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет); 2022. [Chernogaeva GM, Zhuravleva LR, Malevanov YuA, Peshkov YuV, Kotlyakova MG, Krasilnikova TA. *Review of the state and pollution of the environment in the Russian Federation for 2021*. Moscow: Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring (Roshydromet); 2022. (In Russ.).]

17. Mercadante CJ, Herrera C, Pettiglio MA, Foster ML, Johnson LC, Dorman DC, et al. The effect of high dose oral manganese exposure on copper, iron and zinc levels in rats. *Biometals*. 2016; 29(3): 417-422. doi: 10.1007/s10534-016-9924-6

18. Liu Q, Barker S, Knutson MD. Iron and manganese transport in mammalian systems. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2021; 1868(1): 118890. doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118890

19. Buthieu AM, Autissier N. The effect of Mn²⁺ on thyroid iodine metabolism in rats. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1977; 171(5): 1024-1028.

20. Русецкая Н.Ю., Бородулин В.Б. Биологическая активность селеноорганических соединений при интоксикации солями тяжелых металлов. *Биомедицинская химия*. 2015; 61(4): 449-461. [Rusetskaya NY, Borodulin VB. Biological activity of selenorganic com-

pounds at heavy metal salts intoxication. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2015; 61(4): 449-461. (In Russ.).] doi: 10.18097/PBMC20156104449

21. Zwolak I. The role of selenium in arsenic and cadmium toxicity: An updated review of scientific literature. *Biol Trace Elem Res.* 2020; 193(1): 44-63. doi: 10.1007/s12011-019-01691-w

22. Tinggi U, Perkins AV. Selenium status: Its interactions with dietary mercury exposure and implications in human health. *Nutrients*. 2022; 14(24): 5308. doi: 10.3390/nu14245308

23. Wang X, Li GJ, Zheng W. Efflux of iron from the cerebrospinal fluid to the blood at the blood-CSF barrier: Effect of manganese exposure. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008; 233(12): 1561-1571. doi: 10.3181/0803-RM-104

24. Liu Q, Barker S, Knutson MD. Iron and manganese transport in mammalian systems. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2021; 1868(1): 118890. doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118890

25. Peres TV, Schettinger MR, Chen P, Carvalho F, Avila DS, Bowman AB, et al. Manganese-induced neurotoxicity: A review of its behavioral consequences and neuroprotective strategies. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2016; 17(1): 57. doi: 10.1186/s40360-016-0099-0

26. Sharma A, Feng L, Muresanu DF, Sahib S, Tian ZR, Lafuente JV, et al. Manganese nanoparticles induce blood-brain barrier disruption, cerebral blood flow reduction, edema formation and brain pathology associated with cognitive and motor dysfunctions. *Prog Brain Res.* 2021; 265: 385-406. doi: 10.1016/bs.pbr.2021.06.015

27. Нотова С.В., Казакова Т.В., Маршинская О.В. Изучение химических форм меди и марганца в живом организме (обзор). *Животноводство и кормопроизводство*. 2020; 103(1): 47-64. [Notova SV, Kazakova TV, Marshinskaya OV. Study of chemical forms of copper and manganese in a living body (review). *Herald of Beef Cattle Breeding*. 2020; 103(1): 47-64. (In Russ.).] doi: 10.33284/2658-3135-103-1-47

28. Notova SV, Lebedev SV, Marshinskaya OV, Kazakova TV, Ajsuvakova OP. Speciation analysis of manganese against the background of its different content in the blood serum of dairy cows. *Biometals*. 2023; 36(1): 35-48. doi: 10.1007/s10534-022-00456-8

29. Michalke B. Review about the manganese speciation project related to neurodegeneration: An analytical chemistry approach to increase the knowledge about manganese related parkinsonian symptoms. *J Trace Elem Med Biol.* 2016; 37: 50-61. doi: 10.1016/j.jtemb.2016.03.002

30. Yokel RA, Crossgrove JS. Manganese toxicokinetics at the blood-brain barrier. *Res Rep Health Eff Inst.* 2004; 1(119): 59-73.

Сведения об авторах

Казакова Татьяна Витальевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований и металломики в животноводстве, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», e-mail: vaisvais13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3717-4533>

Маршинская Ольга Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований и металломики в животноводстве, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», e-mail: m.olja2013@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5611-5128>

Нотова Светлана Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, и. о. заведующего лаборатории молекулярно-генетических исследований и металломики в животноводстве, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», e-mail: snotova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6378-4522>

Information about the authors

Tatiana V. Kazakova – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Genetic Research and Metallomics in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, e-mail: vaisvais13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3717-4533>

Olga V. Marshinskaya – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Genetic Research and Metallomics in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, e-mail: m.olja2013@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5611-5128>

Svetlana V. Notova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Acting Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research and Metallomics in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, e-mail: snotova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6378-4522>

ВОССТАНОВЛЕНИЕ НАРУШЕННОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ АДАПТАЦИОННОЙ КАРДИОПРОТЕКЦИИ У КРЫС ПУТЁМ АКТИВАЦИИ PPAR α

Нарыжная Н.В.,
Деркачев И.А.,
Курбатов Б.К.,
Сиротина М.А.,
Килин М.,
Маслов Л.Н.

Научно-исследовательский институт
кардиологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр
Российской академии наук
(634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Нарыжная Наталья Владимировна,
e-mail: natalynar@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Известно, что протекторное действие адаптационных и кондиционирующих воздействий ослаблено у животных с метаболическим синдромом (МетС). МетС может лежать в основе неэффективности кардиопротекции в клинических условиях.

Цель исследования. Выявить взаимосвязь между нарушением углеводного и липидного обмена и снижением эффективности инфаркт-лимитирующего влияния умеренной хронической нормобарической гипоксии (ХНГ); проверить возможность коррекции сниженной кардиопротекции путём нормализации углеводного и липидного обменов.

Методы. В исследование включено 64 крысы линии Wistar. МетС вызывали кормлением животных высокоуглеводной высокожировой диетой в течение 84 дней. ХНГ проводили в течение 21 дня в режиме: 12 % O₂; 0,3 % CO₂. В питьевую воду крысам с МетС добавляли метформин в дозе 200 мг/кг/сут. или агонист PPAR α WY14643 в дозе 1 мг/кг/сут. в течение адаптации к гипоксии. Проводили 45-минутную коронароокклюзию и 120-минутную реперфузию, определяли размер инфаркта. В сыворотке крови исследовали показатели липидного и углеводного обменов, лептин, адипонектин.

Результаты. Инфаркт-лимитирующий эффект ХНГ оказался ослаблен у животных с МетС. Размер инфаркта показал прямую корреляционную взаимосвязь со снижением толерантности к глюкозе и содержанием триглицеридов в сыворотке крови. Применение терапии метформином не привело к восстановлению инфаркт-лимитирующего эффекта ХНГ, в то время как нормализация липидного обмена при использовании агониста PPAR α WY14643 скорректировала нарушение адаптационной кардиопротекции при метаболическом синдроме у крыс.

Заключение. Отсутствие кардиопротекции при ХНГ у крыс с МетС связано с нарушением углеводного и липидного обменов. Агонист PPAR α восстанавливает нарушенный липидный обмен и адаптационную кардиопротекцию.

Ключевые слова: миокард, инфаркт, адаптация к гипоксии, метаболический синдром, метформин, PPAR α

Статья поступила: 16.05.2023
Статья принята: 25.01.2024
Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Нарыжная Н.В., Деркачев И.А., Курбатов Б.К., Сиротина М.А., Килин М., Маслов Л.Н. Восстановление нарушенной метаболическим синдромом адаптационной кардиопротекции у крыс путём активации PPAR α . *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 222-232. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.22

RESTORATION OF ADAPTIVE CARDIOPROTECTION IMPAIRED BY METABOLIC SYNDROME IN RATS BY THE PPAR α ACTIVATION

Naryzhnaya N.V.,
Derkachev I.A.,
Kurbatov B.K.,
Sirotnina M.A.,
Kilin M.,
Maslov L.N.

Cardiology Research Institute,
Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences
(Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia V. Naryzhnaya,
e-mail: natalynar@yandex.ru

ABSTRACT

Background. It is known that the protective effect of adaptation and conditioning influence is weakened in animals with metabolic syndrome. Metabolic syndrome may be the basis for the failure of cardioprotection in clinical settings

The aim of the study. To identify the relationship between disorder in carbohydrate and lipid metabolism and a decrease in the effectiveness of the infarct-limiting effect of moderate chronic normobaric hypoxia; to check the possibility of correcting reduced cardioprotection by normalizing carbohydrate and lipid metabolism.

Methods. The study included 64 Wistar rats. Metabolic syndrome was induced by feeding animals a high-carbohydrate, high-fat diet for 84 days. Chronic normobaric hypoxia was carried out for 21 days in the following mode: 12 % O₂:0.3 % CO₂. Metformin at a dose of 200 mg/kg/day or PPAR α agonist WY14643 at a dose of 1 mg/kg/day were added to the drinking water of rats with metabolic syndrome during adaptation period to hypoxia. A 45-minute coronary occlusion and 120-minute reperfusion were performed, and the infarct size was determined. Indicators of lipid and carbohydrate metabolism, leptin, and adiponectin were studied in the blood serum.

Results. The infarct-limiting effect of chronic normobaric hypoxia was weakened in animals with metabolic syndrome. Infarct size showed a direct correlation with decreased glucose tolerance and serum triglyceride levels. Using metformin therapy did not lead to the restoration of the infarct-limiting effect of chronic normobaric hypoxia, while the normalization of lipid metabolism with the use of the PPAR α agonist WY14643 corrected the impairment of adaptive cardioprotection in rats with metabolic syndrome.

Conclusion. The lack of cardioprotection at chronic normobaric hypoxia in rats with metabolic syndrome is associated with impaired carbohydrate and lipid metabolism. The PPAR α agonist restores impaired lipid metabolism and adaptive cardioprotection.

Key words: myocardium, infarction, adaptation to hypoxia, metabolic syndrome, metformin, PPAR α

Received: 16.05.2023
Accepted: 25.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Naryzhnaya N.V., Derkachev I.A., Kurbatov B.K., Sirotnina M.A., Kilin M., Maslov L.N. Restoration of adaptive cardioprotection impaired by metabolic syndrome in rats by the PPAR α activation. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 222-232. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.22

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы разработан ряд стратегий для защиты миокарда при ишемическом реперфузионном повреждении, таких как дистантное посткондиционирование, адаптация к хронической умеренной гипоксии [1, 2]. Вместе с тем трансляция результатов экспериментальных исследований в клинику затруднена в связи с наличием у большей части пациентов метаболических нарушений [2]. Результаты исследований, проведенных в последние годы, показали, что метаболический синдром (МетС) – симптомокомплекс, объединяющий ряд клинико-лабораторных показателей пациента: ожирение, артериальную гипертензию, дислипидемию, нарушения углеводного обмена, – может лежать в основе неэффективности адаптационных и кондиционирующих воздействий в клинических условиях [2]. Экспериментальные исследования показали, что длительная диета с высоким содержанием фруктозы приводит к значимому снижению, но не полному предотвращению положительного инотропного эффекта хронической прерывистой гипоксии на модели ишемии-реперфузии изолированного сердца [3]. Инфаркт-лимитирующий эффект хронической нормобарической гипоксии (ХНГ) снижен у животных с диета-индуцированным метаболическим синдромом [4]. При этом выявлено, что обнаруженное снижение кардиопротекции сопровождается нарушением углеводного и липидного обмена [4]. Можно предполагать, что коррекция нарушений углеводного или липидного обмена приводит к восстановлению утраченной в результате метаболического синдрома кардиопротекции ХНГ. Проверка этой гипотезы явилась целью настоящего исследования.

МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 64 самках крыс линии Wistar. Исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 201 от 30.06.2020) и выполнено в соответствии с положением Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

Животные были произвольно разделены на шесть групп; исходные массы крыс всех групп были равны и составляли 203 ± 5 г. Крысы 1-й группы ($n = 12$) содержались на стандартной диете для лабораторных животных со свободным доступом к питьевой воде.

Крысы 2-й группы адаптировали к ХНГ в течение 21 дня в камере с непрерывной подачей газовой смеси, состоящей из 12 % O_2 , 0,3 % CO_2 , 87,7 N_2 , при нормальном атмосферном давлении [5]. Газовую среду контролировали датчиками TCO₂-IR и OLC 20 (Oldham France S.A., Франция) и аппарата «Био-Нова-204G4R1» (НТО «Био-Нова», Россия) через блок управления MX 32 (Oldham France S.A., Франция). Воздействие гипоксии прекращали за 24 ч до начала эксперимента.

Крысы 3-й группы ($n = 12$; индуцированный диетой метаболический синдром, МетС) содержали в течение 84 дней на диете с высоким содержанием углево-

дов и жиров (высокоуглеводная высокожировая диета (ВУВЖД); питьевая вода была заменена на 20%-й раствор фруктозы. Состав ВУВЖД: белки – 16 %, жиры – 21 %, углеводы – 46 % (в том числе 17 % – фруктоза), холестерин – 0,125 %, холиевая кислота – 0,5 % [6]. После завершения ВУВЖД животных выдерживали в течение 7 дней на стандартной диете и обычной питьевой воде для исключения завышенных показателей артериального давления (АД) из-за осмотического влияния потребления фруктозы.

Крысы 4-й группы ($n = 12$) содержали в течение 70 дней на ВУВЖД, после чего помещали в гипоксическую камеру для моделирования ХНГ и продолжали ВУВЖД в течение 2 недель адаптации к ХНГ; последнюю неделю адаптации к ХНГ крысы 4-й группы содержали на стандартной диете и питьевой воде без добавок.

Животные 5-й группы ($n = 8$) так же, как и крысы 4-й группы, содержались на ВУВЖД, затем подвергались ХНГ и получали в течение всего периода адаптации к гипоксии активатор AMPK метформин в питьевой форме в дозе 200 мг/кг/сут.

Животные 6-й группы ($n = 9$) получали при этих же условиях в питьевой форме агонист PPAR α WY14643 в дозе 1 мг/кг/сут.

После окончания диеты и/или адаптации к гипоксии за 1 сутки до моделирования коронароокклюзии всем животным измеряли артериальное давление на хвосте неинвазивным методом объёмной плетизмографии прибором MP35 с приставкой для измерения давления NIBP200A (Biopac System Inc., США) и проводили глюкозотолерантный тест (ГТТ) стандартным методом, вычисляли площадь под кривой (AUC, area under curve). Об инфаркт-лимитирующем действии адаптации к ХНГ судили по размеру инфаркта, формирующегося при 45-минутной коронароокклюзии и 120-минутной реперфузии в эксперименте *in vivo*. Коронароокклюзию проводили в фазу диэструса, которую верифицировали микроскопией влажной слизи. Для выполнения коронароокклюзии применяли наркоз α -хлоралозой (80 мг/кг) и искусственную вентиляцию лёгких аппаратом SAR-830/P (CWE, Inc., США). Перевязку левой коронарной артерии проводили на 2 мм ниже выхода из аорты. После 45 мин ишемии лигатуру ослабляли и верифицировали наступление реперфузии по гиперемии области ишемии. Эксперимент заканчивали, не выводя животных из наркоза забором крови из наружной сонной артерии. Миокард извлекали, промывали через аорту физиологическим раствором. Лигатуру, ранее наложенную на область коронарной артерии, вновь затягивали, и миокард окрашивали через аорту 5%-м раствором перманганата калия для выявления зоны риска – области миокарда, подвергшегося ишемии. Выполняли поперечные срезы левого желудочка толщиной 1 мм, которые окрашивали 1%-м раствором 2,3,5-трифенилтетразолия в течение 30 мин при 37 °C, затем фиксировали в течение 1 суток в 10%-м растворе нейтрального формалина и сканировали (HP Scanjet G2710; HP Inc., США). Зона некроза ткани миокарда (зона инфаркта) на срезах выявлялась в виде неокрашенных 2,3,5-трифенилтетразолием участков. Размер зоны некроза и зоны риска определяли планиметрически с помощью программы Ellipse 2.02 (ViDiTo, Чехия).

Образцы крови центрифугировали при 3000 об/мин, сыворотку крови отбирали и хранили при -70°C . В сыворотке крови ферментативным колориметрическим методом наборами В-8054, В-8322 и В-8069 (Вектор-Бест, Новосибирск, Россия) определяли глюкозу, триацилглицериды, холестерин. Содержание лептина, адипонектина, кортикостерона, инсулина в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом наборами SEA084Ra Leptin, SEA605Ra Adiponectin, CEA448Ra Insulin (Cloud-Clone, Китай); RE52211 Corticosterone (Human, Rat, Mouse) (IBL International GmbH, Германия). Пробы измеряли с помощью микропланшетного ридера Infinite 200 PRO (Tecan GmbH, Австрия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США). Полученные данные прошли проверку на согласие распределения с нормальным законом с помощью критерия Шапиро – Уилка, показали распределение, удовлетворяющее критерию нормальности, и представлены в виде

среднего $\pm$ стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). Проверку на гомогенность дисперсий производили с использованием критерия Левене. Числовые значения исследуемых параметров в группах были сопоставимы по дисперсии, поэтому при их сравнении использовали two-way ANOVA с последующим применением апостериорного критерия Фишера. Корреляционные взаимосвязи между параметрами исследовали с применением коэффициента Спирмена. Пороговое значение достигнутого уровня значимости p было принято равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Адаптация крыс к хронической нормобарической гипоксии не повлияла на массу крыс и массу органов за исключением возрастания массы правого желудочка сердца, характерного для состояния хронической гипоксии (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1

ИЗМЕНЕНИЯ МАССЫ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К ХРОНИЧЕСКОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

TABLE 1

CHANGES IN THE MASS OF ORGANS OF RATS DURING ADAPTATION TO CHRONIC NORMOBARIC HYPOXIA AND AT METABOLIC SYNDROME

Параметры	Контроль ($n = 12$)	ХНГ ($n = 11$)	МетС ($n = 12$)	МетС + ХНГ ($n = 12$)	МетС + ХНГ + метформин ($n = 8$)	МетС + ХНГ + WY14643 ($n = 9$)
	1	2	3	4	5	6
Масса крысы начальная, г	$204,21 \pm 1,57$	$201,20 \pm 1,98$	$200,00 \pm 2,83$	$208,54 \pm 1,86$	$212,00 \pm 2,97$	$205,82 \pm 1,86$
Масса крысы конечная, г	$286,37 \pm 4,71$	$277,92 \pm 6,62$	$298,67 \pm 6,55$ $p_1 = 0,023$	$279,23 \pm 6,98$ $p_3 = 0,033$	$284,88 \pm 4,89$ $p_3 < 0,001$	$273,56 \pm 3,25$ $p_3 < 0,001$
Сердце, г	$1,08 \pm 0,02$	$1,09 \pm 0,04$	$1,27 \pm 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,001$	$1,12 \pm 0,02$ $p_3 = 0,005$	$1,19 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,01$
Масса левого желудочка, г	$0,859 \pm 0,016$	$0,797 \pm 0,024$	$0,980 \pm 0,036$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,818 \pm 0,014$ $p_3 < 0,001$	$0,850 \pm 0,01$ $p_3 < 0,001$	$0,840 \pm 0,014$ $p_3 < 0,001$
Масса правого желудочка, г	$0,221 \pm 0,009$	$0,294 \pm 0,023$ $p_1 = 0,002$	$0,291 \pm 0,021$ $p_1 = 0,002$	$0,304 \pm 0,013$ $p_1 < 0,001$	$0,34 \pm 0,02$ $p_1 < 0,001$	$0,304 \pm 0,013$ $p_1 < 0,001$
Печень, г	$10,63 \pm 0,27$	$10,69 \pm 0,32$	$13,12 \pm 0,45$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$11,92 \pm 0,41$ $p_1 = 0,012$ $p_2 = 0,030$ $p_3 = 0,027$	$11,67 \pm 0,49$ $p_1 = 0,01$ $p_2 = 0,009$ $p_3 = 0,047$	$11,38 \pm 0,33$ $p_1 = 0,01$ $p_2 = 0,005$ $p_3 = 0,029$
Почки, г	$1,83 \pm 0,05$	$1,85 \pm 0,05$	$2,04 \pm 0,05$ $p_1 = 0,002$ $p_2 = 0,01$	$1,83 \pm 0,05$ $p_3 = 0,005$	$1,96 \pm 0,04$	$1,89 \pm 0,07$
Брюшной жир, г	$11,32 \pm 0,56$	$11,52 \pm 0,94$	$15,56 \pm 1,24$ $p_1 = 0,002$ $p_2 = 0,006$	$13,97 \pm 1,17$ $p_1 = 0,043$ $p_2 = 0,088$ $p_3 = 0,266$	$14,74 \pm 2,86$ $p_1 < 0,001$	$14,25 \pm 2,15$ $p_1 = 0,01$
Селезёнка, г	$0,67 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,02$	$0,64 \pm 0,03$	$0,69 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,02$
Надпочечники, мг	42 ± 3	37 ± 2	41 ± 1	37 ± 1	40 ± 1	37 ± 1

Примечание. n – количество животных в группе; p – статистическая значимость различий по отношению к соответствующей группе (two way ANOVA, апостериорный тест Фишера).

Содержание крыс на высокоуглеводной высокожировой диете (метаболический синдром) приводило к увеличению массы крыс, массы брюшного жира относительно адекватного по возрасту контроля, что свидетельствует о формировании ожирения (табл. 1).

Кроме того, наблюдали увеличение массы миокарда на 20 %, печени на 30 % и почек на 10 % (табл. 1). Прирост массы сердца в группе МетС происходил за счёт роста масс как левого, так и правого желудочка. Статистически значимых изменений массы селезёнки и надпочечников не происходило.

У крыс с МетС моделирование хронической гипоксии приводило к снижению массы тела, массы сердца, печени и почек, но не массы брюшного жира до уровня контрольных крыс (табл. 1). Снижения массы правого желудочка миокарда при моделировании хронической гипоксии у крыс с МетС не происходило, что свидетельствует о сохранении его гипертрофии, соответствующей адаптации к хронической гипоксии [1]. Применение метформина или WY14643 не привело к статистически значимым изменениям масс органов у крыс, адаптированных к ХНГ, на фоне МетС (табл. 1).

Формирование метаболического синдрома характеризовалось повышением в крови содержания глюкозы, инсулина, снижением толерантности к глюкозе (возрастание площади под кривой динамики глюкозы в глюкозотолерантном тесте), инсулинорезистентностью (повышение HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin

Resistance)), развитием гиперхолестеринемии, повышением содержания триглицеридов в крови крыс в 1,5 раза (табл. 2). Адаптация к ХНГ на фоне МетС предупреждала увеличение содержания триглицеридов, холестерина, глюкозы, формирование толерантности к глюкозе и инсулину (HOMA-IR). Вместе с тем концентрация инсулина в сыворотке крови крыс при сочетании моделирования ХНГ и МетС осталась на высоком уровне (табл. 2).

Метаболический синдром приводил к повышению содержания лептина и адипонектина в сыворотке крови относительно контрольной группы в равной степени в группах не адаптированных и адаптированных к ХНГ крыс (табл. 2).

Метаболический синдром сопровождался повышением уровня кортикостерона в сыворотке крови – с $394 \pm 6,1$ до $475 \pm 3,7$ ($p_1 < 0,001$), что свидетельствуют об умеренном стрессе (данные не представлены в таблице). Адаптация к хронической нормобарической гипоксии не увеличивала подъём кортикостерона при МетС. Следует отметить, что отсутствие изменений массы органов-мишеней (надпочечников, селезёнки; табл. 1) свидетельствует о небольшой выраженности стресс-реакции.

Содержание крыс на ВУВЖД приводило к повышению систолического (САД), но не диастолического артериального давления (ДАД) (табл. 3). При этом адаптация крыс с метаболическим синдромом к гипоксии вызывала рост ДАД, в то время как САД в этой группе не имело статистически значимых отличий от крыс группы контроля (табл. 3).

ТАБЛИЦА 2

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФОРМИРОВАНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ МЕТФОРМИНА И WY14643

TABLE 2

BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE FORMATION OF METABOLIC SYNDROME IN RATS UNDER THE INFLUENCE OF METFORMIN AND WY14643

Параметры	Контроль (n = 12)	ХНГ (n = 11)	МетС (n = 12)	МетС + ХНГ (n = 12)	МетС + ХНГ + метформин (n = 8)	МетС + ХНГ + WY14643 (n = 9)
	1	2	3	4	5	6
Глюкоза, мМ/л	4,55 ± 0,34	5,02 ± 0,46 $p_1 > 0,05$	5,32 ± 0,30 $p_1 = 0,05$	4,36 ± 0,39 $p_2 > 0,05$	4,6 ± 0,29 $p_4 > 0,05$	4,95 ± 0,15 $p_1 = 0,05$
Глюкозо-толерантный тест (AUC)	709 ± 13	723 ± 26 $p_1 > 0,05$	761 ± 12 $p_1 = 0,012$	725 ± 13 $p_2 > 0,05$	725 ± 25 $p_4 > 0,05$	759 ± 22 $p_1 = 0,012$
Инсулин, пМ/л	8,02 ± 0,57	9,78 ± 0,71 $p_1 > 0,05$	10,37 ± 0,45 $p_1 = 0,05$	11,80 ± 0,98 $p_1 = 0,002$	10,58 ± 1,26 $p_4 > 0,05$	10,42 ± 0,22 $p_1 < 0,05$
НОМА-IR	1,78 ± 0,14	2,14 ± 0,14 $p_1 > 0,05$	2,48 ± 0,13 $p_1 = 0,03$	2,25 ± 0,26 $p_2 > 0,05$	2,20 ± 0,30 $p_4 > 0,05$	2,32 ± 0,11 $p_1 = 0,04$
ТГ, мМ/л	1,01 ± 0,15	1,25 ± 0,16 $p_1 > 0,05$	1,57 ± 0,29 $p_1 = 0,036$	1,31 ± 0,15 $p_2 > 0,05$	1,30 ± 0,16 $p_4 > 0,05$	1,0 ± 0,09 $p_3 = 0,036$
Холестерин, мМ/л	4,30 ± 0,44	5,34 ± 0,69 $p_1 > 0,05$	6,71 ± 1,24 $p_1 = 0,034$	5,62 ± 0,68 $p_2 > 0,05$	5,56 ± 0,68 $p_4 > 0,05$	4,51 ± 0,94 $p_3 = 0,034$
Лептин, нг/мл	1,77 ± 0,26	1,34 ± 0,11 $p_1 > 0,05$	5,37 ± 0,74 $p_1 < 0,001$	5,89 ± 0,55 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	2,50 ± 0,41 $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	1,25 ± 0,14 $p_3 < 0,001$
Адипонектин, мкг/мл	1,77 ± 0,26	1,34 ± 0,11 $p_1 > 0,05$	5,37 ± 0,74 $p_1 < 0,001$	5,89 ± 0,55 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	6,96 ± 0,84 $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,009$	8,85 ± 1,17 $p_3 < 0,001$

Примечание. ТГ – триглицериды; n – количество животных в группе; p – статистическая значимость различий по отношению к соответствующей группе (two way ANOVA, апостериорный тест Фишера).

Коронароокклюзия во всех группах животных приводила к формированию зоны гипоперфузии миокарда (зона риска), размер которой составлял 30–33 % от массы левого желудочка (рис. 1б; табл. 4). Окраска 2,3,5-трифенилтетразолием выявила, что размер некроза составил 46,92 % от массы зоны гипоперфузии. В группе МетС наблюдали статистически значимую гипертрофию миокарда (табл. 1);

масса области гипоперфузии (зоны риска) миокарда в этой группе в абсолютном исчислении была статистически значимо больше, чем у крыс без метаболических нарушений. Однако поскольку размер инфаркта рассчитывали как отношение масс зоны некроза и зоны риска (ЗН/ЗР, %), размер инфаркта у крыс с МетС статистически значимо не отличался от данного показателя в контрольной группе (табл. 4).

ТАБЛИЦА 3
АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ У КРЫС
С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Параметры	Контроль (n = 19)	ХНГ (n = 14)	МетС (n = 15)	МетС + ХНГ (n = 15)
	1	2	3	4
САД, мм рт. ст.	129,2 ± 2,5	129,3 ± 1,9	142,0 ± 2,8 $p_1 = 0,014$ $p_2 = 0,008$	137,5 ± 1,6 $p_{1,2,3} \text{ ns}$
ДАД, мм рт. ст.	96,1 ± 2,5	96,5 ± 2,6	98,8 ± 2,2	104,7 ± 1,5 $p_1 = 0,039$

Примечание. n – количество животных в группе; p – статистическая значимость различий по отношению к соответствующей группе (two way ANOVA, апостериорный тест Фишера); ns – статистически не значимо.

TABLE 3
BLOOD PRESSURE IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME

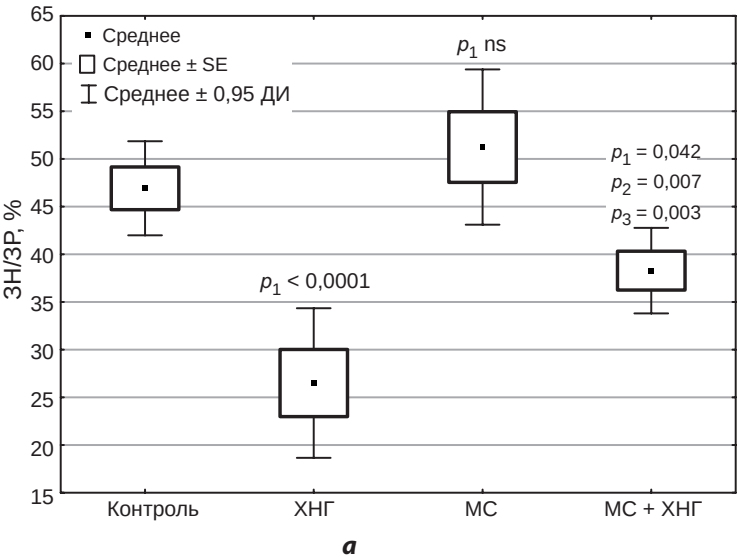


РИС. 1.
Инфаркт-лимитирующий эффект ХНГ у крыс с метаболическим синдромом и без него: а – средние значения размера инфаркта в контрольной группе, при МетС, ХНГ и при сочетании ХНГ и МетС; б – репрезентативные изображения инфаркта миокарда в экспериментальных группах; p_1 – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой; p_2 – статистическая значимость различий по сравнению с группой ХНГ; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с группой МетС (two-way ANOVA, апостериорный критерий Фишера); ns – статистически не значимо



FIG. 1.
Infarct-limiting effect of chronic normobaric hypoxia in rats with and without metabolic syndrome: а – mean values of infarct size in the control group, in group with metabolic syndrome, in group with chronic normobaric hypoxia and in group with a combination of chronic normobaric hypoxia and metabolic syndrome; б – representative images of myocardial infarction in the experimental groups; p_1 – statistical significance of differences compared to the control group; p_2 – statistical significance of differences compared to the group with chronic normobaric hypoxia; p_3 – statistical significance of differences compared to the group with metabolic syndrome (two-way ANOVA, Fisher's posterior test); ns – not significant

Размер инфаркта (ЗН/ЗР, %) у крыс, адаптированных к ХНГ, оказался на 43 % меньше, чем в контрольной группе (рис. 1а, б; табл. 4). Полученные данные свидетельствуют о выраженном инфаркт-лимитирующем действии ХНГ. Этот эффект был снижен у животных с МетС: снижение размера инфаркта относительно группы крыс с МетС составило 25 % (рис. 1а, б; табл. 4). Следовательно, мы можем говорить об ослаблении инфаркт-лимитирующего действия ХНГ у крыс с индуцированным диетой метаболическим синдромом.

Корреляционный анализ (*r*-критерий Спирмена) показал слабые, но статистически значимые прямые взаимосвязи между размером инфаркта и показателем толерантности к глюкозе (AUC), а также между размером инфаркта и содержанием триглицеридов в сыворотке крови (табл. 5).

Терапия метформином (добавление его в питьевую воду в конечной дозе 200 мг/кг/сут. в течение 21 дня

адаптации крыс к ХНГ) не повлияла на содержание глюкозы, инсулина, триглицеридов, холестерина, показатели толерантности к глюкозе и инсулину у крыс с МетС при адаптации к ХНГ (табл. 2). Вместе с тем под влиянием метформина происходило снижение содержания лептина и увеличение содержания адипонектина относительно группы крыс с метаболическим синдромом, в том числе относительно группы крыс, адаптированных к ХНГ при МетС (табл. 2).

Применение метформина не изменило массу левого желудочка и размер зоны риска у крыс с метаболическим синдромом и адаптацией к ХНГ; размер инфаркта под влиянием метформина не изменялся у крыс с сочетанным моделированием метаболического синдрома и ХНГ (табл. 4).

Применение активатора PPAR α WY14643 не изменило показатели углеводного метаболизма у крыс, адапти-

ТАБЛИЦА 4
ВЛИЯНИЕ МЕТФОРМИНА И WY14643 НА РАЗМЕР ИНФАРКТА У КРЫС ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТС И ХНГ

Группы	Масса левого желудочка, мг	Зона риска, мг	Зона некроза, мг	ЗН/ЗР, %
1. Контроль (<i>n</i> = 12)	859 ± 16	257,25 ± 20,53	120,17 ± 10,34	46,92 ± 2,24
2. ХНГ (<i>n</i> = 11)	797 ± 24	268,89 ± 18,11	73,39 ± 12,29 <i>p</i> ₁ = 0,023	26,50 ± 3,52 <i>p</i> ₁ < 0,001
3. МетС (<i>n</i> = 12)	980 ± 36 <i>p</i> ₁ = 0,0018	329,42 ± 25,51 <i>p</i> ₁ = 0,019	170,96 ± 20,04 <i>p</i> ₁ = 0,012	51,25 ± 3,70 <i>p</i> ₁ ns
4. МетС + ХНГ (<i>n</i> = 12)	818 ± 14	241,34 ± 19,07 <i>p</i> ₃ = 0,004	93,73 ± 9,92 <i>p</i> ₃ < 0,001	38,29 ± 2,04 <i>p</i> ₁ = 0,042 <i>p</i> ₂ = 0,007 <i>p</i> ₃ = 0,003
5. МетС + ХНГ + метформин (<i>n</i> = 8)	850 ± 10	250,0 ± 22,38 <i>p</i> ₃ = 0,018	103,1 ± 18,99 <i>p</i> ₁ ns <i>p</i> ₂ ns <i>p</i> ₃ = 0,0034 <i>p</i> ₄ ns	39,2 ± 4,75 <i>p</i> ₁ ns <i>p</i> ₂ = 0,013 <i>p</i> ₃ = 0,016 <i>p</i> ₄ ns
6. МетС + ХНГ + WY14643 (<i>n</i> = 9)	865 ± 29	247,2 ± 23,5 <i>p</i> ₃ = 0,03	72,5 ± 19,2 <i>p</i> ₃ = 0,002	29,3 ± 5,7 <i>p</i> ₁ = 0,022 <i>p</i> ₂ ns <i>p</i> ₃ = 0,003

Примечание. *n* – количество животных в группе; *p* – статистическая значимость различий по отношению к соответствующей группе (two way ANOVA, апостериорный тест Фишера); ns – статистически не значимо

ТАБЛИЦА 5
ВЗАИМОСВЯЗЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ С РАЗМЕРОМ ИНФАРКТА ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ И АДАПТАЦИИ К ХРОНИЧЕСКОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Параметры	Размер инфаркта ЗН/ЗР, %	<i>p</i>
ГТТ (AUC)	0,33	0,034
Триглицериды, мМоль/л	0,39	0,017

Примечание. Использован коэффициент Спирмена; *p* – статистическая значимость различий; *n* = 25.

TABLE 4
EFFECT OF METFORMIN AND WY14643 ON INFARCT SIZE IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME AND AFTER CHRONIC NORMOBARIC HYPOXIA

TABLE 5
RELATIONSHIP OF BIOCHEMICAL PARAMETERS WITH INFARCT SIZE IN INDUCED METABOLIC SYNDROME AND CHRONIC NORMOBARIC HYPOXIA

рованных к ХНГ на фоне МетС. Под влиянием WY14643 наблюдали снижение содержания в сыворотке крови триглицеридов, холестерина и лептина (табл. 2). Применение активатора PPAR α не изменило массу левого желудочка и размер зоны риска у крыс с метаболическим синдромом и адаптацией к ХНГ (табл. 4). Вместе с тем размер зоны некроза и соотношение ЗН/ЗР у крыс этой группы оказались ниже, чем в группах контрольных животных, в группе крыс с метаболическим синдромом и в группе с сочетанным применением метаболического синдрома и ХНГ (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведённого исследования показали, что применение ВУВЖД приводит к ожирению, которое характеризуется увеличением массы тела и массы абдоминального жира, сопровождается гипергликемией, нарушением толерантности к глюкозе, дислипидемией и развитием гипертензии. Полученные результаты позволяют нам говорить о формировании метаболического синдрома. Ранее наблюдали накопление липидов в миокарде и аорте крыс, содержащихся на диете, аналогичной применяемой в нашем исследовании [6]. Однако значимого влияния МетС на размер инфаркта мы не выявили. В литературе присутствуют данные как о повышении устойчивости миокарда к ишемии под действием высокоуглеводной диеты, сопровождающейся гипергликемией [7], так и об увеличении размера инфаркта у особей, имеющих такие метаболические нарушения, как гипергликемия и дислипидемия [8]. Таким образом, можно говорить о невыраженных изменениях миокарда при МетС, которые статистически значимо не влияют на устойчивость сердца к ишемии-реперфузии.

Адаптация к хронической нормобарической гипоксии продемонстрировала выраженный инфаркт-лимитирующий эффект, что согласуется с данными литературы и нашими предыдущими результатами [1, 5]. Наши исследования показали, что инфаркт-лимитирующий эффект ХНГ ослаблен в условиях МетС. При этом адаптация к ХНГ крыс с МетС приводит к уменьшению проявлений МетС, таких как дислипидемия, нарушение толерантности к глюкозе. Таким образом, мы можем заключить, что ХНГ в значительной степени, но не полностью препятствует формированию метаболических нарушений, а защитный её эффект в отношении ишемического реперфузионного повреждения снижен. Исследование J.J. Zhou и соавт. (2013) также показало снижение содержания глюкозы в сыворотке крови крыс с МетС при воздействии хронической гипоксии [3].

Несостоятельность адаптационных механизмов ХНГ у животных с МетС может быть обусловлена рядом причин. Корреляционный анализ показал взаимосвязь размера инфаркта с нарушением углеводного обмена. В качестве механизмов такой взаимосвязи может рассматриваться инсулинорезистентность миокарда при МетС, обусловленная в том числе эндокринным влиянием жировой ткани [9]. В условиях адаптации к гипоксии мета-

болизм миокарда в значительной степени становится зависим от окисления глюкозы [10]. В то же время снижение активности связанного с сигналингом инсулина транспортера глюкозы GLUT4 не позволяет использовать достаточное количество углеводов для поддержания энергетического статуса клетки. Вместе с тем гипотеза о роли инсулинорезистентности миокарда в нарушении формирования инфаркт-лимитирующего действия ХНГ нуждается в дополнительной проверке.

В научной литературе обсуждается вопрос снижения активности аденозин монофосфат-активируемой протеинкиназы (AMPK) – одного из ключевых ферментов регуляции углеводного метаболизма клетки – при МетС. Показано, что липотоксичность жирных кислот в отношении миокарда при высокожировой диете обусловлена снижением активации (фосфорилирования) AMPK, что приводит к развитию нарушений сократимости миокарда, фиброза, апоптоза, воспаления и окислительного стресса [11].

Следует учитывать тот факт, что AMPK-киназа принимает участие в защите миокарда от гипоксии [12]. Возможно, ингибирование AMPK-сигналинга при МетС предупреждает развитие кардиопротекции ХНГ. Однако наши результаты показали отсутствие эффективности метформина, активатора AMPK, для восстановления нарушенной кардиопротекции. Вместе с тем, известно, что метформин показывает эффективность при ишемии миокарда у крыс с ожирением, вызванным высокожировой диетой [13]. Механизмами кардиопротекции в этом случае выступают снижение окислительного стресса, антиапоптотическое действие метформина, снижение выраженности ферроптоза и некроптоза, улучшение сократимости, увеличение трансмембранного потенциала митохондрий, снижение образования активных форм кислорода в митохондриях, а также увеличение маркера слияния митохондрий OPA1 [13]. Однако, по данным других авторов, метформин не оказывает влияния на устойчивость к ишемии-реперфузии миокарда крыс со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом, в том числе на размер инфаркта и постишемическое восстановление сократительной способности миокарда [14].

Данные литературы позволяют предполагать определённую роль в снижении инфаркт-лимитирующей эффективности ХНГ у крыс с МетС нарушения внутриклеточного механизма действия сигналинга адипонектина. Отметим, что наше исследование показало возрастание адипонектина в сыворотке крови крыс при МетС, которое сохранялось на высоком уровне при моделировании у этих животных ХНГ. У животных с неизменённым обменом углеводов адипонектин через взаимодействие с AdipoR1 рецепторами стимулирует внутриклеточную киназную реакцию APPL1-AMPK кардиомиоцитов, обеспечивая антиапоптотический и антинекротический эффект при ишемии/реоксигенации [15]. Показано, что этот защитный эффект адипонектина при ИР миокарда снижен в кардиомиоцитах мышей с сахарным диабетом 2-го типа, что может свидетельствовать о нарушении внутриклеточного сигналинга этого адипокина [15].

У пациентов с метаболическим синдромом обнаружено снижение экспрессии обеих субъединиц AMPK ($\alpha 1$ и $\alpha 2$) в скелетных мышцах, которое взаимосвязано с уменьшением чувствительности миоцитов к адипонектину [16].

Кроме того, несостоятельность адаптационной кардиопротекции может быть обусловлена нарушением при MetC RISK-киназного сигналлинга, который вовлечён в формирование инфаркт-лимитирующего эффекта ХНГ. Так, обнаружено, что активация протеинкиназы B (Akt-киназы) и следующая за ней кардиопротекция в ответ на preconditionирование миокарда крыс не происходит, если его перфузировали жирными кислотами [17]. Стимуляция фосфорилирования Akt-киназы восстанавливает работу митохондрий, нарушенную при воздействии на клетки пальмитиновой кислоты [9].

Известно, что одним из механизмов кардиопротекции при хронической гипоксии является развитие микрососудистого русла под влиянием гипоксия-индуцированных факторов (например, HIF1) [18]. Обнаружено, что у пациентов с MetC этот механизм в значительной мере ослаблен [19], что может быть одной из причин нарушения формирования кардиопротекции. Ещё одним из механизмов увеличения устойчивости миокарда к ишемии под действием HIF-1 фактора является синтез микро-РНК miR-322, который сопряжён с цитопротекторным и антиапоптотическим эффектом адаптации к гипоксии [20, 21]. Этот механизм подвержен влиянию MetC [22].

Корреляционный анализ показал взаимосвязь размера инфаркта с уровнем триацилглицеридов сыворотки крови. Таким образом, можно предполагать, что нарушения липидного обмена могут быть причиной несостоятельности адаптационной кардиопротекции при MetC. Известно, что одной из ключевых структур регуляции клеточной утилизации липидов в кардиомиоцитах является PPAR- α рецептор [23]. Известно, что PPAR- α принимает участие в контроле транскрипции генов, участвующих в захвате и окислении жирных кислот в кардиомиоцитах [24]. Кроме того, показано, что сигналинг PGC-1 – PPAR α играет важную роль в регуляции устойчивости миокарда к ишемии. Так, выявлено, что агонист PPAR α клофибрат оказывал прямое антиапоптотическое действие при ишемии-реперфузии миокарда крыс с MetC [25], а антагонист PPAR α GW6471 предупреждал проявление кардиопротекторного эффекта каннабиноида анандамида на модели хронической периодической ишемии миокарда (ишемической кардиомиопатии) у мышей [26]. Вместе с тем указанный сигналинг претерпевает значительные изменения как при сахарном диабете, так и при хронической гипоксии. Обнаружено значительное снижение скорости окисления жирных кислот в миокарде крыс при хронической гипоксии, и, напротив, ускорение этого процесса при сахарном диабете, вызванном применением высокожировой диеты и стрептозотоцина [10]. При этом сочетанное состояние хронической гипоксии и сахарного диабета, по данным этих исследователей, показывает высокую скорость окисления жирных кислот митохондриями [10]. Этими авторами не выявлено изменения PPAR α mRNA в миокарде крыс ни при изолированном воздей-

ствии сахарного диабета и гипоксии, ни при сочетанной патологии. Однако в другой публикации показано подавление экспрессии генов белков-регуляторов метаболизма липидов, в том числе PPAR α , PPAR γ , coactivator 1 α (PGC1 α), и карнитин пальмитоил трансферазы 1 α (CPT1 α) при воздействии гипоксии на фоне сахарного диабета [27]. При этом активатор PPAR α WY14643 уменьшал вызванное ожирением накопление миокардиальных липидов и улучшал систолическую функцию левого желудочка и дыхание митохондрий [27]. Эти данные согласуются с полученными нами результатами об инфаркт-лимитирующем эффекте активатора PPAR α WY14643 при экспериментальном инфаркте миокарда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования показали, что индуцированный диетой метаболический синдром снижает инфаркт-лимитирующую эффективность адаптации к хронической нормобарической гипоксии у крыс. При этом снижение эффективности хронической нормобарической гипоксии взаимосвязано с нарушением толерантности к глюкозе и повышением уровня триглицеридов. Коррекция углеводного обмена метформином не восстанавливает инфаркт-лимитирующее действие ХНГ при метаболическом синдроме, в то время как применение активатора PPAR α нормализует липидный обмен и полностью восстанавливает нарушение адаптационной кардиопротекции при метаболическом синдроме у крыс.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что для коррекции нарушений адаптационной кардиопротекции следует применять средства, улучшающие не углеводный, но липидный метаболизм.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 22-15-00048. Исследование механизмов формирования артериальной гипертензии при MetC выполнено в рамках государственного задания 122020300042-4. В работе было использовано оборудование Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА /REFERENCES

1. Maslov LN, Naryzhnaia NV, Tsubulnikov SY, Kolar F, Zhang Y, Wang H, et al. Role of endogenous opioid peptides in the infarct size-limiting effect of adaptation to chronic continuous hypoxia. *Life Sci.* 2013; 93(9-11): 373-379. doi: 10.1016/j.lfs.2013.07.018
2. Mukhomedzyanov AV, Sirotina MA, Logvinov SV, Naryzhnaya NV. Remote preconditioning of myocardium: Mechanisms,

efficacy in metabolic syndrome in experimental and clinical studies (review). *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine* 2023; 38(1): 37–45. doi: 10.29001/2073-8552-2023-38-1-37-45

3. Zhou JJ, Wei Y, Zhang L, Zhang J, Guo LY, Gao C, et al. Chronic intermittent hypobaric hypoxia prevents cardiac dysfunction through enhancing antioxidation in fructose-fed rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2013; 91(5): 332–337. doi: 10.1139/cjpp-2012-0059

4. Naryzhnaya NV, Derkachev IA, Kurbatov BK, Sirotnina MA, Kilin M, Maslov LN. Decrease in infarct-limiting effect of the chronic normobaric hypoxia in rats with diet induced metabolic syndrome is associated with disturbance of carbohydrate and lipid metabolism. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022; 174(12): 692–697. doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-12-692-697

5. Nedvedova I, Kolar D, Neckar J, Kalous M, Pravenec M, Šilhavý J, et al. Cardioprotective regimen of adaptation to chronic hypoxia diversely alters myocardial gene expression in SHR and SHR-mtBN conplastic rat strains. *Front Endocrinol*. 2019; 9: 809. doi: 10.3389/fendo.2018.00809

6. Birulina JG, Ivanov VV, Buyko EE, Bykov VV, Dzyuman AN, Nosarev AV, et al. Morphological changes in the heart and aorta of rats with diet-induced metabolic syndrome. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022; 21(3): 13–21. doi: 10.20538/1682-0363-2022-3-13-21

7. Donner D, Headrick JP, Peart JN, Du Toit EF. Obesity improves myocardial ischaemic tolerance and RISK signalling in insulin-insensitive rats. *Dis Model Mech*. 2013; 6: 457–466. doi: 10.1242/dmm.010959

8. Penna C, Andreadou I, Aragno M, Beauloye C, Bertrand L, Lazou A, et al. Effect of hyperglycaemia and diabetes on acute myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection by ischaemic conditioning protocols. *Br J Pharmacol*. 2020; 177(23): 5312–5335. doi: 10.1111/bph.14993

9. Okatan EN, Olgar Y, Tuncay E, Turan B. Azoramide improves mitochondrial dysfunction in palmitate-induced insulin resistant H9c2 cells. *Mol Cell Biochem*. 2019; 461(1–2): 65–72. doi: 10.1007/s11010-019-03590-z

10. Mansor LS, Mehta K, Aksentijevic D, Carr CA, Lund T, Cole MA, et al. Increased oxidative metabolism following hypoxia in the type 2 diabetic heart, despite normal hypoxia signalling and metabolic adaptation. *J Physiol*. 2016; 594(2): 307–320. doi: 10.1113/JP271242

11. Zuo A, Zhao X, Li T, Li J, Lei S, Chen J, et al. CTRP9 knockout exaggerates lipotoxicity in cardiac myocytes and high-fat diet-induced cardiac hypertrophy through inhibiting the LKB1/AMPK pathway. *J Cell Mol Med*. 2020; 24(4): 2635–2647. doi: 10.1111/jcmm.14982

12. Zhang H, Liu B, Li T, Zhu Y, Luo G, Jiang Y, et al. AMPK activation serves a critical role in mitochondria quality control via modulating mitophagy in the heart under chronic hypoxia. *Int J Mol Med*. 2018; 41(1): 69–76. doi: 10.3892/ijmm.2017.3213

13. Sumneang N, Oo TT, Singhanat K, Maneechote C, Arunsak B, Nawara W, et al. Inhibition of myeloid differentiation factor 2 attenuates cardiometabolic impairments via reducing cardiac mitochondrial dysfunction, inflammation, apoptosis and ferroptosis in prediabetic rats. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2022; 1868(2): 166301. doi: 10.1016/j.bbdis.2021.166301

14. Kravchuk E, Grineva E, Bairamov A, Galagudza M, Vlasov T. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-

reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II. *Exp Diabetes Res*. 2011; 2011: 10–15. doi: 10.1155/2011/907496

15. Ren C, Yi W, Jiang B, Gao E, Liang J, Zhang B, et al. Diminished adipoR1/APPL1 interaction mediates reduced cardioprotective actions of adiponectin against myocardial ischemia/reperfusion injury in type-2 diabetic mice. *Stem Cells Int*. 2023; 2023: 1–8. doi: 10.1155/2023/7441367

16. Van Berendoncks AM, Stensvold D, Garnier A, Fortin D, Sente T, Vrints CJ, et al. Disturbed adiponectin – AMPK system in skeletal muscle of patients with metabolic syndrome. *Eur J Prevent Cardiol*. 2015; 22(2): 203–205. doi: 10.1177/2047487313508034

17. Lochner A, Genade S, Genis A, Marais E, Salie R. Long-chain free fatty acids inhibit ischaemic preconditioning of the isolated rat heart. *Mol Cell Biochem*. 2020; 473(1–2): 111–132. doi: 10.1007/s11010-020-03812-9

18. Semenza GL. Angiogenesis ischemic and neoplastic disorders. *Ann Rev Med*. 2003; 54(1): 17–28. doi: 10.1146/annurev.med.54.101601.152418

19. Liu T, Wu Z, Liu J, Lv Y, Li W. Metabolic syndrome and its components reduce coronary collateralization in chronic total occlusion: An observational study. *Cardiovasc Diabetol*. 2021; 20(1): 104. doi: 10.1186/s12933-021-01297-4

20. Zeng Y, Liu H, Kang K, Wang Z, Hui G, Zhang X, et al. Hypoxia inducible factor-1 mediates expression of miR-322: Potential role in proliferation and migration of pulmonary arterial smooth muscle cells. *Sci Rep*. 2015; 5(1): 12098. doi: 10.1038/srep12098

21. Dong W, Dong C, Zhu J, Zheng Y, Weng J, Liu L, et al. HIF-1 α -induced upregulated miR-322 forms a feedback loop by targeting Smurf2 and Smad7 to activate Smad3/ β -catenin/HIF-1 α , thereby improving myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cell Biol Int*. 2023; 47(5): 894–906. doi: 10.1002/cbin.11954

22. Marchand A, Atassi F, Mougenot N, Clergue M, Codoni V, Berthuin J, et al. miR-322 regulates insulin signaling pathway and protects against metabolic syndrome-induced cardiac dysfunction in mice. *Biochim Biophys Acta (BBA) Mol Basis Dis*. 2016; 1862(4): 611–621. doi: 10.1016/j.bbdis.2016.01.010

23. Lefebvre P, Fruchart J, Staels B, Lefebvre P, Chinetti G, Fruchart J, et al. Sorting out the roles of PPAR α in energy metabolism and vascular homeostasis. *J Clin Invest* 2006; 116(3): 571–580. doi: 10.1172/JCI27989.symptoms

24. Barger PM, Kelly DP. PPAR signaling in the control of cardiac energy metabolism. *Trends Cardiovasc Med*. 2000; 10(6): 238–245. doi: 10.1016/S1050-1738(00)00077-3

25. Sánchez-Aguilar M, Ibarra-Lara L, Cano-Martínez A, Soria-Castro E, Castrejón-Téllez V, Pavón N, et al. PPAR α activation by clofibrate alleviates ischemia/reperfusion injury in metabolic syndrome rats by decreasing cardiac inflammation and remodeling and by regulating the atrial natriuretic peptide compensatory response. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(6): 5321. doi: 10.3390/ijms24065321

26. Rajlic S, Surmann L, Zimmermann P, Weisheit CK, Bindila L, Treede H, et al. Fatty acid amide hydrolase deficiency is associated with deleterious cardiac effects after myocardial ischemia and reperfusion in mice. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(20): 12690. doi: 10.3390/ijms232012690

27. Yan J, Song K, Bai Z, Ge R-L. WY14643 improves left ventricular myocardial mitochondrial and systolic functions in obese rats under chronic persistent hypoxia via the PPAR α pathway. *Life Sci*. 2021; 266: 118888. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118888

Сведения об авторах

Нарыжная Наталья Владимировна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: natalynar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2264-1928>

Деркачев Иван Андреевич – аспирант, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: vanya.derkachev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1998-0873>

Курбатов Борис Константинович – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: bobersanker@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9603-822X>

Сиротина Мария Александровна – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: sirotina_maria@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4502-0836>

Килин Михаил – лаборант лаборатории экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: Kilin112233@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4300-5763>

Маслов Леонид Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, e-mail: Maslov@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6020-1598>

Information about the authors

Natalia V. Naryzhnaya – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: natalynar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2264-1928>

Ivan A. Derkachev – Postgraduate, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: vanya.derkachev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1998-0873>

Boris K. Kurbatov – Junior Research Officer at the Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bobersanker@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9603-822X>

Maria A. Sirotina – Junior Research Officer at the Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: sirotina_maria@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4502-0836>

Mikhail Kilin – Laboratory Assistant at the Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: Kilin112233@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4300-5763>

Leonid N. Maslov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: Maslov@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6020-1598>

ПРОФИЛАКТИКА И КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ КОМПЛЕКСНЫМ ФИТОАДАПТОГЕНОМ

Дзампаева Ж.В.,
Датиева Ф.С.,
Такоева Е.А.,
Нартикоева М.И.

Институт биомедицинских
исследований – филиал ФГБУН
Федеральный научный центр
«Владикавказский научный центр
Российской академии наук» (362025,
г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 47,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дзампаева Жанна Валерьевна,
e-mail: dzhanaeva_1991@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить возможность коррекции и профилактики нарушений поведенческой активности крыс с метаболическим синдромом комплексным фитоадаптогеном (КФА).

Материал и методы. Эксперимент проводили на 30 крысах-самцах линии Wistar, случайным образом разделённых на 3 группы: группа 1 – контроль; группа 2 – метаболический синдром (МС); группа 3 – лечение метаболического синдрома КФА. В группах 2, 3 животные находились на диете с высоким содержанием углеводов и жиров в течение 16 недель. Группа 3 получала КФА в течение 14 дней с питьевой водой после 16 недель диеты. КФА состоит из официальных настоек *Glycyrrhiza glabra*, *Rhodiola rosea*, *Acanthopanax senticosus* в соотношении 1:2:1. Поведение анализировали с помощью теста «Открытое поле» (ОП) с использованием программного обеспечения Realtimer (Open Science, Россия). Данные анализировали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.03 (GraphPad, США).

Результаты. В ходе эксперимента доказано, что метаболический синдром сопровождается повышенной тревожностью (снижение горизонтальной ($p = 0,017$) и вертикальной ($p = 0,017$) двигательной активности) и страхом (увеличение периодов неподвижности ($p = 0,011$)) в ОП. При коррекции комплексным фитоадаптогеном время пребывания в открытых и закрытых рукавах лабиринта статистически значимо не отличались от значений аналогичных показателей контроля.

Заключение. На основании данных, полученных в группе коррекции (отсутствие статистически значимых отличий относительно контроля): снижение проявлений страха и тревожности (повышении ориентировочно-исследовательской деятельности), – можно говорить об эффективности комплексных фитоадаптогенов в качестве анксиолитика. Механизмы, лежащие в основе данного результата, ещё предстоит изучить, подчёркивая роль вегетативной нервной системы, лептина и грелина в поведении и влияние на них комплексных фитоадаптогенов.

Ключевые слова: *Acanthopanax senticosus*, дислунидемия, *Glycyrrhiza glabra*, метаболический синдром, ожирение, *Rhodiola rosea*

Для цитирования: Дзампаева Ж.В., Датиева Ф.С., Такоева Е.А., Нартикоева М.И. Профилактика и коррекция нарушений поведенческой активности крыс с метаболическим синдромом комплексным фитоадаптогеном. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 233-240. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.23

Статья поступила: 01.02.2023

Статья принята: 12.01.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

PREVENTION AND CORRECTION OF BEHAVIORAL DISORDERS IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME USING A COMPLEX PHYTOADAPTOGEN

Dzampaeva Zh.V.,
Datieva F.S.,
Takoeva E.A.,
Nartikoeva M.I.

Institute of Biomedical Researches –
Branch of Vladikavkaz Scientific
Centre, Russian Academy of Sciences
(Pushkinskaya str. 47, Vladikavkaz 362045,
Russian Federation)

Corresponding author:
Zhanna V. Dzampaeva,
e-mail: dzhanaeva_1991@mail.ru

ABSTRACT

The aim of the study. To assess the possibility of correction and prevention of behavioral disorders in rats with metabolic syndrome using a complex phytoadaptogen (CPA).

Material and methods. The experiment was carried out on 30 male Wistar rats randomized into 3 groups: group 1 – control; group 2 – metabolic syndrome (MS); group 3 – treatment of metabolic syndrome using CPA. In groups 2 and 3, animals were on a high-carbohydrate and high-fat diet for 16 weeks. Group 3 received CPA for 14 days in drinking water after 16 weeks of a diet. CPA consists of official tinctures of *Glycyrrhiza glabra*, *Rhodiola rosea*, *Acanthopanax senticosus* at a ratio of 1:2:1. Behavior was analyzed through the “open field” test using Realtimer software (Open Science, Russia). Data were analyzed using GraphPad Prism 8.03 software (GraphPad, USA).

Results. The experiment proved that metabolic syndrome is accompanied by increased anxiety (decreased horizontal ($p = 0.017$) and vertical ($p = 0.017$) motor activity) and fear (increased periods of immobility ($p = 0.011$)) in the open field. When corrected with a complex phytoadaptogen, the time spent in the open and closed arms of the maze did not differ statistically significantly from the values of similar control indicators.

Conclusion. Based on the data obtained in the group 3 (no statistically significant differences with control) – decreased manifestations of fear and anxiety (increased orientation and research activity) – we can talk about the effectiveness of complex phytoadaptogens as an anxiolytic. The mechanisms underlying this result remain to be explored, emphasizing the role of the autonomic nervous system, leptin and ghrelin in behavior and the influence of complex phytoadaptogens on them.

Key words: *Acanthopanax senticosus*, dyslipidemia, *Glycyrrhiza glabra*, metabolic syndrome, obesity, *Rhodiola rosea*

Received: 01.02.2023
Accepted: 12.01.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Dzampaeva Zh.V., Datieva F.S., Takoeva E.A., Nartikoeva M.I. Prevention and correction of behavioral disorders in rats with metabolic syndrome using a complex phytoadaptogen. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 233-240. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.23

ВВЕДЕНИЕ

Метаболический синдром (МС) становится серьёзной медико-социальной проблемой во всём мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, более 1,9 млрд человек имеют избыточный вес [1, 2]. МС характеризуется инсулинорезистентностью, гипергликемией, дислипидемией, гипертонией и ожирением, являясь провоспалительным и протромботическим состоянием. Ключевую роль в возникновении метаболического синдрома играет висцеральный жир – биологически активный эндокринный и паракринный орган. Он продуцирует адипоцитокнины – основные провоспалительные медиаторы: ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1), интерлейкин-6 (IL-6), фактор некроза опухоли- α (ФНО- α). Вышеуказанные цитокины способствуют возникновению низкоинтенсивного хронического воспаления (*low-grade chronic inflammation*), воспалительной реакции и снижают чувствительность рецепторов к инсулину. Ожирение повышает риск развития сахарного диабета 2-го типа, сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированных с низкоинтенсивным хроническим воспалением и системной дисфункцией эндотелия. В последние годы растёт интерес к изучению взаимосвязи между МС и психосоматическими расстройствами, такими как депрессия и тревога. Результаты исследований носят противоречивый характер, однако показано, что провоспалительные цитокины вызывают депрессивные расстройства, и сама депрессия индуцирует расстройства пищевого поведения с последующим формированием МС и обладает провоспалительными свойствами [3, 4].

В этом исследовании мы изучили новую растительную формулу, которая может эффективно использоваться при лечении и профилактике МС и ожирения, – комплексный фитоадаптоген (КФА), который состоит из широко используемых фитоадаптогенов: родиола розовая (*Rhodiola rosea*), солодка голая (*Glycyrrhiza glabra*), элеутерококк колючий (*Acanthopanax senticosus*). *Glycyrrhiza glabra* и *Rhodiola rosea* обладают противовоспалительным и антиоксидантным действием. *Acanthopanax senticosus* оказывает выраженный стресс-лимитирующий эффект. Они контролируют активированные стрессом молекулярные шапероны (Hsp70), кортизол и оксид азота (NO). В стрессовых условиях адаптогены модулируют функцию шишковидной железы [5]. Кроме того, по данным литературы, КФА способны повышать работоспособность и снижать утомляемость, модулировать воспалительный ответ в эксперименте и клинике.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить возможность коррекции и профилактики нарушений поведенческой активности крыс с метаболическим синдромом комплексным фитоадаптогеном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Wistar (вес 330 ± 20 г; $n = 30$), полученных из питомника «Рапполово» (Санкт-Петербург, Россия). Животные были размещены в помещении с искусственным освещением (12/12), регулируемой температурой (21 ± 1 °C) и влажностью (50–55 %). Крыс содержали в клетках (по 5 животных в каждой), пища и вода *ad libitum*.

Исследование одобрено Комитетом по этике Института биомедицинских исследований – филиала ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук» (протокол № 7 от 20.02.2019). Исследование проводилось в соответствии с этическими нормами, установленными Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000).

После адаптационного периода (2 недели) животных случайным образом разделили на 3 экспериментальные группы: группа 1 – контроль; группа 2 – метаболический синдром; группа 3 – лечение метаболического синдрома комплексным фитоадаптогеном. Животные групп 2 и 3 находились на диете с высоким содержанием углеводов и жиров (HCHF, high-carbohydrate high-fat). Диета включала: 175 г фруктозы, 395 г подслащённого сгущённого молока, 200 г говяжьего жира, 155 г порошкообразной крысиной пищи, 25 г солевой смеси Хаббла, Менделя и Уэйкмана и 50 г воды на килограмм рациона. Кроме того, питьевая вода для группы МС была дополнена 25%-й фруктозой [6]. Общее время кормления составило 16 недель. Наличие метаболического синдрома у животных было подтверждено биохимическим, патоморфологическим и функциональными методами исследования согласно применяемой экспериментальной модели [6]. Крыс группы 2 выводили из эксперимента после 16 недель кормления для оценки прогрессирования патофизиологических изменений метаболического синдрома. Из эксперимента животных выводили путём декапитации под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).

После 16 недель диеты крысы группы 3 получали комплексный фитоадаптоген в течение 14 дней. КФА состоит из 40%-х спиртовых экстрактов *Glycyrrhiza glabra*, *Rhodiola rosea*, *Acanthopanax senticosus* в соотношении 1:2:1 соответственно. Дозу рассчитывали исходя из среднесуточного объёма потребляемой жидкости и коэффициента ($\times 10$) для мелких лабораторных животных (0,1 мл/100 г в сутки).

Поведение регистрировалось и рассчитывалось с помощью компьютерного программного обеспечения для мониторинга активности животных (Real Timer, Open Science, Россия) в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Тест «открытое поле» представляет собой квадратную арену со сторонами, равными 100 см, и высотой 40 см, разделённую на одинаковые 25 квадратов ($40 \times 40 \times 30$ см³). Доказано, что открытое поле серого цвета не позволяет выявить межгрупповые разли-

чия в поведении животных, так как возникает особый тип стрессового поведения, проявляющийся в смешанном тревожно-фобическом состоянии у животных независимо от их прогнозируемой устойчивости к стрессам [3]. Исходя из этого животные в данном эксперименте не были разделены на группы по их устойчивости к стрессу. Параметры, оцениваемые в открытом поле: вертикальная активность (количество вертикальных стоек), горизонтальная активность (расстояние, выраженное в квадратах), количество актов груминга и дефекации.

Приподнятый крестообразный лабиринт представляет собой плюс-образный аппарат с четырьмя рукавами, соединяющимися под прямым углом друг к другу, как описали Хэндли и Митани. Приподнятый крестообразный лабиринт состоит из двух закрытых ($30 \times 5 \times 30 \text{ см}^3$) и двух открытых рукавов ($30 \times 5 \times 1 \text{ см}^3$), перпендикулярных друг другу и соединённых центральной ареной ($5 \times 5 \text{ см}^2$). Закрытые руки имеют высокую стенку (16 см), тогда как открытые не имеют боковой стенки. Крыс помещали в центральную платформу лицом к закрытому рукаву. Оцениваемый параметр – общее время, проведённое в открытых и закрытых рукавах. Вход в рукав фиксировали, когда крыса входила в рукав всеми четырьмя конечностями.

В день испытаний крыс транспортировали в испытательную комнату на 2 часа. Каждую крысу затем помещали в один и тот же угол арены открытого поля и приподнятого крестообразного лабиринта; поведение фиксировали по 5 минут в обоих тестах. Чтобы избежать присутствия обонятельных сигналов, всё оборудование (открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт) тщательно очищали 20%-м этанолом, а затем протирали сухой бумагой после каждого испытания. Исследования проводили в промежуток времени с 9 до 14 часов.

Анализ данных проводился с использованием программы GraphPad Prism 8.03 (GraphPad, США). Распределение непрерывных переменных было проверено на нормальность с помощью теста Шапиро – Уилка. В связи с отсутствием в ряде случаев соответствия числовых совокупностей принципу нормальности распределения и малым количеством вариантов в сравниваемых группах ($n < 30$) в работе был использован непараметрический блок статистики. Критерий Краскела – Уоллиса использовался для сравнения независимых наборов данных. Критерий Уилкоксона использовался для сравнения зависимых наборов данных. Медианные (25–75 %) значения были приведены в качестве описательной статистики из-за небольшого количества вариантов в выборке. Значение $p < 0,05$ было признано статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поведение животных – это один из способов активного приспособления к воздействию факторам окру-

жающей среды. Животное испытывает стрессовое напряжение при помещении в экспериментальную установку «открытое поле», что отражается на его поведении в первые 4 минуты теста [3].

Крысы с МС (группа 2) показали тенденцию к снижению горизонтальной двигательной активности (ГДА) по сравнению с контролем (группа 1) в течение 5 мин. Количество вертикальных стоек с опорой (вертикальная двигательная активность (ВДА)) на стену арены в группе 2 показало статистически значимые различия относительно контроля ($p = 0,017$) (табл. 1). Следовательно, при метаболическом синдроме происходит снижение ориентировочно-исследовательской деятельности ($\downarrow$ ГДА и ВДА). При коррекции комплексным фитоадаптогеном статистически значимых отличий по отношению к контролю как ГДА, так и ВДА не отмечалось; показатели восстанавливались в пределах доверительного интервала контроля, то есть отмечалась тенденция к нормализации ориентировочно-исследовательской деятельности.

Основным достоверным проявлением сильного страха у животных с метаболическим синдромом в ОП был период неподвижности, который статистически значимо отличался от значений контроля ($p = 0,011$). Этот факт подтверждает наличие статистически значимых различий данного показателя с контролем в 3-й группе ($p = 0,025$). Но использование КФА привело к статистически значимому отличию от группы с МС в отношении периодов неподвижности ($p = 0,014$).

Во второй группе продолжительность груминга статистически значимо отличалась от контроля ($p = 0,011$). При коррекции КФА наблюдались статистически значимые отличия количества актов груминга к МС ($p = 0,017$).

Анализ параметров теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» выявил повышенную тревожность и симптомы страха у животных. У крыс второй группы (МС) относительно контроля отмечалось уменьшение времени, проведённого в открытом рукаве ($p = 0,012$), увеличение времени, проведённого в тёмном рукаве ($p = 0,043$), и числа свешиваний ($p = 0,043$) (табл. 1), что говорит о повышении тревожности. При коррекции комплексным фитоадаптогеном время пребывания в открытых и закрытых рукавах лабиринта статистически значимо не отличались от значений аналогичных показателей контроля (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Практически у всех пациентов с избыточной массой тела имеет место нарушение пищевого поведения [4]. Понимание патофизиологических взаимосвязей между стрессом, нейробиологической адаптацией и ожирением важно для разработки эффективных методов профилактики и коррекции.

На основании данных, полученных при параллельном тестировании животных в ОП и ПКЛ, можно говорить об эффективности комплексного фитоадаптогена

ТАБЛИЦА 1
ИЗМЕНЕНИЕ ОЦЕНИВАЕМЫХ ПАРАМЕТРОВ В ТЕСТЕ
«ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ» ВО ВСЕХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
ГРУППАХ

TABLE 1
CHANGES OVER TIME IN OPEN FIELD TEST PARAMETERS
IN ALL EXPERIMENTAL GROUPS

Параметры	Контроль (группа 1)	МС (группа 2)	МС + КФА (группа 3)
Открытое поле			
Количество пересечённых квадратов	58,5 (36; 65,5)	29,5 (25; 45) $p = 0,017^*$	45 (33,5; 53)
Количество вертикальных стоек без опоры на стенку открытого поля	9 (5,5; 13)	2,5 (2; 6) $p = 0,017^*$	7 (3,5; 8,5)
Количество вертикальных стоек с опорой на стенку открытого поля	7 (3; 8,5)	6,5 (4; 9)	5 (3; 7)
Период неподвижности (с)	20 (15; 32,5)	60 (45; 75) $p = 0,011^*$	39 (32,5; 45) $p = 0,025^*$ $p = 0,014^{**}$
Количество актов груминга	7 (3,5; 13,5)	27,5 (20; 40) $p = 0,011^*$	15,5 (14,5; 16) $p = 0,017^{**}$
Приподнятый крестообразный лабиринт			
Время пребывания в открытых рукавах (с)	50,32 (37,1; 77,7)	21,83 (10,11; 32,51) $p = 0,012$	37 (27,28; 49,35) $p = 0,05$
Время пребывания в закрытых рукавах (с)	250,8 (228,3; 258,3)	272,5 (253,4; 287,9) $p = 0,043$	228,8 (214,8; 245,1) $p = 0,009$
Количество свешиваний	3 (0; 5)	0 (0; 2) $p = 0,043^*$	0 (0; 0,5)
Количество актов дефекации	3 (2; 3)	4,5 (2; 6) $p = 0,017^*$	0 (0; 2)
Количество актов груминга	2 (2; 3)	2 (1; 3)	2 (1; 3)

Примечание. Результаты представлены в виде Ме (25%; 75%); * – к контролю; ** – к метаболическому синдрому ($p < 0,05$).

в качестве анксиолитика: отмечается нормализация показателей в пределах доверительного интервала контроля теста «открытое поле» (горизонтальная и вертикальная двигательная активность и периоды неподвижности), теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (время пребывания в открытых и закрытых рукавах, число свешиваний, акты дефекации). Это говорит о снижении проявлений страха и тревожности, которое выразилось в активации ориентировочно-исследовательской деятельности.

Эффективность комплексного фитоадаптогена можно объяснить несколькими механизмами, и в первую очередь это эффект повышения адаптации к стрессу. Вегетативная нервная система обеспечивает различные формы реакции на эмоциональный стресс – изменение температуры, потоотделения, кардиоваскулярных и гастроинтестинальных показателей, дыхательной ритмики. При хроническом стрессе происходят психовегетативные нарушения. В норме при стрессе вырабатывается кортикотропин-рилизинг фактор, в конечном итоге – глюкокортикоиды [7], которые по механизму обратной связи тормозят се-

крецию кортикотропин-рилизинг фактора, затем система приходит в исходное состояние. Кортикотропин-рилизинг фактор снижает синтез ключевых нейропептидов, таких как нейротрофический фактор головного мозга (BDNF, brain-derived neurotrophic factor). Хронический стресс нарушает работу механизма обратной связи, глюкокортикоиды длительно персистируют, что приводит к нейрональной недостаточности в структурах головного мозга, содержащих глюкокортикоидные рецепторы, к примеру, гиппокамп, повреждение которого может привести к срыву адаптации индивидуума при последующих стрессорных воздействиях. Соответственно возникают депрессивные, тревожные, соматоформные расстройства [7, 8].

Комплексный фитоадаптоген может влиять на поведение животных по нескольким механизмам. Так, КФА повышает выработку нейрогормонов (эндорфинов, дофамина) при стрессе за счёт модулирования синтеза адренотропного гормона и кортизола в надпочечниках. Кроме того, он оказывает нейропротекторный эффект [9, 10]. Вторичные метаболиты КФА способствуют адаптации клеток к стрессу, что на-

зывается феноменом гермезиса или прекоиндиционирования [10].

Другой возможный механизм связан со снижением КФА продукции медиаторов воспаления при метаболическом синдроме. ФНО- α рассматривается как медиатор инсулинорезистентности и регулятор энергетического обмена в организме. Доказано, что ФНО- α воздействует на рецепторы инсулина и транспорт глюкозы, усиливая резистентность к инсулину и, соответственно, стимулируя секрецию лептина [5]. ФНО- α повышает выработку IL-6, который также ингибирует метаболические эффекты инсулина, блокируя инсулинозависимую активацию сигнальных преобразователей, инсулин-индуцированный синтез гликогена. В соответствии с цитокиновой гипотезой психосоматические изменения при повышении цитокинов могут приводить к индукции индоламин-2,3-диоксигеназы с образованием катаболитов триптофана (TRP) с последующим понижением доступности TRP и серотонина (5-HT), что также повышает тревожность и развитие депрессивных состояний [11].

ФНО- α оказывает непосредственное влияние на формирование инсулинорезистентности на уровне гепатоцитов. Прогрессирование инсулинорезистентности повышает резистентность к лептину. Лептин («голос жировой ткани») регулирует пищевое поведение путём воздействия на гипоталамический центр насыщения. Лептин также повышает тонус симпатической нервной системы; усиливает термогенез в адипоцитах; тормозит синтез инсулина; действует на инсулиновый рецептор клетки, уменьшая транспорт глюкозы. Однако при МС лептин не выполняет своих основных биологических функций. Повышенное тревожное поведение животных с МС можно объяснить развитием резистентности к лептину в ответ на диету, богатую углеводами и жирами, в частности, резистентностью к лептину в его основных мишенях – гипоталамусе [12] и вентральной тегментальной области [13]. Это состояние, возможно, развивается из-за снижения экспрессии гена рецептора лептина, сопровождающегося уменьшением передачи сигналов и/или предполагаемым уменьшением транспорта лептина в спинномозговую жидкость при резистентности к инсулину [14, 15]. Общеизвестно, что миндалевидное тело играет основную роль в модуляции тревоги, и механизмы дофаминергических рецепторов играют важную роль в этой модуляции. Поскольку нейроны в вентральной тегментальной области являются источником иннервации дофамина миндалевидного тела, возможно, резистентность к лептину в ней может лежать в основе тревожного поведения, наблюдаемого в нашем эксперименте.

Другим периферическим гормоном, играющим важную роль в регуляции гомеостатического питания, является грелин. Как уже говорилось выше в отношении лептина, в последнее время грелин участвует в вызванных стрессом изменениях в питании и поведении. Доказано, что активация сигнальных путей грелина в ответ на хронический стресс может быть гомеостатической адаптацией, которая помогает че-

ловеку справляться со стрессом, но за счёт увеличения потребления калорий. Катехоламины, секретируемые в ответ на стресс, по-видимому, непосредственно стимулируют клетки грелина. Как и лептин, грелин – мощный модулятор мезолимбических дофаминергических цепей [8].

С третьей стороны, хроническое низкоинтенсивное воспаление приводит к повышенному окислительному и нитрозативному повреждению нейронов, клеток поджелудочной железы и эндотелия. Воспалительные и нитрозидативные (O&NS, oxidative and nitrosative stress) пути связаны в порочный круг, в котором иммунновоспалительные реакции истощают запасы эндогенных антиоксидантов, а активные формы кислорода (АФК) активируют провоспалительные промоторные гены через внутриклеточные сигнальные каскады, такие как митоген-активируемые протеинкиназы (МАПК) и NF- κ B; кроме того, происходит альтерация инсулинпродуцирующих клеток поджелудочной железы и усиление инсулинорезистентности [16].

Таким образом, мы видим целый ряд перекрывающихся патофизиологических механизмов, способствующих развитию нарушений поведения при хроническом низкоинтенсивном воспалении на фоне МС, что и обуславливает полученные положительные эффекты комплексного фитоадаптогена, действующие на центральном (центральная нервная система), системном (гормональная регуляция) и клеточном уровнях.

Комплексный фитоадаптоген ингибирует факторы транскрипции – NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), активатор рецептора ядерного фактора каппа-B (RANK, receptor activator of nuclear factor κ B)), и FOXO3, ключевой фактор транскрипции, регулирующий клеточный ответ, вызванный окислительным стрессом, – в результате чего нейроны адаптируются к стрессу. Глицирризин, входящий в состав *Glycyrrhiza glabra*, снижает окислительный стресс, ингибируя пути 5'-аденозинмонофосфат-активированной протеинкиназы (AMPK, adenosine monophosphate-activated protein kinase) и транскрипционного NF- κ B и активируя сигнализацию AMPK/NRF2 (ядерный фактор эритроид 2, связанный с фактором 2) [17–19].

Acanthopanax senticosus повышает активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы – в печени, тем самым уменьшая накопление АФК [18]. Самым известным антиоксидантом растительного происхождения является *Rhodiola rosea*, которая усиливает эндогенный антиоксидантный ферментативный ответ. Применение экстракта *Rhodiola rosea* ингибирует активность пролиндегидрогеназы (PDH) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase). Экстракт *Rhodiola rosea* и её основное биологически активное вещество – тирозол – повышают активность супероксиддисмутазы, что приводит к снижению содержания продуктов свободно-радикального окисления при адипогенезе [20]. В комплексе фитоадаптогены модулируют и потенцируют

эффекты друг друга, что и обеспечивает их протекторный эффект.

ВЫВОД

Результаты подтверждают идею о том, что диета с высоким содержанием углеводов и жиров вызывает метаболический синдром у крыс, который способствует нарушению поведенческой активности в виде нарушения ориентировочно-исследовательской деятельности и повышения тревожности. Однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы выявить механизмы, лежащие в основе поведенческих изменений при резистентности к лептину, которые могут лежать в основе тревожного поведения, наблюдаемого в нашем эксперименте. Биологически активные вещества комплексного фитоадаптогена могут быть многообещающим дополнением в коррекции тревожных, депрессивных расстройств при метаболическом синдроме, воздействуя и через вегетативную нервную систему, и через центральные структуры – мишени лептина и грелина, и как протекторы нейронов и периферических тканей от оксидативного и нитрозативного стресса, устраняя резистентность к инсулину, снижая выброс цитокинов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Collaborators GBDO, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med*. 2017; 377: 13-27. doi: 10.1056/NEJMoa1614362
2. Saklayen MG. The global epidemic of the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018; 20(2): 12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z
3. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Коррекция проявлений экспериментального метаболического синдрома у крыс с помощью некоторых аргининсодержащих пептидов. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2017; 72(2): 92-98. [Lyapina LA, Grigorjeva ME, Obergan TY, Myasoedov NF, Andreeva LA. Correction of manifestations of the experimental metabolic syndrome in rats with some arginine-containing peptides. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2017; 72(2): 92-98. (In Russ.)].
4. Lavallee KL, Zhang XC, Schneider S, Margraf J. Obesity and mental health: A longitudinal, cross-cultural examination in Germany and China. *Front Psychol*. 2021; 12: 712567.
5. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabres M, Capo X, Bouzas C, Mateos D, Pons A, et al. Metabolic syndrome is associated with oxidative stress and proinflammatory state. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(3): 236. doi: 10.3390/antiox9030236
6. Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam A, Diwan V, et al. High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2011; 57(1): 51-64. doi: 10.1097/FJC.0b013e3181feb90a
7. Mulkey SB, du Plessis AJ. Autonomic nervous system development and its impact on neuropsychiatric outcome. *Pediatr Res*. 2019; 85(2): 120-126. doi: 10.1038/s41390-018-0155-0
8. Sadock BJ, Sadock VA. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers; 2000.
9. Panossian A, Seo EJ, Efferth T. Effects of anti-inflammatory and adaptogenic herbal extracts on gene expression of eicosanoids signaling pathways in isolated brain cells. *Phytomedicine*. 2019; (1): 1528-1581. doi: 10.1016/j.phymed.2019.152881
10. Panossian AG, Efferth T, Shikov AN, Pozharitskaya ON, Kuchta K, Mukherjee PK, et al. Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: Pharmacology of stress- and aging-related diseases. *Med Res Rev*. 2020; 20(4): 1-74. doi: 10.1002/med.21743
11. Tian C, Hao L, Yi W, Ding S, Xu F. Polyphenols. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Gxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 7398453. doi: 10.1155/2020/7398453
12. Zhang Y, Scarpance PJ. The role of leptin in leptin resistance and obesity. *Physiol Behav*. 2006; 88: 249-256. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.05.038
13. Scarpance PJ, Matheny M, Kirichenko N, Gao YX, Tumer N, Zhang Y. Leptin overexpression in VTA trans-activates the hypothalamus whereas prolonged leptin action in either region cross-desensitizes. *Neuropharmacology*. 2013; 65: 90-100. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.09.005
14. Перцов С.С., Алексеева И.В., Абрамова А.Ю., Никенина Е.В., Козлов А.Ю., Коплик Е.В., и др. Динамика метаболических показателей у крыс на разных стадиях постстрессорного периода в условиях антигенного воздействия при введении липополисахарида. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2021; 107(3): 321-331. [Pertsov SS, Alekseeva IV, Abramova AYU, Nikenina EV, Kozlov AYU, Koplik EV, et al. Metabolic parameters in rats at various stages of the post-stress period under conditions of antigenic exposure by administration of lipopolysaccharide. *Russian Journal of Physiology*. 2021; 107(3): 321-331. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S086981392103008
15. Pezze MA, Feldon J. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Progr Neurobiol*. 2004; 74: 301-320. doi: 10.1016/j.pneurobio.2004.09.004
16. Marazziti D, Rutigliano G, Baroni S, Landi P, Dell'Osso L. Metabolic syndrome and major depression. *CNS Spectr*. 2014; 19(4): 293-304. doi: 10.1017/S1092852913000667
17. Hasan MK, Mondal MSA, Kabir Y. Phytochemistry, pharmacological activity and potential health benefits of *Glycyrrhiza glabra*. *Heliyon*. 2021; 7(6): 07240. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07240
18. Zheng Y, Lee J, Lee EH, In G, Kim J, Lee MH, et al. A combination of Korean red ginseng extract and *Glycyrrhiza glabra* L. extract enhances their individual anti-obesity properties in 3T3-L1 adipocytes and C57BL/6J obese mice. *J Med Food*. 2020; 23(3): 215-223. doi: 10.1002/med.21743
19. Li Z, Chen C, Zhu X, Li Y, Yu R, Xu W. Glycyrrhizin suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and oxidative stress through inhibiting NF- κ B and MAPK and activating AMPK/Nrf2. *Calcif Tissue Int*. 2018; 103(3): 324-327. doi: 10.1007/s00223-018-0425-1

20. Lee OH, Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K, Kim YC. Rhodiola-induced inhibition of adipogenesis involves antioxidant enzyme response associated with pentose phosphate pathway. *Phytother Res.* 2011; 25(1): 106-115. doi: 10.1002/ptr.3236

Сведения об авторах

Дзампаева Жанна Валерьевна – младший научный сотрудник, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук», e-mail: dzhanaeva_1991@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0778-5117>

Датиева Фатима Сергеевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, директор, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук», e-mail: faaroo@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1636-9174>

Такоева Елена Астановна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук», e-mail: elena_takoeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7248-5244>

Нартикоева Марина Иродиевна – младший научный сотрудник, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук», e-mail: nartikoeva_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9235-7303>

Information about the authors

Zhanna V. Dzampaeva – Junior Research Officer, Institute of Biomedical Researches – Branch of Vladikavkaz Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, e-mail: dzhanaeva_1991@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0778-5117>

Fatima S. Datieva – Doctor of Medical Sciences, Leading Research Officer, Director, Institute of Biomedical Researches – Branch of Vladikavkaz Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, e-mail: faaroo@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1636-9174>

Elena A. Takoeva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer, Institute of Biomedical Researches – Branch of Vladikavkaz Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, e-mail: elena_takoeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7248-5244>

Marina I. Nartikoeva – Junior Research Officer, Institute of Biomedical Researches – Branch of Vladikavkaz Scientific Centre, Russian Academy of Sciences, e-mail: nartikoeva_m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9235-7303>

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ ОТ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ

Баянова Т.А.¹,
Стукова Е.С.²,
Кравченко Н.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный
медицинский университет» Минздрава
России (664003, г. Иркутск, ул. Красного
Восстания, 1, Россия)

² ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Иркутской области» (664047, г. Иркутск,
ул. Трилиссера, 51, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Татьяна Александровна Баянова,
e-mail: bayanova_tanya@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Внебольничные пневмонии (ВП) остаются самой распространённой и угрожающей жизни формой патологии среди болезней органов дыхания.

Цель исследования. Выявить особенности эпидемиологии внебольничных пневмоний в условиях массовой вакцинации против пневмококковой инфекции в Иркутской области.

Материалы и методы. Проведено описательное эпидемиологическое ретроспективное исследование. Изучены заболеваемость ВП (в том числе бактериальной и вирусной этиологии) и смертность от них в Иркутской области за 2011–2022 гг. по данным статистических отчётных форм № 2, № 5, № 6, С51.

Результаты. Заболеваемость ВП за период наблюдения сохранялась на высоком уровне: среднегодовой показатель среди совокупного населения составил 627,3 [467,8–786,8]. При этом отмечалось стойкое снижение уровня заболеваемости ВП бактериальной этиологии ($T_{\text{сниж.}} = 6,8\%$). Показатели заболеваемости внебольничными пневмококковыми пневмониями были распределены неравномерно по годам и сравниваемым группам населения. Наибольшие уровни регистрировались у детей в 2018–2019 гг. – 12,3 [10,8–13,8] и 19,3 [17,8–20,8] соответственно. Показано снижение уровня смертности от ВП среди детей, взрослых и совокупного населения в 2020 г. с последующим ростом показателя среди взрослых и совокупного населения в 2,5 раза. На фоне проводимой вакцинации населения против пневмококковой инфекции (ПИ) отмечается статистически значимое снижение уровня заболеваемости ВП, в том числе внебольничными бактериальными пневмониями и смертности от ВП среди разных групп населения.

Заключение. Несмотря на высокие уровни заболеваемости ВП, показано статистически значимое снижение заболеваемости ВП бактериальной этиологии среди детей и взрослых. Снижение смертности от ВП продолжилось с начала введения вакцинации против пневмококковой инфекции. Полученные результаты исследования могут быть применены для оптимизации эпидемиологического надзора и эпидемиологического контроля за ВП на региональном уровне.

Ключевые слова: внебольничные пневмонии, бактериальные пневмонии, пневмококковые пневмонии, вирусные пневмонии, заболеваемость, смертность, вакцинация

Статья поступила: 06.06.2023

Статья принята: 05.02.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Баянова Т.А., Стукова Е.С., Кравченко Н.А. Влияние вакцинации на заболеваемость и смертность от внебольничных пневмоний. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 241–250. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.24

EFFECT OF VACCINATION ON MORBIDITY AND MORTALITY FROM COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Bayanova T.A.¹,
Stukova E.S.²,
Kravchenko N.A.¹

¹ Irkutsk State Medical University
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Center of Hygiene and Epidemiology
in the Irkutsk Region (Trilissera str. 51,
Irkutsk 664047, Russian Federation)

Corresponding author:
Tatyana A. Bayanova,
e-mail: bayanova_tanya@mail.ru

ABSTRACT

Background. Community-acquired pneumonia remains one of the most common and life-threatening forms of pathology among respiratory diseases.

The aim of the study. To identify the features of the epidemiology of community-acquired pneumonia in the conditions of mass immunization against pneumococcal infection in the Irkutsk region.

Materials and methods. We conducted a descriptive epidemiological retrospective study. We studied the incidence of community-acquired pneumonia (including community-acquired pneumonia of bacterial and viral etiology) and mortality from this disease in the Irkutsk region for 2011–2022 according to statistical reporting forms No. 2, No. 5, No. 6, C51.

Results. The incidence of community-acquired pneumonia during the observation period remained at a high level: the long-term annual average rate among the total population was 627.3 [467.8÷786.8]. At the same time, there was a persistent decrease in the incidence of community-acquired pneumonia of bacterial etiology ($T_{\text{decrease}} = 6.8\%$). Incidence rates of community-acquired pneumonia of bacterial etiology were distributed unevenly over the years and the compared population groups. The highest levels were recorded in children in 2018–2019 – 12.3 [10.8÷13.8] and 19.3 [17.8÷20.8], respectively. A decrease in the mortality rate from community-acquired pneumonia among children, adults and in the general population in 2020 was shown, with a subsequent increase in the rate among adults and the general population by 2.5 times. Against the background of ongoing immunization of the population against pneumococcal infection, there is a statistically significant decrease in the incidence of community-acquired pneumonia, including community-acquired bacterial pneumonia, and mortality from community-acquired pneumonia among different population groups.

Conclusion. Despite the high incidence of community-acquired pneumonia, a statistically significant decrease in the incidence of community-acquired pneumonia of bacterial etiology has been shown among children and adults. The decrease in mortality from community-acquired pneumonia has continued since the introduction of immunization against pneumococcal infection. The results of the study can be used to optimize epidemiological surveillance and epidemiological control of community-acquired pneumonia at the regional level.

Key words: community-acquired pneumonia, bacterial pneumonia, pneumococcal pneumonia, viral pneumonia, morbidity, mortality, vaccination

Received: 06.06.2023

Accepted: 05.02.2024

Published: 26.03.2024

For citation: Bayanova T.A., Stukova E.S., Kravchenko N.A. Effect of vaccination on morbidity and mortality from community-acquired pneumonia. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 241–250. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.24

ВВЕДЕНИЕ

Внебольничные пневмонии (ВП) относятся к числу широко распространённых инфекционных заболеваний [1, 2]. Высокие уровни заболеваемости и смертности, полиэтиологичность, сложности лабораторной диагностики диктуют необходимость оптимизации эпидемиологического надзора и подходов к профилактике данной патологии [3, 4]. *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) является доминирующим агентом в поражении дыхательных путей [5]. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, причиной более 1,5 млн смертельных случаев ежегодно является пневмококковая инфекция (ПИ), и почти половина из них регистрируются у детей. Неблагоприятным фактором, препятствующим эффективности лечения, является прогрессирующая антибиотикорезистентность штаммов данного патогена [3, 6]. Многообразие клинических форм, высокий уровень распространённости ПИ определяет актуальность проблемы их профилактики [5]. В условиях эпидемического распространения вирусных инфекций (грипп, COVID-19) актуальность ВП, в том числе бактериальной этиологии, сохраняется [7]. Доказано, что в роли пускового механизма колонизации респираторного тракта патогенной бактериальной флорой, как правило, выступают вирусные инфекции [8].

Вакцинопрофилактика признана эффективной стратегией профилактики ВП [5]. На снижение заболеваемости и смертности от ВП среди разных групп населения направлена реализуемая в рамках календарей профилактических прививок (КПП) разных стран вакцинация против гриппа, гемофильной инфекции типа В, кори, коклюша, ПИ, COVID-19. Плановая вакцинопрофилактика пневмококковой инфекции на территории РФ включена в КПП одной из последних, в 2014 г. Накопленный опыт плановой вакцинации демонстрирует эпидемиологическую и профилактическую эффективность данного мероприятия в отдельных регионах [9–11].

В Иркутской области уровень заболеваемости ВП в период 2011–2019 гг. превышал таковой по Российской Федерации (РФ) в 1,5 раза [12]. Специфическая профилактика ПИ осуществляется в рамках приказа № 1122н (приложения 1, 2). Крайне актуальным является изучение изменений уровня заболеваемости и смертности от ВП на уровне субъекта РФ в условиях плановой вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить особенности эпидемиологии внебольничных пневмоний в условиях массовой вакцинации против пневмококковой инфекции в Иркутской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено описательное эпидемиологическое ретроспективное исследование. Изучена заболеваемость

ВП (вирусной и бактериальной, в том числе пневмококковой, этиологии), и смертность от них в Иркутской области за 2011–2022 гг. по сплошным выборкам отчётных форм № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», С51 «Распределение умерших по полу, возрасту и причинам смерти». Объёмы вакцинации против пневмококковой инфекции среди населения представлены по данным форм № 5 «Сведения о профилактических прививках» за 2013–2022 гг.; № 6 «Сведения о контингентах, привитых против инфекционных заболеваний» за 2016–2022 гг.

Заболеваемость ВП и смертность от них разных групп населения (детское, взрослое, совокупное) представлена по периодам: 2011–2019 гг. – период до распространения COVID-19; 2020 г. – год начала пандемии COVID-19; 2021–2022 гг. – годы распространения COVID-19.

Для оценки степени влияния иммунизации против ПИ на уровень заболеваемости ВП, внебольничными бактериальными пневмониями (ВБП) и внебольничными пневмококковыми пневмониями (ВПП) и смертности от ВП проведён стратифицированный анализ по возрасту в группах детей (до 17 лет), взрослого (18 лет и старше) и совокупного населения.

Для изучения многолетней динамики заболеваемости ВП, в том числе бактериальной этиологии, ВПП и смертности от ВП, распределения заболеваемости по возрастным группам населения применены описательные эпидемиологические методы. Расчёт относительных показателей, среднегодовых темпов прироста/снижения ($T_{пр.}/T_{сниж.}$), уравнений регрессии, коэффициентов корреляции Спирмена, анализ данных и их графическое представление выполнены в программе MS Office Excel 2010 (Microsoft Corp., США).

Статистическая значимость различий относительных величин рассчитывалась с использованием доверительных интервалов с уровнем значимости $p \leq 0,05$ (95% ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Заболеваемость ВП среди разных возрастных групп населения в Иркутской области сохранялась на высоком уровне. За период 2011–2019 гг. уровень заболеваемости детей (0–17 лет) превышал заболеваемость взрослого и совокупного населения в 2,3 и 1,7 раза соответственно. В 2020 г. зарегистрировано значительное увеличение показателя заболеваемости ВП среди взрослого населения. В последующий период (2021–2022 гг.) уровень заболеваемости взрослых снизился, но превышал таковой среди детей (табл. 1).

При анализе структуры ВП среди лабораторно подтверждённых случаев в динамике отмечено преобладание ВП бактериальной этиологии – 78,4 %; исключение составили 2020 и 2022 г., где доля пневмоний вирусной этиологии составила 84,2 % и 73,5 % соответственно.

Динамика заболеваемости ВП бактериальной этиологии за период наблюдения характеризовалась тен-

денцией к снижению среди детей и взрослых. Уровень заболеваемости у детей был выше и снижался более высокими темпами по сравнению со взрослым населением; среднегодовые темпы снижения составили 9,3 % и 5,8 % соответственно. В многолетней динамике заболеваемости детей период 2018–2019 гг. характеризовался значительным ростом показателей: средний уровень составил 179,7 [125,6÷233,8] на 100 тыс. населения, в 2018 г. заболеваемость увеличилась на 14,0 % по сравнению с предшествующим периодом, в 2019 г. – на 35,0 %. В 2021 г. отмечалось значительное снижение уровня заболеваемости, показатель составил 21,4 [12,4÷30,4] на 100 тыс. населения (самый низкий уровень за период наблюдения); в 2022 г. зарегистрирован статистически не значимый рост заболеваемости – 30,1 [25,4÷34,8] на 100 тыс. населения. В динамике заболеваемости взрослого населения прослеживались аналогичные тенденции. Заболеваемость ВП вирусной этиологии значительно различалась в сравниваемых группах. Так, среди взрослого населения период 2011–2018 гг. характеризовался ста-

бильно низким уровнем заболеваемости, среднегодового показатель (СМП) составил 9,4 [0÷18,4] на 100 тыс. населения. С 2019 г. отмечалось повышение показателя до 18,8 [16,9÷20,7] на 100 тыс. населения, которое продолжилось в 2020 г. – до 721,9 [709,7÷734,1] на 100 тыс. населения. В 2021 г. показатель заболеваемости регистрировался на уровне 2019 г. с последующим увеличением в 2022 г. В многолетней динамике заболеваемости ВП вирусной этиологии детей уровни и периоды заболеваемости были распределены аналогично ВП бактериальной этиологии: периоды снижения и роста сменяли друг друга. В 2020 г. заболеваемость ВП бактериальной и вирусной этиологии регистрировалась на уровне 80,2 [72,6÷87,8] и 86,5 [78,3÷94,7] на 100 тыс. населения соответственно. Самый низкий уровень заболеваемости за период наблюдения был отмечен в 2021 г. – 3,2 [1,6÷4,8] на 100 тыс. населения; в 2022 г. произошёл очередной подъём заболеваемости (статистически значимый), показатель составил 54,0 [47,6÷61,6] на 100 тыс. населения (рис. 1).

ТАБЛИЦА 1

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ВНЕБОЛЬНИЧНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ СРЕДИ РАЗНЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ В СРАВНЕНИИ ПО ПЕРИОДАМ (НА 100 ТЫС. НАСЕЛЕНИЯ)

Группы населения	2011–2019 гг. (СМП)	2020 г.	2021–2022 гг. (СМП)
Совокупное население	528,4* [437,3÷619,5]	1400,5* [1385,8÷1415,2]	685,7* [454,8÷916,6]
Дети до 17 лет	928,5* [786,8÷1070,2]	732,4 [710,6÷754,2]	569,6* [488,3÷704,7]
Взрослое население (лица старше 18 лет)	411,3* [325,5÷497,1]	1613,1* [1595,1÷1631,1]	711,9* [350,7÷1073,1]

Примечание. СМП – среднегодовой показатель; * – статистически значимые различия по периодам наблюдения.

TABLE 1

INCIDENCE OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AMONG DIFFERENT POPULATION GROUPS COMPARED BY PERIODS (PER 100,000 POPULATION)

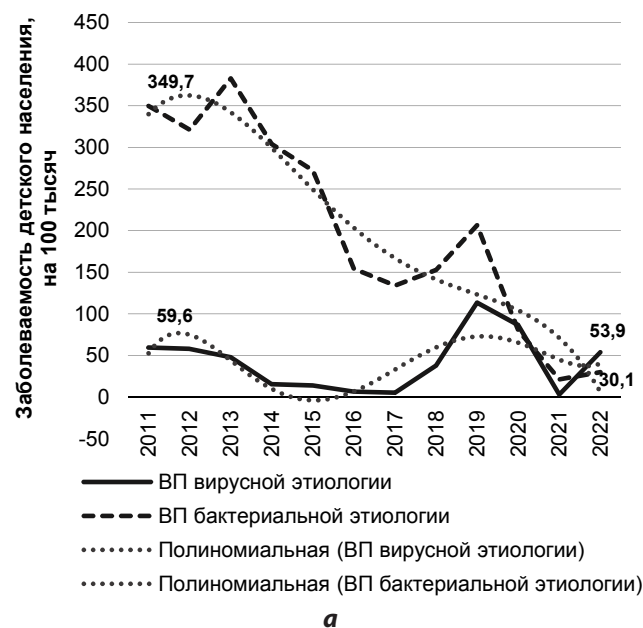


РИС. 1.

Многолетняя динамика заболеваемости внебольничными бактериальными и вирусными пневмониями детей (а) и взрослых (б) в Иркутской области за период 2011–2022 гг. (на 100 тыс. населения)

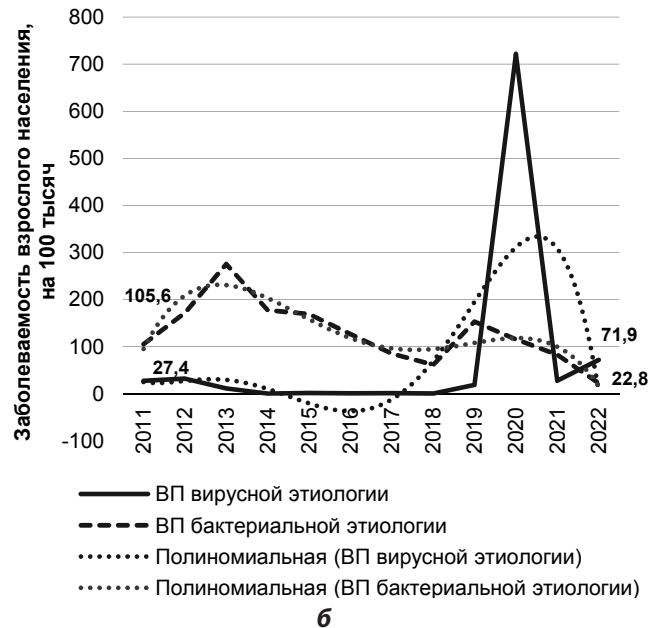


FIG. 1.

Long-term dynamics of the incidence of community-acquired bacterial and viral pneumonia in children (a) and adults (б) in the Irkutsk region over the period of 2011–2022 (per 100,000 population)

В структуре бактериальных ВП удельный вес ВПП был незначительным. Так, минимальный уровень был зарегистрирован в 2013 г. и составил 0,4 %, максимальный – в 2021 г. (11,0 %). По среднемуголетним значениям за анализируемый период доля ВПП составила 3,1 %, причём за период 2013–2019 гг. средний уровень был ниже, чем за период 2020–2022 гг. – 2,5 % и 4,6 % соответственно.

С 2013 г. в отчётной форме № 2 в Иркутской области регистрируются лабораторно подтверждённые случаи пневмококковой пневмонии. За период 2013–2022 гг. СМП среди совокупного населения был на уровне 3,2 [1,9÷4,5] на 100 тыс. населения, у детей и взрослых – 5,5 [2,0÷9,0] и 2,6 [1,4÷3,8] на 100 тыс. соответственно (различия статистически не значимы). Анализ сравнения многолетней динамики заболеваемости ВПП взрослого населения и детей показал неравномерное распределение показателей по годам с разнонаправленными

тенденциями. В динамике заболеваемости ВПП детей можно выделить следующие периоды: 2013–2017 гг. – снижение уровня заболеваемости (среднегодовой темп снижения составил 5,8 %, коэффициент регрессии –0,6); 2018–2019 гг. – значительный рост показателей (темп прироста ($T_{пр.}$) = 21,5 %; показатель заболеваемости – 12,3 [10,8÷13,8] и 19,3 [17,8÷20,8] соответственно); 2020–2022 гг. – резкое снижение уровня заболеваемости (темп снижения – 27,8 %). За период 2013–2022 гг. в динамике заболеваемости ВПП взрослого населения отмечено превышение СМП в 1,3 раза в 2015 г. и 2018 г. и в 3,7 раза – в 2021 г. В 2022 г. заболеваемость пневмококковыми пневмониями в группах сравнения была на уровне 0,5 на 100 тыс. (рис. 2).

Среди детей разных возрастных групп наибольшие уровни заболеваемости ВПП регистрировались в возрастных группах до 1 года и 1–2 года, СМП составил

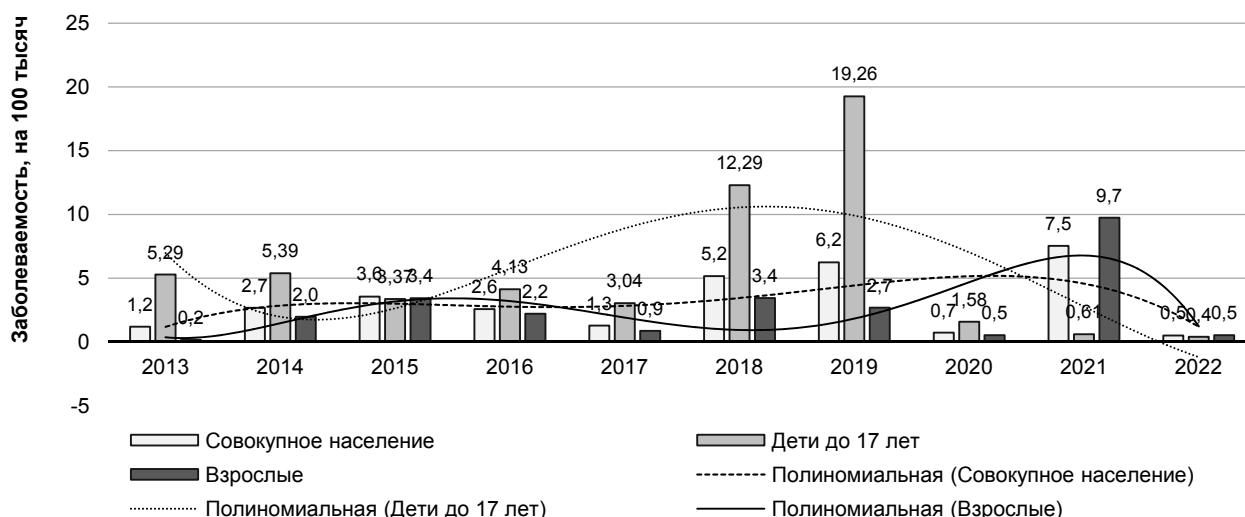


РИС. 2.
Многолетняя динамика заболеваемости внебольничными пневмококковыми пневмониями детского, взрослого и совокупного населения Иркутской области за период 2013–2022 гг. (на 100 тыс. населения)

FIG. 2.
Long-term dynamics of the incidence of community-acquired pneumococcal pneumonia in children, adults and in the total population of the Irkutsk region over the period of 2013–2022 (per 100,000 population)

ТАБЛИЦА 2
ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ВНЕБОЛЬНИЧНЫМИ ПНЕВМОКОККОВЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП В ДИНАМИКЕ ЗА 2013–2022 ГГ. (НА 100 ТЫС. СООТВЕТСТВУЮЩИХ ГРУПП ДЕТЕЙ; 95% ДИ)

TABLE 2
THE INCIDENCE OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMOCOCCAL PNEUMONIA IN CHILDREN OF DIFFERENT AGE GROUPS IN DYNAMICS FROM 2013 TO 2022 (PER 100,000 CHILDREN OF CORRESPONDING GROUPS; 95% CI)

Возрастные группы	Периоды			СМП
	2013–2017 гг.	2018–2019 гг.	2020–2022 гг.	
До 1 года	2,7 [1,1÷4,3]	51,8 [0÷153,3]	1,8 [0÷4,1]	12,1 [0÷31,8]
1–2 года	8,7* [5,0÷12,4]	57,2* [54,5÷59,9]	0,9 [0÷7,7]	17,1 [3,8÷30,4]
3–6 лет	3,2 [2,5÷4,9]	8,2 [1,6÷14,8]	0	3,2 [1,2÷4,3]
7–14 лет	3,7 [0,8÷6,6]	5,1 [0÷11,7]	0,5 [0,2÷0,8]	3,0 [0,9÷5,1]
15–17 лет	3,2 [0,5÷5,9]	2,9 [0÷8,5]	0,6 [0÷1,3]	2,3 [0,8÷3,8]

Примечание. * – статистически значимые различия по периодам наблюдения.

12,1 [0÷31,8] и 17,1 [4,1÷30,1] на 100 тыс. населения соответственно. Следует отметить, что в 2018–2019 гг. рост заболеваемости наблюдался среди детей всех возрастных групп. Максимальный уровень заболеваемости был зарегистрирован в 2019 г. у детей до 1 года и составил 103,7 на 100 тыс. населения (табл. 2).

Одним из важных направлений, характеризующих проявления эпидемического процесса инфекционного заболевания, является оценка уровня смертности населения. В 2020 г. показатель смертности от ВП был ниже уровня 2011–2019 гг. среди совокупного населения, детей и взрослых в 1,7, 7,8 и 1,7 раза соответственно. Напротив, в 2021 г. среди взрослого и совокупного населения показатель был выше уровня 2020 г. в 2,5 и 2,4 раза соответственно; уровня 2011–2019 гг. – в 1,4 раза. Удель-

ный вес бактериальных ВП в структуре смертности от ВП за период наблюдения варьировал от 7,4 до 18,1 %, причём минимальный уровень регистрировался в 2020–2021 гг. Уровень смертности от ВБП среди сравниваемых групп находился в пределах 0,5–4,8 на 100 тыс. населения. Среди детей за разные периоды показатель не превышал 1,0 на 100 тыс. населения, среди взрослых – отмечено снижение уровня смертности в 2020–2021 гг. (табл. 3).

Охват совокупного населения Иркутской области профилактическими прививками за анализируемый период находился на уровне 4,0–8,0 %. Объёмы вакцинации среди детей ежегодно увеличивались с 14,0 % до 22,0 %. Общее число привитых против ПИ среди совокупного населения за 2013–2022 гг. составило 401 812 че-

ТАБЛИЦА 3

СМЕРТНОСТЬ ОТ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ, В Т. Ч. БАКТЕРИАЛЬНЫХ, СРЕДИ РАЗНЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ В СРАВНЕНИИ ПО ПЕРИОДАМ (НА 100 ТЫСЯЧ НАСЕЛЕНИЯ)

Группы населения	2011–2019 гг. (СМП)		2020 г.		2021 г.	
	ВП	ВБП	ВП	ВБП	ВП	ВБП
Совокупное население	37,8* [35,4÷40,2]	3,8* [3,0÷4,6]	21,4* [19,6÷23,2]	1,7* [1,1÷2,3]	51,8* [48,9÷54,7]	2,2 [1,6÷2,8]
Дети до 17 лет	3,9* [2,3÷5,5]	0,4 [0÷0,8]	0,5* [0÷1,1]	0	1,2 [0,4÷2,0]	0,5 [0÷1,1]
Взрослое население (лица старше 18 лет)	47,8* [44,7÷50,9]	4,8* [3,8÷5,8]	27,2* [24,8÷29,6]	2,2* [1,6÷2,8]	67,7* [64,0÷71,4]	3,2 [2,2÷4,2]

Примечание. * – статистически значимые различия по периодам наблюдения.

TABLE 3

MORTALITY FROM COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA, INCLUDING BACTERIAL COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA, AMONG DIFFERENT POPULATION GROUPS COMPARED BY PERIODS (PER 100,000 POPULATION)



а

РИС. 3.

Многолетняя динамика заболеваемости внебольничными пневмониями и число привитых против пневмококковой инфекции детей (а) и взрослых (б) в Иркутской области за период 2013–2022 гг. (на 100 тыс. населения)



б

FIG. 3.

Long-term dynamics of the incidence of community-acquired pneumonia and the number of children (а) and adults (б) vaccinated against pneumococcal infection in the Irkutsk region over the period of 2013–2022 (per 100,000 population)

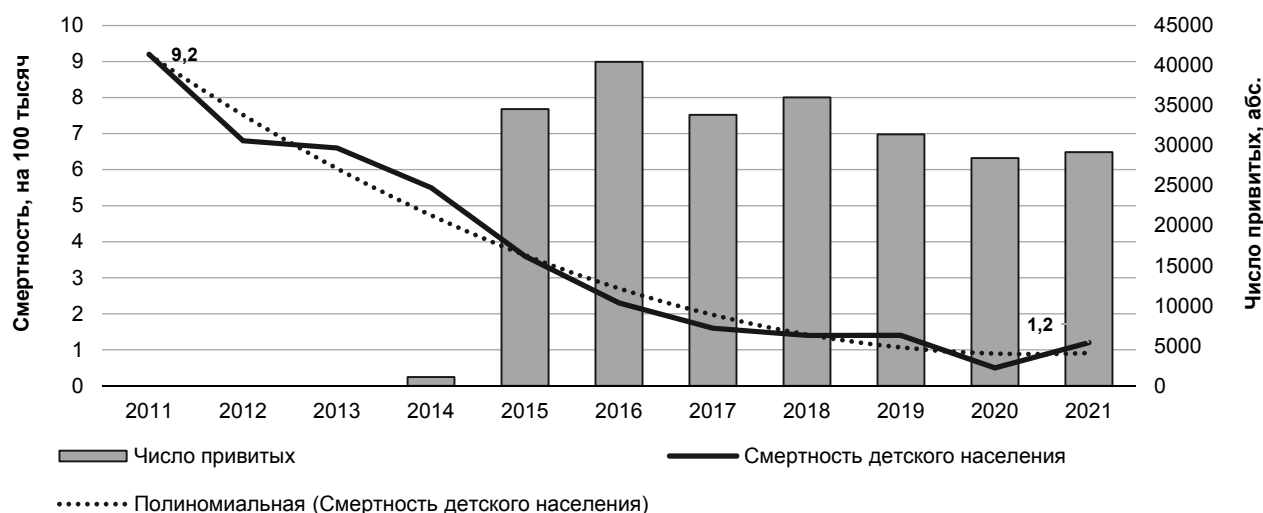


РИС. 4.

Многолетняя динамика смертности от внебольничных пневмоний и число привитых против пневмококковой инфекции детей в Иркутской области за период 2011–2021 гг. (на 100 тыс. населения)

FIG. 4.

Long-term dynamics of mortality from community-acquired pneumonia and the number of children vaccinated against pneumococcal infection in the Irkutsk region over the period of 2011–2021 (per 100,000 population)

люк (17,0 % от численности населения 2022 г.), среди них детей – 262 733 (53,4 % от численности детского населения 2022 г.).

Число вакцинированных против пневмококковой инфекции по годам было распределено неравномерно. Уровень заболеваемости ВП детей с начала вакцинации до 2022 г. снизился в 1,7 раза с 1266,6 [1254,9÷1278,3] до 715,3 [692,0÷738,6] ($p < 0,05$; рис. 3). За анализируемый период отмечена обратная корреляционная связь между числом привитых и заболевших детей ВП, ВБП и ВПП ($\rho = -0,555$; $\rho = -0,139$; $\rho = -0,382$ соответственно); различия статистически не значимы ($p > 0,05$). В отличие от детей, среди взрослого населения за аналогичный период заболеваемость ВП увеличилась в 1,2 раза – с 436,7 [427,5÷445,9] до 527,6 [517,3÷537,9] ($p < 0,05$). Между числом привитых и заболевших ВП, ВБП и ВПП установлена статистически не значимая прямая корреляционная связь ($\rho = 0,636$; $\rho = 0,345$; $\rho = 0,227$ соответственно; $p > 0,05$).

Одной из задач вакцинопрофилактики на современном этапе является снижение уровня смертности от инфекций. За период 2011–2019 гг. среди совокупного населения смертность от ВП снизилась с 56,1 [53,2÷59,0] до 15,2 [13,6÷16,8] на 100 тысяч (различия статистически значимы). По годам отмечена обратная корреляционная связь средней силы между числом привитых и уровнем смертности ($\rho = -0,614$; $p > 0,05$). В 2020–2021 гг. зарегистрирован рост показателя с максимальным значением в 2021 г. – 51,8 [48,9÷54,7] на 100 тыс. населения. Среди детей отмечалась выраженная тенденция к снижению данного показателя: среднегодовой темп снижения составил 8,4 %, коэффициент регрессии $-0,82$. В 2020 г. показатель был ниже уровня 2011 г. в 7,6 раза. Между числом привитых и умерших от ВП установлена обратная слабая корреляционная связь ($\rho = -0,214$; $p > 0,05$) (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Заболеваемость внебольничными пневмониями в Иркутской области регистрировалась на высоком уровне в разные периоды наблюдения. На фоне пандемии COVID-19 уровень заболеваемости увеличился, и изменились возрастные группы риска, что также отмечено в исследованиях [3, 7, 12]. В Иркутской области, как и в целом по РФ, в 2020 г. был зарегистрирован максимальный показатель заболеваемости ВП среди взрослого населения, что связано не только с избирательным действием вируса SARS-CoV-2, но и с подходами к статистическому учёту и регистрации инфекции COVID-19: данное заболевание не регистрировалось как самостоятельная нозологическая форма, и все проявления новой коронавирусной инфекции учитывались либо как внебольничные пневмонии, либо в группе острых респираторных инфекций верхних дыхательных путей [12]. Заболеваемость ВБП была выше в сравнении с вирусными среди разных групп населения. Так, среднеемноголетний показатель ВП бактериальной этиологии превышал таковой по ВП вирусной этиологии среди детей и взрослых в 4,8 и 1,7 раза соответственно; периоды роста и снижения в многолетней динамике совпадали. Данное распределение ВП по этиологическому агенту объясняется широким спектром типичных и «атипичных» бактерий и их ассоциаций (пневмококки, клебсиеллы, хламидии, микоплазмы, золотистый стафилококк, синегнойная палочка и др.) [1, 3].

Удельный вес лабораторно подтверждённых пневмококковых пневмоний и пневмококковой инфекции, по данным разных авторов, варьирует в пределах 4–45 % [3, 6, 13]. Результаты проведённого исследования демонстрируют крайне низкий удельный вес лабораторно подтверждённых случаев ВПП (0,4–6,4 %) из числа зарегистрированных со значительным увеличением (11,0 %)

в период распространения инфекции COVID-19, что, возможно, связано с увеличением количества проводимых лабораторных исследований [12].

Показано увеличение уровня заболеваемости ВПП у детей в 2018–2019 гг.; среднегодовой темп прироста составил 21,5 %. В регионе этот период характеризовался увеличением заболеваемости населения гриппом и респираторными инфекциями дыхательных путей [12]. Увеличение уровня заболеваемости ВПП у взрослых в 2021 г., вероятно, также связано с присоединением бактериальных инфекций в условиях распространения COVID-19 [7].

На фоне увеличения уровня заболеваемости сохранялся высокий уровень смертности от ВП. Среди взрослого населения в разные периоды показатели были значительно выше и варьировали в пределах от 27,2 до 67,7. Изучить динамику смертности от пневмококковых пневмоний по данным статистических отчетных форм не представляется возможным по причине отсутствия в них сведений. По результатам выборочных исследований, проведенных ранее в Иркутской области [14], удельный вес лабораторно подтвержденных случаев летальных пневмококковых пневмоний составил 30 %.

Согласно Приказу Минздрава России № 1122н, двукратной вакцинации против ПИ подлежат дети в возрасте 2 и 4,5 месяцев с последующей ревакцинацией в 15 месяцев. По эпидемическим показаниям вакцинация показана детям 2–5 лет и взрослым, относящимся к группам риска (лица старше 60 лет, страдающие хроническими заболеваниями легких, лица старше трудоспособного возраста, проживающие в организациях социального обслуживания, и лица, подлежащие призыву на военную службу). Для рутинной иммунизации детей рекомендованы к использованию пневмококковые конъюгированные вакцины (ПКВ), применение которых способствует снижению заболеваемости и носительства ПИ среди населения в целом. Для иммунизации взрослых из групп риска в зависимости от наличия или отсутствия иммунокомпрометирующих состояний и сопутствующих заболеваний рекомендовано однократное введение полисахаридной пневмококковой вакцины (ППВ) или последовательное введение ПКВ и ППВ с интервалом 1 год [3, 5, 15, 16].

В регионе охват профилактическими прививками против ПИ с начала введения вакцинации увеличился среди совокупного населения и детей до 8,0 и 22,0 % соответственно. Влияние вакцинации на заболеваемость ВП и ВПП показано в работах [5, 9, 15]. По результатам проведенного исследования было отмечено статистически значимое снижение бактериальных ВП среди разных групп населения (105,7 [101,2÷110,2] и 30,1 [27,6÷32,6] среди взрослых; 349,8 [332,4÷367,2] и 22,8 [18,7÷26,9] среди детей). Показатели заболеваемости ВПП регистрировались на порядок ниже и в динамике были распределены неравномерно. При этом отмечалась обратная корреляционная связь с числом привитых ($r = -0,382$; $p > 0,05$). Одной из причин увеличения уровня заболеваемости взрослых ВП на фоне проводимой вакцина-

ции против ПИ и других инфекционных заболеваний (грипп, COVID-19) может быть сложность организации прививочной работы среди данных групп населения, в том числе увеличение показателей охвата профилактическими прививками вследствие низкой приверженности вакцинации [17].

Снижение смертности от пневмоний на фоне проводимой вакцинации отчетливо прослеживается и согласуется с данными других исследователей [1, 3, 16]. По годам между числом привитых и числом умерших от ВП среди совокупного населения и среди детей отмечена обратная заметная корреляция (различия статистически не значимы; $p > 0,05$), что, вероятно, связано с небольшим периодом наблюдения. Безусловно, на снижение смертности от ВП оказывают влияние и другие лечебно-диагностические и профилактические мероприятия. При этом не следует исключать вакцинацию населения против ПИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на высокие уровни заболеваемости ВП, установлено статистически значимое снижение заболеваемости ВП бактериальной этиологии среди разных возрастных групп населения. Снижение смертности от ВП продолжилось с начала введения вакцинации против ПИ. Однако незначительный удельный вес пневмококковых пневмоний в структуре ВП, неравномерное распределение показателей заболеваемости по группам населения, отсутствие регистрации ВПП в качестве причины смерти в статистических формах Росстата затрудняют оценку объективной эпидемиологической ситуации и эффективности проводимой вакцинации.

Полученные результаты исследования могут быть использованы на региональном уровне для оптимизации эпидемиологического надзора, прежде всего, в части микробиологического мониторинга случаев заболеваний и смерти от ВП, ВБП, ВПП; а также эпидемиологического контроля за ВП, направленного на увеличение охвата профилактическими прививками против ПИ разных групп населения, своевременности иммунизации и формирование приверженности вакцинации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Биличенко Т.Н., Чучалин А.Г. Заболеваемость и смертность населения России от острых респираторных вирусных инфекций, пневмонии и вакцинопрофилактика. *Терапевтический архив*. 2018; (1): 22–26. [Bilichenko TN, Chuchalin AG. Morbidity and mortality of the Russian population from acute respiratory viral infections, pneumonia and vaccination. *Terapevticheskii arkhiv*. 2018; (1): 22–26. (In Russ.).]

2. Tsai D, Chiong F, Secombe P, Hnin KM, Stewart P, Goud R, et al. Epidemiology and microbiology of severe community-acquired pneumonia in Central Australia: A retrospective study. *Intern Med J.* 2022; 52(6): 1048-1056. doi: 10.1111/imj.15171
3. Брико Н.И., Коршунов В.А., Ломоносов К.С. Пневмококковая инфекция в российской федерации: состояние проблемы. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2021; 1(76): 28-42. [Briko NI, Korshunov VA, Lomonosov KS. Pneumococcal infection in Russia: State of the issue. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2021; 1(76): 28-42. (In Russ.)].
4. Theilacker C, Sprenger R, Leverkus F, Walker J, Häckl D, von Eiff C, et al. Population-based incidence and mortality of community-acquired pneumonia in Germany. *PLoS One.* 2021; 16(6): e0253118. doi: 10.1371/journal.pone.0253118
5. Вакцинация против пневмококковой инфекции детей и взрослых: успехи и достижения. *Педиатрическая фармакология.* 2022; 2(19): 205-209. [Capabilities of atopic dermatitis systemic therapy with selective immunosuppressors: Resolution of the experts workshop of dermatology profile. *Pediatric Pharmacology.* 2022; 19(2): 209-211. (In Russ.)]. doi: 10.15690/pf.v19i2.2424
6. Протасова И.Н., Ильенкова Н.А., Соколовская Е.С. Эпидемиология серотипов пневмококка у детей с внебольничной пневмонией и носителей в г. Красноярске. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2019; (4): 78-82. [Protasova IN, Ilyenkova NA, Sokolovskaya ES. Epidemiology of pneumococcal serotypes in children with outpatient pneumonia and carriers in Krasnoyarsk. *Pacific Medical Journal.* 2019; (4): 78-82. (In Russ.)]. doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-78-82
7. Костинов А.М., Костинов М.П., Машиллов К.В. Пневмококковые вакцины и COVID-19 – антагонизм. *Медицинский совет.* 2020; (17): 66-73. [Kostinov AM, Kostinov MP, Mashilov CV. Antagonism between pneumococcal vaccines and COVID-19. *Medical Council.* 2020; (17): 66-73. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-17-66-73
8. Егоров А.Ю. Проблема бактериальных осложнений при респираторных вирусных инфекциях. *Microbiology Independent Research Journal (MIR Journal).* 2018; 5(1): 1-11. [Egorov AYU. The problem of bacterial complications post respiratory viral infections. *Microbiology Independent Research Journal (MIR Journal).* 2018; 5(1): 1-11. (In Russ.)]. doi: 10.18527/2500-2236-2018-5-1-1-11
9. Семериков В.В., Zubova E.C., Софронова Л.В. Влияние селективной и массовой стратегии иммунизации детей против пневмококковой инфекции на заболеваемость и смертность внебольничной пневмонией среди детей до 5 лет. *Педиатрическая фармакология.* 2019; 16(4): 216-228. [Semerikov VV, Zubova ES, Sofronova LV. The effect of selective and mass immunization against pneumococcal infection on the morbidity and mortality due to community-acquired pneumonia in children under 5 years of age. *Pediatric Pharmacology.* 2019; 16(4): 216-228. (In Russ.)]. doi: 10.15690/pf.v16i4.2051
10. Демко И.В., Корчагин Е.Е., Гордеева Н.В., Крапошина А.Ю., Соловьева И.А. Опыт вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции у взрослых на примере Красноярского края. *Пульмонология.* 2017; 27(1): 21-28. [Demko IV, Korchagin EE, Gordeeva NV, Kraposhina AYU, Solov'eva IA. An experience of vaccination against pneumococcal infection of adults at Krasnoyarsk krai. *Pulmonologiya.* 2017; 27(1): 21-28. (In Russ.)]. doi: 10.18093/0869-0189-2017-27-1-21-28
11. Lawrence H, Pick H, Baskaran V, Daniel P, Rodrigo C, Ashton D, et al. Effectiveness of the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine against vaccine serotype pneumococcal pneumonia in adults: A case-control test-negative design study. *PLoS Med.* 2020; 17(10): e1003326. doi: 10.1371/journal.pmed.1003326
12. Кравченко Н.А., Гаврилова Т.А., Хакимова М.И. Гаврилова Т.А., Зайкова З.А., Ботвинкин А.Д. Динамика заболеваемости и этиологической структуры острых респираторных инфекций накануне и в первый год распространения COVID-19 в Иркутской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2022; 3(21): 50-62. [Kravchenko NA, Kazanova VB, Khakimova MI, Gavrilova TA, Zaikova ZA, Botvinkin AD. Dynamics of morbidity and etiological structure of acute respiratory infections on the eve and in the first year of COVID-19 in the Irkutsk region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2022; 21(3): 50-62. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-3-50-62
13. Desmet S, Lagrou K, Wyndham-Thomas C, Braeye T, Verhaegen J, Maes P, et al. Dynamic changes in paediatric invasive pneumococcal disease after sequential switches of conjugate vaccine in Belgium: A national retrospective observational study. *Lancet Infect Dis.* 2021; 21(1): 127-136. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30173-0
14. Кравченко Н.А., Яковенко О.Н., Свистунов В.В., Белинская Е.И., Коган Г.Ю., Карноухова О.Г., и др. Этиология летальных пневмоний по результатам микробиологических и молекулярно-генетических исследований секционного материала. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2016; (4): 93-99. [Kravchenko NA, Yakovenko ON, Svistunov VV, Belinskaya EI, Kogan GYu, Karnoukhova OG, et al. Etiology of lethal pneumonia by results of microbiological and molecular and genetic researches of sectional material. *Infectious diseases: News, Opinions, Training.* 2016; (4): 93-99. (In Russ.)].
15. Елкина Т.Н., Пирожкова Н.И., Грибанова О.А., Грибанова А.С. Эффективность специфической профилактики пневмококковой инфекции у детей, посещающих дошкольные учреждения. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2021; 3(86): 63-70. [Elkina TN, Pirozhkova NI, Gribanova OA, Gribanova AS. Efficiency of the specific prevention of pneumococcal infection in children attending preschool institutions. *Mother and Baby in Kuzbass.* 2021; 3(86): 63-70. (In Russ.)].
16. Федосеенко М.В. Профилактика пневмококковой инфекции у детей – положительное влияние на популяцию в целом. *Вопросы современной педиатрии.* 2008; 6(7): 66-71. [Fedoseenko MV. Prophylaxis of pneumococcal infection in children has positive effect on all population. *Current Pediatrics.* 2008; 7(6): 66-71. (In Russ.)].
17. Брико Н.И., Миндлина А.Я., Галина Н.П., Коршунов В.А., Полибин Р.В. Приверженность различных групп населения иммунопрофилактике: как изменить ситуацию? *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2019; 4(4): 8-18. [Briko NI, Mindlina AYU, Galina NP, Korshunov VA, Polibin RV. Adherence to immunoprevention: How to change the situation? *Fundamental and Clinical Medicine.* 2019; 4(4): 8-18. (In Russ.)]. doi: 10.23946/2500-0764-2019-4-4-8-18

Сведения об авторах

Баянова Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: bayanova_tanya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4289-3460>

Стукова Екатерина Сергеевна – врач-эпидемиолог, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», e-mail: katya.stu.med@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-6406-3353>

Кравченко Наталья Александровна – ассистент кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tasha_v_gorode@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9839-6629>

Information about the authors

Tatyana A. Bayanova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: bayanova_tanya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4289-3460>

Ekaterina S. Stukova – Epidemiologist, Center of Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk Region, e-mail: katya.stu.med@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-6406-3353>

Natalya A. Kravchenko – Teaching Assistant at the Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: tasha_v_gorode@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9839-6629>

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

К 500-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ГАБРИЭЛЕ ФАЛЛОПИО (1523–1562)

РЕЗЮМЕ

Фоминых Т.А.,
Кутя С.А.,
Уланов В.С.,
Мороз Г.А.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный
университет имени В.И. Вернадского»
(295007, Республика Крым,
г. Симферополь,
пр. Академика Вернадского, 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кутя Сергей Анатольевич,
e-mail: sergei_kutya@mail.ru

Статья посвящена 500-летию со дня рождения величайшего врача и учёного XVI века Габриэле Фаллопио (Фаллопия), революционера-морфолога, внесшего неоценимый вклад в развитие науки, одного из основателей фундаментальной анатомии. И хотя прежде всего Фаллопий известен как анатом, описавший маточные («фаллопиевы») трубы, круг интересов учёного был гораздо шире, а вклад в анатомию – несоизмеримо более значительным. Фаллопий сделал множество важных открытий в анатомии, ряд анатомических структур носят его имя. Кроме того, Габриэле Фаллопио был талантливым педагогом и известным практикующим врачом, хирургом и фармацевтом. Особо следует отметить, что Фаллопий считал себя учеником Андреаса Везалия. Данных, подтверждающих факт личного знакомства Фаллопия и Везалия, не имеется, но есть документальное подтверждение кратковременной переписки упомянутых учёных. В своём знаменитом труде «Анатомические наблюдения» («*Observationes anatomicae*», 1561) Фаллопий указал на ошибки Везалия и его неточности в анатомических описаниях, подвергнув корректной критике везалиевскую «*De humani corporis fabrica*». Сохранился ответ Везалия с комплиментами в адрес Фаллопия как учёного. В любом случае, несомненным фактом является то, что Фаллопий был приверженцем методов Везалия в прикладной науке и преподавании анатомии и последовательно внедрял их в практику на протяжении всей своей жизни.

Ключевые слова: история анатомии, история медицины, Габриэле Фаллопио, фаллопиевы трубы, медицинская терминология

Статья поступила: 30.05.2023

Статья принята: 04.03.2024

Статья опубликована: 26.03.2024

Для цитирования: Фоминых Т.А., Кутя С.А., Уланов В.С., Мороз Г.А. К 500-летию со дня рождения Габриэле Фаллопио (1523–1562). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 251–258. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.25

TO THE 500TH ANNIVERSARY OF THE BIRTH OF GABRIELE FALLOPPIO (1523–1562)

**Fominykh T.A.,
Kutia S.A.,
Ulanov V.S.,
Moroz G.A.**

V.I. Vernadsky Crimean Federal University
(Vernadskogo ave. 4, Simferopol 295007,
Republic of Crimea, Russian Federation)

Corresponding author:
Sergey A. Kutia,
e-mail: sergei_kutya@mail.ru

ABSTRACT

The article is dedicated to the 500th anniversary of the birth of the greatest physician and scientist of the 16th century Gabriele Falloppio (Fallopius), a revolutionary morphologist who made an invaluable contribution to the development of science, and one of the founders of fundamental anatomy. Although Falloppio is primarily known as an anatomist who described the uterine ("fallopian") tubes, his range of interests was much wider, and his contribution to anatomy was substantially more significant. Fallopius made many important discoveries in anatomy, and a number of anatomical structures bear his name. Also, Gabriele Falloppio was a talented teacher and a renowned medical practitioner, surgeon and pharmacist. It should be especially noted that Fallopius considered himself an apprentice of Andreas Vesalius. There is no data confirming the fact of their personal acquaintance, but there is documentary evidence of short-term correspondence between Fallopius and Vesalius. In his famous work "Anatomical observations" ("Observationes anatomicae", 1561), Fallopius pointed out Vesalius' mistakes and inaccuracies in anatomical descriptions, subjecting his "De humani corporis fabrica" to correct criticism. Vesalius' reply with compliments to Fallopius as a scientist has been preserved. In any case, the undoubted fact is that Fallopius was an adherent of Vesalius' methods in applied science and the teaching of anatomy, and consistently introduced them into practice throughout his life.

Key words: history of anatomy, history of medicine, Gabriele Falloppio, fallopian tubes, medical terminology

Received: 30.05.2023
Accepted: 04.03.2024
Published: 26.03.2024

For citation: Fominykh T.A., Kutia S.A., Ulanov V.S., Moroz G.A. To the 500th anniversary of the birth of Gabriele Falloppio (1523–1562). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(1): 251-258. doi: 10.29413/ABS.2024-9.1.25

В 2023 году исполняется 500 лет со дня рождения Габриэле Фаллопио (Gabriele Falloppio, или лат. Fallopius – Фаллопий; 1523–1562) (рис. 1), выдающегося врача и морфолога, по праву считающегося одним из отцов фундаментальной анатомии.



РИС. 1.
Габриэле Фаллопио из Модены (Gabriele Fallopius Mutinensis). Портрет из библиотеки ботанического сада Падуанского университета, Италия [1]

FIG. 1.
Gabriele Falloppio from Modena (Gabriele Fallopius Mutinensis). Portrait from the library of Botanical Garden of the University of Padua, Italy [1]

На протяжении 1400 лет анатомы и хирурги, слепо следуя объёмистым трудам Галена (131–201), «видели то, во что верили» [2]. Гален много препарировал и экспериментировал, в основном на свиньях и обезьянах, поскольку в те времена вскрытие человека было запрещено, что и стало причиной ошибочности многих его воззрений. В его сочинениях было много превосходного – хорошие описания скелетной и мышечной систем, экспериментальные исследования функций спинного мозга путём его деления на последовательные уровни у свиньи и так далее. Однако его взгляды на кровообращение, например, были чистой догадкой, не говоря уже о том, что в силу недостатка человеческого материала для изучения Галену приходилось экстраполировать особенности строения органов

животных на анатомию человека [3]. На протяжении веков изучение анатомии человека сводилось к зачитыванию профессором галеновских текстов и зазубриванию их студентами, а вскрытие, если оно вообще проводилось, выполнялось помощником (демонстратором). Профессор, например, описывал почку как дольчатую, а печень – как состоящую из пяти сегментов (как у свиньи и, соответственно, как в описаниях Галена), хотя оба представленных во время вскрытия органа были гладкими.

В конце первой половины XVI в. Андреас Везалий (1514–1564) произвёл революцию в традиционных методах обучения. Он преподавал в Падуе, где в возрасте 23 лет был назначен профессором анатомии. Везалий лично препарировал человеческое тело и внушал своим ученикам истину, что необходимо не «видеть то, во что они верят», а «верить в то, что видят». Одной из заслуг Везалия является то, что он посмел подвергнуть критике анатомические воззрения Галена [4–7].

После ухода Везалия с кафедры в 1544 г. это место занял его ученик Маттео Реальдо Коломбо (1516–1559), продолживший традиции преподавания своего учителя. Вскоре Коломбо перешёл на кафедру анатомии в Пизе, а затем в Риме, и в Падуе его заменил другой последователь Везалия, Габриэле Фаллопио, более известный под своим латинизированным именем Фаллопий. Он поступил на должность профессора анатомии и хирургии, а также возглавил кафедру ботаники (в те времена один разносторонне одарённый учёный нередко занимал несколько постов).

Габриэле Фаллопио родился в 1523 году в Модене, старинном городе Эмилии-Романьи (Италия). Он был выходцем из обедневшей дворянской семьи. Его отец Джироламо Фаллопио был по профессии ювелиром, но в течение ряда лет состоял на военной службе. Известно также, что мать будущего светила науки звали Катерина Бергоцци. После смерти отца от сифилиса семья совсем обнищала, Габриэле из-за материальных проблем не смог продолжить начатое гуманитарное образование и в 1542 г. стал священником по примеру своего дяди в его приходе епископальной церкви в Модене. Однако священнослужительство не увлекало молодого Фаллопия, хоть и поправило его финансовое положение. Через несколько лет он отказался от своего сана и решил посвятить себя медицине [8, 9].

Получив начальное гуманитарное образование, Фаллопий увлёкся анатомией, и, так как в Модене не было медицинских учебных заведений, он самостоятельно штудировал тексты Галена и Беренгарио да Карпи, параллельно проводя вскрытия животных с учебной целью [10, 11]. В 1544 г. в возрасте 21 года Фаллопий под руководством Никколо Мачеллы осуществил своё первое вскрытие трупа человека. В те времена, несмотря на либерализацию отношения церкви к анатомическим диссекциям (первым разрешил вскрытие человеческих трупов, а именно тел казнённых преступников, папа римский Сикст IV (1471–1484), затем рамки возможностей проведения диссекций позволил расширить папа римский Климент VII), разрешение препарировать человеческое тело редко кому удавалось получить, и нужно было иметь, кроме большого желания изучать анатомию, ещё и влиятельных друзей, чтобы осуществить свои на-

мерения [10, 12]. И всё-таки XVI век ознаменовался широким доступом учёных-морфологов к диссекции человеческого тела, что привело к значительному прогрессу в развитии анатомии и медицинской науки в целом.

В 1545 г. Фаллопий переехал в Феррару, где его преподавателями стали Джованни Баттиста Канано (1515–1579) и Антонио Муса Брассавола (1500–1555), известный хирург, впервые успешно выполнивший трахеотомию. Параллельно с обучением Фаллопий некоторое время занимался хирургией, но из-за ряда летальных исходов отказался от практики и возобновил её только после того, как несколько лет спустя был назначен заведующим кафедрой анатомии и хирургии в Падуе. В Ферраре с 1548 по 1549 год Фаллопий исполнял обязанности заведующего кафедрой фармации [9].

После Феррары Фаллопий продолжил свою деятельность в Пизанском университете, где в 1549 г. по рекомендации герцога Флорентийского Козимо Медичи он стал лектором и получил звание профессора анатомии [13]. Здесь он возобновил хирургическую практику и преподавал анатомию до 1551 г. Нужно отметить, что, несмотря на усилия руководства университета вернуть старые способы обучения, основанные на текстах Галена, Фаллопий преподавал в прогрессивном стиле школы Андреаса Везалия, в чём был горячо поддержан местными студентами. Сохранилась история о том, как в 1555 г. университетские власти попытались возродить старый стиль анатомирования, предписанный уставом, т. е. младший преподаватель должен был читать «Анатомию» Мондино, а старший, профессор Веттор Тринкавелла (1490–1563), – теоретические лекции. Таким образом, роль Фаллопия как анатома была бы принижена. В конце концов выступление Тринкавеллы было прервано студентами, громко распевающими «*vogliamo il Fallopio*» («мы хотим Фаллопио»), после чего анатомия была полностью в его руках [14]. Фаллопий был очень ярким преподавателем, своим характером и манерами он производил на своих современников неизгладимое впечатление, тем более в сочетании с новаторским подходом к учебному процессу [3].

Параллельно с преподаванием Фаллопий продолжил научные изыскания, вскрывая с разрешения Медичи трупы львов во флорентийском зоопарке, в результате чего опроверг мнение Аристотеля о том, что у этих животных отсутствует костный мозг [14]. Находясь в Пизе, Фаллопий проводил эксперименты, изучая воздействие опиума, который применялся в то время для осуществления казни приговорённых к смерти; в результате учёного обвинили в вивисекции человека (в те времена подобное случалось с учёными-морфологами, в частности с Везалием).

Затем Фаллопий переехал в Падую, где в 1551 году по распоряжению венецианского сената возглавил кафедру анатомии, хирургии и ботаники в знаменитом университете. В 1556 году Фаллопий был принят в состав Медицинской коллегии Венеции. На протяжении всей своей деятельности Фаллопий проводил достаточно много диссекций тел людей (ему позволяли вскрывать до 7–8 трупов в год) и животных – не только взрослых, но и плодов, новорождённых, младенцев и детей, – что позволило ему накопить большой информационный багаж по анатомии [9].

В 1561 году Фаллопий опубликовал свой труд «Анатомические наблюдения» («*Observationes anatomicae*»). Изначальным замыслом было издание объёмного иллюстрированного трактата, но друг учёного Пьетро Манна (врач герцога Миланского Франческо Сфорца) посоветовал не затягивать с публикацией своих открытий, иначе кто-то из современников-коллег опередит его. Благодаря этому в скором времени была издана небольшая книга без иллюстраций, оказавшаяся впоследствии единственной из напечатанных при жизни Фаллопия и посвящённая его другу Пьетро Манна [10, 11]. В этой работе в лучших везалианских традициях описывается ряд сделанных им открытий в области анатомии человека. К ним относится подробное описание канала лицевого нерва («фаллопиев водопровод» или «*aquaeductus Fallopii*») и барабанной струны (ветви лицевого нерва), а также «фаллопиевой расщелины» (в ней проходит большой каменистый нерв), костного лабиринта внутреннего уха и, в частности, полукружных каналов и улитки. Он впервые описал барабанную перепонку и её взаимоотношения с окружающими костными структурами. На тот момент были известны две слуховые косточки, и Фаллопий является первооткрывателем третьей из них – стремени. Он также описал круглые и овальные окна (*fenestrae*) и их сообщение с преддверием и улиткой. Фаллопий впервые обнаружил сообщение между ячейками сосцевидного отростка и средним ухом [9]. Эти открытия удалось осуществить благодаря особо тщательному методу препарирования, разработанному Фаллопием и кардинально отличавшемуся от методик его предшественников, которые традиционно исследовали полость черепа во время вскрытия в последнюю очередь, что не оставляло шансов на свежесть содержимого черепной коробки. Кроме того, Фаллопий использовал наиболее щадящие методы доступа к основанию мозга и использовал специальный остро заточенный миниатюрный инструментарий [10]. Фаллопий более тщательно по сравнению с другими исследователями изучил пути оттока слёзной жидкости, описал топографию решетчатой кости и сообщения её ячеек с полостью носа, а также строение клиновидной кости. Также впервые Фаллопий описал мышцы мягкого нёба, глотки и пирамидальную (впоследствии фаллопиеву) мышцу [9]. Он был первым, кто описал анастомотическое артериальное кольцо на основании мозга, известное в настоящее время как Виллизиев круг (многоугольник), в 1561 году, почти за сто лет до Томаса Уиллиса (1621–1675) [15]. В книге, кроме вышеуказанных тем, есть раздел с подробным описанием анатомии женских половых органов – влагалища, девственной плевы, яичников, клитора, и, конечно же, маточных труб, получивших впоследствии название в честь учёного «фаллопиевы трубы» [6, 9]. С переводом на русский язык фрагмента с описанием маточной трубы можно ознакомиться в нашей предыдущей работе [16]. Более того, Фаллопий описал акушерскую аномалию, при которой имплантация эмбриона осуществляется в одной из труб (внематочная, или трубная, беременность). Справедливости ради нужно отметить, что маточные трубы, хоть и названы в честь Фаллопия его именем, более чем на 1800 лет ранее были описаны Герофилом (хотя последний ошибочно полагал,

что функциональная роль труб сводится к транспорту «женской спермы» из яичников в мочевого пузыря). Данную ошибку исправил много столетий спустя именно Фаллопий. А вот паховая связка по праву должна была бы называться фаллопиевой (хотя в ряде источников паховые связки называются «фаллопиевы дуги»), т. к. наш герой описал её за полвека до французского анатома Франсуа Пупарта (1661–1709) [12, 17, 18]. Особо следует отметить, что Фаллопий, подобно Галену и Везалию, нашёл сходство между мужской и женской половыми системами и отмечал аналогии между клитором и пенисом, а также общие структурные черты маточных труб и семявыносящих протоков, но трактовал он сходство и различие более верно [9]. Учёный опроверг мнение о том, что яичник содержит сперму и что маточные трубы – функциональный аналог мужских семявыносящих протоков; в своей книге в 1561 г. он писал, что яичник содержит яйцеклетки, которые оплодотворяются мужской спермой [13].

Интересы Фаллопия охватывали практически все системы человеческого организма: нервную, сосудистую, пищеварительную, мочевую репродуктивную, – а также закономерности их развития. Он описал илеоцекальный (названный в его честь фаллопиевым) клапан, обнаружил *valvulae conniventes* и ворсинки тонкой кишки. Он также уделил много внимания тонкостям строения почек (впервые описав канальцы и чашечки), мочеточников и мочевого пузыря, первым указав на трёхслойную архитектуру его мышечной оболочки [9]. Фаллопий внёс весомый вклад в анатомическую терминологию: дал научные названия (которые сохранились и поныне) влагалищу и плаценте, предложил термины «улитка», «лабиринт», «твёрдое и мягкое нёбо», «барабанная перепонка», «перстневидный хрящ». Его описания блокового, тройничного, преддверно-улиткового и языкоглоточного нервов были лучшими для своего времени [3]. Хотя это и не был систематический учебник, он охватывал широкий круг предметов с упором на скелет, особенно череп, и мышцы. Кроме вышеперечисленных органов и структур, книга содержит описания сонных и позвоночных артерий, мышц головы и шеи (в том числе мышц наружного уха и жевательной мускулатуры), а также мышц глазного яблока, некоторых мышц туловища и конечностей. Коснулся учёный также особенностей строения кожи головы и её лицевого отдела [9, 14].

Фаллопий заложил основы эмбриологии, исследуя процесс развития зубов (описал зачаток зуба и процесс замены молочных зубов постоянными) и механизмы первичного и вторичного окостенения в грудине, костях черепа и тазовой кости [6, 9]. Он пытался объяснить закономерности развития организма, изучая анатомию зародышей, плодов, детей и взрослых, внедряя таким образом эмбриологию как метод изучения анатомии. Затем этот метод был усовершенствован двумя его самыми известными учениками, Иеронимом Фабрицием (Fabricius ab Aquapendente или Girolamo Fabrizi d'Acquapendente, 1533–1619) и Волхером Койтером (Volcher Coiter (Koyter), 1534–1576) [12].

Известно, что Габриэле Фаллопио считал себя учеником Везалия. Несмотря на то, что в действительности

сти их знакомство ограничилось короткой перепиской, в феврале 1561 года Везалий получил копию книги Фаллопио «Анатомические наблюдения» с дополнениями и исправлениями к везалиевской «Фабрике». К концу года Везалий составил ответ «Anatomicarum Gabrielis Fallopii Observum Examen», обычно именуемый «Examen». Везалий был весьма расстроен опрометчивой самонадеянностью Фаллопия критиковать его, в своём письме он довольно неуклюже и безуспешно пытался опровергнуть доводы итальянца. Но, несмотря на это, он признал Фаллопия как равного в анатомической секционной практике [7, 13]. В тяжёлые для Андреаса Везалия времена, когда от него практически все отвернулись, и, в частности, упомянутый Коломбо стал одним из самых рьяных критиков и гонителей учёного, один лишь Габриэле Фаллопио не просто не отрёкся от Везалия, а, придя на должность своего предшественника по кафедре в падуанском университете Реальдо Коломбо, назвал себя последователем и учеником Везалия и восстановил его традиции в преподавании и науке [19].

Несмотря на то, что Фаллопий был ревностным последователем Везалия, в своей книге он отметил ряд ошибок и неточностей, допущенных его кумиром, однако указывал на них в мягкой дружеской манере, в отличие от его гораздо более жёстких в этом плане современников, в том числе и самого Везалия, довольно резко критиковавшего Галена. В частности, Фаллопий уточнил информацию о строении и функции круглой связки матки, которую Везалий ошибочно считал мышцей; также Фаллопий определил, что нижняя полая вена дренирует кровь из печени, а не из сердца, и указал правильное направление оттока желчи (Везалий полагал, что желчные протоки открываются в желудок). Историки медицины считают, что Фаллопий сделал больше открытий, чем Везалий, и исследования Фаллопия являются более точными. Например, Даремберг (Daremborg C.V., 1817–1872) в своей книге «Histoire des Sciences Medicales» (Paris: Baillie're, 1870) утверждает: «У Фаллопия был гений изобретательства, Везалий – гений метода; иначе говоря, у Фаллопия был гений, у Везалия было только знание». И если в честь Фаллопия названо множество анатомических образований, то именем Везалия – лишь маленькое непостоянное отверстие в большом крыле клиновидной кости. Фаллопий, правда, не опубликовал такого объёмистого труда, как Везалий, и не придавал большого значения иллюстрациям, но он был самым серьёзным исследователем анатомии, «великим неутомимым изобретателем», как называл его Галлер (Albrecht von Haller, 1708–1777), и в полемике с Фаллопием беспристрастный критик Везалий признает, что его оппонент часто был прав [5, 20].

В своей книге Фаллопий вслед за Везалием исправлял ошибки Галена, который основывал большую часть своих наблюдений на результатах вскрытия животных. Для этого нужна была особая смелость, т. к. в те времена идеи Галена были главенствующими в анатомической науке, и противоречить им было равносильно ереси. Гален, в частности, считал, что нижняя челюсть состоит из двух костей, грудина – из семи фрагментов, а плече-

вая кость является второй по размерам в теле после бедренной. Эти (и ряд других) заблуждения были исправлены Фаллопием [4, 9, 20].

Кроме «Observationes anatomicae», уже после смерти Фаллопия были изданы книги по анатомии «Exsilio in librum Galeni de ossibus» (1570), «Observationes de venis» (1570), «De humani corporis anatome compendium» (1571) и «De partibus Similaribus humani corporis» (1575), основанные на конспектах его лекций [8].

Будучи превосходным морфологом, Фаллопио был также не менее выдающимся клиницистом. Он установил единство проявлений болезни и опроверг гипотезы других учёных, основывавших её возникновение на расстройстве циркуляции и взаимоотношений основных «гуморов» (жидкостей) [20]. Среди наиболее известных исследований Фаллопия значится изучение клиники, дифференциальной диагностики и методов лечения сифилиса. И, следует отметить, пожалуй, самое знаменитое его клиническое достижение – внедрение в практику презерватива и параллельно проведённое одно из первых в то время клинических исследований. По словам самого учёного, он испытал эффективность предложенного им «приспособления» – маленького полотняного мешочка, пропитанного специальным составом – на 1100 мужчинах, вступавших в интимные отношения с куртизанками, которые были больны сифилисом, и по-

сле этого надевавших мешочек на орган для обеззараживания. В результате (со слов того же Фаллопия) ни один из участников эксперимента не заразился свирепствовавшей в те времена болезнью. Трактат «De Morbo Gallico Liber Absolutissimus» был опубликован в 1564 году и затем неоднократно переиздавался [8] (рис. 2).

Ещё одним важным вкладом Фаллопия в клиническую практику были методы лечения носовых полипов: он первым среди врачей использовал ушное зеркало и применял серную кислоту для удаления полипов из наружного слухового прохода. Он написал, но не успел опубликовать ряд практических пособий: трактаты о язвах, опухолях и по хирургии, несколько терапевтических трактатов – о ваннах и термальных водах, о слабительных средствах и о составе лекарств, а также свод комментариев к книге Гиппократов «О ранах головы». Эти документы представляли собой рукописи лекций Фаллопия. В 1575 году, спустя годы после смерти автора, они были опубликованы в Нюрнберге Волхером Койтером [8, 9, 16, 22]. В отношении инфекционных болезней Фаллопий, признавая индивидуальные различия в восприимчивости, заявлял, что на десять человек, подвергшихся воздействию инфекции, едва ли приходится четверо, которые заразятся; таким образом, его большой авторитет способствовал ослаблению ужаса, который Италии внушали эпидемии. Бу-



РИС. 2.
Титульная страница «De Morbo Gallico Liber Absolutissimus»
1566 года издания (автор фото – Federica Viazzi) [21]

FIG. 2.
Front page of «De Morbo Gallico Liber Absolutissimus» (1566) (photographer – Federica Viazzi) [21]

дучи не только анатомом, но и успешным хирургом. Фаллопио мастерски проводил операции и рекомендовал своим ученикам безопасно использовать троакар для пункции передней брюшной стенки при асцит: то есть в непосредственной близости от подвздошной ямки, а не в окологрудиной области, как это обычно практиковалось в то время. Фаллопий перевязывал сосуды и добивался быстрого заживления ран применением простых медикаментов [13, 20].

Помимо всего прочего, Габриэле Фаллопио занимал должность директора Падуанского ботанического сада, старейшего в Европе из ныне действующих, где учёный проводил исследования по применению растений в фармацевтике. В его честь назван род растений «Фаллопия» (лат. *Fallopia*) [12, 22].

При всём этом Фаллопий был недоволен зарплатой, которую он получал, работая в Падуе, и в 1561 г. учёный договорился с Болонским университетом о переходе туда с зарплатой в 400 скуди, что было вдвое больше прежнего дохода. Но переезд так и не состоялся из-за его внезапной кончины в возрасте 39 лет [9]. Причина смерти великого учёного точно не установлена. Известно, что с 1556 по 1557 год Фаллопий страдал от хронической усталости. К тому времени у него развилась хроническая лёгочная инфекция, и, поскольку он преподавал анатомию в основном в зимний период, это сказалось на состоянии его здоровья [12]. В некоторых биографических работах упоминается вероятное осложнение ранения руки учёного во время вскрытия или «длительное заболевание лёгких» и, как вариант, плеврит, но наиболее вероятной гипотезой является туберкулёз. Великий врач и анатом был похоронен в церкви Святого Антония в Падуе, но позже, уже в XVIII веке, по причине ремонтных работ останки Габриэле Фаллопио были перенесены в соседний монастырь и помещены в могилу его друга Мельхиоре Гвиландино [12, 13] (рис. 3).



РИС. 3.
Надгробие на могиле Габриэле Фаллопио, капитула монастыря базилики Святого Антония, Падуя [23]

FIG. 3.
Gravestone of Gabriele Fallopio, Chapter of the Monastery of St. Anthony's Basilica, Padua [23]

История череды пионеров анатомии на этом не заканчивается. Один из учеников Фаллопия, голландец Волхер Койтер, стал одним из основателей сравнительной анатомии и эмбриологии, продолжив начатые Фаллопием исследования закономерностей развития человека и животных. Джироламо Фабрици (Фабрициус), сменивший в 1562 г. своего учителя на должности руководителя кафедры и внёсший неоценимый вклад в анатомию и эмбриологию, открыл в Падуе первый в истории постоянно действующий анатомический театр. Фабрициус продолжил традиции преподавания и научных исследований с использованием вскрытия человека и в 1574 году опубликовал своё открытие о наличии клапанов в венах конечностей. В то время он не осознавал их функционального значения. Однако одним из его учеников был молодой англичанин Уильям Гарвей (1578–1657), который в своей последующей работе использовал это открытие как важную часть своих рассуждений об истинной природе кровообращения [2, 3].

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. PHAIDRA Digital Collections. URL: <https://phaidra.cab.unipd.it/detail/o:4704> [date of access: 25.05.2023].
2. Ellis H. Gabriele Fallopio (Fallopius): A father of modern anatomy. *Br J Hosp Med*. 2012; 73(12): 709. doi: 10.12968/hmed.2012.73.12.709
3. Singer C. *A short history of anatomy and physiology from the Greeks to Harvey*. New York: Dover Publications; 1957.
4. Markatos K, Chytas D, Tsakotos G, Karamanou M, Piagkou M, Johnson E. Vesalius criticism on Galen's musculoskeletal anatomy. *Acta Chirurgica Belgica*. 2019; 119(4): 267–271. doi: 10.1080/00015458.2018.1554365
5. Porzionato A, Macchi V, Stecco C, Parenti A, De Caro R. The anatomical school of Padua. *Anat Rec (Hoboken)*. 2012; 295(6): 902–916. doi: 10.1002/ar.22460
6. Сорокина Т.С. Андреас Везалий (1514–1564) и Падуанская анатомическая школа (к 500-летию со дня рождения). *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2014; 5: 52–56. [Sorokina TS. Andreas Vesalius (1514–1564) and Paduan school of anatomy: To 500th anniversary. *Problems of Social Hygiene, Public Health and History of Medicine*. 2014; 5: 52–56. (In Russ.)].
7. Шведавченко А.И., Кудряшова В.А., Оганесян М.В., Ризаева Н.А. Андрей Везалий – основатель современной анатомии (к 500-летию со дня рождения Андрея Везалия). *Морфологические ведомости*. 2014; 4: 70–72. [Svedavchenko AI, Kudryashova VA, Oganessian MV, Rizaeva NA. Andreas Vesalius – the founder of modern anatomy (to the 500th anniversary of the birth of Andreas Vesalius). *Morphological Newsletter*. 2014; 22(4): 70–72. (In Russ.)]. doi: 10.20340/mv-mn.2014.0(4):70-72
8. Bayraktar E, Chatzioglou GN, Gayretli Ö. The life of Gabriele Fallopio (1523–1562) and his contributions to medical

terminology. *Child Nerv Syst.* 2022; 39(6): 1445-1447. doi: 10.1007/s00381-022-05626-0

9. Mortazavi MM, Adeeb N, Latif B, Watanabe K, Deep A, Griessenauer CJ, et al. Gabriele Fallopio (1523–1562) and his contributions to the development of medicine and anatomy. *Childs Nerv Syst.* 2013; 29(6): 877-880. doi: 10.1007/s00381-012-1921-7

10. Maoz SLL, Canalis RF. From Galen to Eustachio: Discovering the anatomy of the facial nerve. *Otology Neurotology.* 2021; 42(9): 1434-1441. doi: 10.1097/MAO.0000000000003227

11. Oncel C. One of the great pioneers of anatomy: Gabriele Fallopio (1523–1562). *Bezmialem Science.* 2016; 4(3): 123-126. doi: 10.14235/bs.2016.634

12. Macchi V, Porzionato A, Morra A, De Caro R. Gabriel Fallopius (1523–1562) and the facial canal. *Clin Anat.* 2014; 27(1): 4-9. doi: 10.1002/ca.22241

13. Thierry M. Gabriele Fallopio (1523–1562) and the Fallopian tube. *Gynecol Surg.* 2009; 6: 93-95. doi: 10.1007/s10397-008-0453-3

14. Porter R. *The greatest benefit to mankind: A medical history of humanity.* New York: W.W. Norton & Company; 1997.

15. Кутя С.А., Киселев В.В., Пикалюк В.С., Мороз Г.А., Кривенцов М.А. Об эпонимах артерий головного мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2016; 116(12-2): 45-48. [Kutia SA, Kiselev VV, Pikaliuk VS, Moroz GA, Kriventsov MA. Revisiting eponyms of arteries of the brain. *Zhurnal Nevrologii*

I Psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova. 2016; 116(12-2): 45-48. (In Russ.)). doi: 10.17116/jnevro201611612245-48

16. Кутя С.А. Габриеле Фаллопио (1523–1562). *Морфология.* 2012; VI(3): 87-89. [Kutya SA. Gabriele Fallopio (1523–1562). *Morphology.* 2012; VI(3): 87-89. (In Russ.)).

17. Herrlinger R, Feiner E. Why did Vesalius not discover the fallopian tubes? *Med History.* 1964; 8(4): 335-341. doi: 10.1017/s002572730002980x

18. Pauerstein CJ. From Fallopius to fantasy. *Fertil Steril.* 1978; 30(2): 133-140. doi: 10.1016/S0015-0282(16)43450-3

19. Шойфет М.С. *100 великих врачей.* М.: Вече; 2008. [Shoifet MS. 100 great doctors. Moscow: Veche; 2008. (In Russ.)).

20. Castiglioni A. *A history of medicine.* New York: Alfred A. Knopf Inc.; 1947.

21. Ospedale di Alessandria De morbo gallico, Venezia, 1566. *Wikipedia.* URL: https://it.wikipedia.org/wiki/File:Ospedale_di_Alessandria_De_morbo_gallico,_Venezia,_1566.jpg [date of access: 25.05.2023].

22. Phadnis SV, Irvine LM. Fallopius: The great anatomist, surgeon and botanist. *J Obstet Gynaecol.* 2013; 33(2): 107-108. doi: 10.3109/01443615.2012.735993

23. Basilica of Saint Anthony of Padua marker. *Wikimedia Commons.* URL: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Basilica_of_Saint_Anthony_of_Padua_marker.jpg [date of access: 25.05.2023].

Сведения об авторах

Фоминых Татьяна Аркадьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой судебной медицины, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: tanusha.ark@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6572-2387>

Кутя Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной анатомии, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: sergei_kutya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1145-4644>

Уланов Владимир Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры судебной медицины, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: ylyan4ik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4096-2787>

Мороз Геннадий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской реабилитации, спортивной медицины и адаптивной физической культуры, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: moroz062@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7145-6564>

Information about the authors

Tatiana A. Fominykh – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Forensic Medicine, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: tanusha.ark@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6572-2387>

Sergey A. Kutia – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Human Anatomy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: sergei_kutya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1145-4644>

Vladimir S. Ulanov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Forensic Medicine, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: ylyan4ik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4096-2787>

Gennady A. Moroz – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Medical Rehabilitation, Sport Medicine and Adaptive Physical Culture, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: moroz062@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7145-6564>

МИШИН ВЛАДИМИР ЮРЬЕВИЧ
(к 75-летию со дня рождения)

VLADIMIR YU. MISHIN
(to the 75th anniversary)



19 марта 2024 года Владимиру Юрьевичу Мишину, доктору медицинских наук, профессору, заведующему кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины», заслуженному деятелю науки Российской Федерации, заслуженному врачу Российской Федерации, академику Академии электротехнических наук Российской Федерации и члену общественного совета ФСИН России, исполняется 75 лет со дня рождения, а также 50 лет врачебной, научной и педагогической деятельности и 25 лет заведования кафедрой.

В.Ю. Мишин родился в городе Иркутске и в 1972 году окончил Иркутский государственный медицинский институт по специальности «санитарно-гигиеническое дело».

В 1972–1974 гг. он обучался в ординатуре и в 1974–1977 гг. – в аспирантуре на кафедре туберкулеза Второго Московского Ордена В.И. Ленина государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова и защитил кандидатскую диссертацию «Отдалённые наблюдения за туберкулиноположительными и рентгеноотрицательными взрослыми (клинико-рентгенологическое исследование)». После защиты кандидатской диссертации работал в должности ассистента вышеназванной кафедры.

В 1993 г. перевёлся на работу в Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза и защитил докторскую диссертацию «Течение туберкулёза лёгких при различных нарушениях метаболизма и функциональной активности лимфоцитов и моноцитов периферической крови». После защиты докторской диссертации работал в должности главного научного сотрудника данного института.

В 1998 г. прошёл по конкурсу на должность профессора, а в 1999 г. – на должность заведующего кафедрой фтизиатрии и пульмонологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, в 2023 г. переименованного в Российский университет медицины, которую возглавляет по настоящее время. С 2008 по 2018 год являлся деканом факультета пенитенциарной медицины.

В.Ю. Мишин – известный в России и за рубежом учёный в области фтизиатрии и пульмонологии. Основными направлениями его научной деятельности являются изучение патогенеза, лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза, клиники, дифференциальной диагностики и лечения туберкулёза лёгких.

В.Ю. Мишин является автором 6 патентов и свидетельств на изобретения, более 900 печатных научных трудов, 10 монографий, 17 глав в монографиях и руководствах, 21 методических рекомендаций, 25 учебных пособий для студентов и врачей и четырёх изданий учебников «Фтизиопульмонология» (2000) и «Фтизиатрия» (2015, 2020, 2021) для студентов медицинских вузов Российской Федерации. Им подготовлено 9 докторов и 34 кандидата медицинских наук.

7 октября 2022 г. Указом Президента Российской Федерации В.Ю. Мишину присвоено почётное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

Владимир Юрьевич Мишин пользуется заслуженным авторитетом среди фтизиатров России. Коллеги и ученики сердечно поздравляют В.Ю. Мишина с Юбилеем и желают дальнейших достижений в научной, врачебной и педагогической деятельности, здоровья и благополучия.

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 07.03.2024.
Подписано в печать 21.03.2024, дата выхода в свет 26.03.2024.
Печ. л. 32,5. Усл. печ. л. 30,2. Уч. изд. л. 28,9. Зак. 009-24. Тир. 500.

Отпечатано в редакционно-издательском отделе ИНЦХТ.
Адрес типографии: 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.
Тел. (3952) 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com

