

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ РНИМУ ИМ. Н. И. ПИРОГОВА

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР** Денис Ребриков, д. б. н., профессор

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА** Александр Эттингер, д. м. н., профессор

**РЕДАКТОРЫ** Валентина Гейдебрехт, Надежда Тихомирова

**ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР** Евгений Лукьянов

**ПЕРЕВОДЧИКИ** Екатерина Третьякова, Вячеслав Витюк

**ДИЗАЙН И ВЕРСТКА** Мариной Дорониной

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В. И. Аверин, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)

Н. Н. Алипов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. В. Белоусов, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

М. Р. Богомильский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. К. Боженко, д. м. н., к. б. н., профессор (Москва, Россия)

Н. А. Былова, к. м. н., доцент (Москва, Россия)

Р. Р. Гайнэтдинов, к. м. н. (Санкт-Петербург, Россия)

Г. Е. Гендлин, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Е. К. Гинтер, академик РАН, д. б. н. (Москва, Россия)

Л. Р. Горбачева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

И. Г. Гордеев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. В. Гудков, PhD, DSc (Буффало, США)

Н. В. Гуляева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

Е. И. Гусев, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. Н. Даниленко, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

Т. В. Зарубина, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

И. И. Затевахин, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. Е. Каган, профессор (Питтсбург, США)

Ю. Г. Кжышковска, д. б. н., профессор (Гейдельберг, Германия)

Б. А. Кобринский, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. В. Козлов, MD PhD (Вена, Австрия)

Ю. В. Котелевцев, к. х. н. (Москва, Россия)

М. А. Лебедев, PhD (Дарем, США)

Н. Е. Мантурова, д. м. н. (Москва, Россия)

О. Ю. Милушкина, д. м. н., доцент (Москва, Россия)

З. Б. Митупов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

С. А. Мошковский, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

Д. Б. Мунблит, MSc, PhD (Лондон, Великобритания)

В. В. Негребецкий, д. х. н., профессор (Москва, Россия)

А. А. Новиков, д. б. н. (Москва, Россия)

Ю. П. Пивоваров, д. м. н., академик РАН, профессор (Москва, Россия)

А. Г. Платонова, д. м. н. (Киев, Украина)

Н. В. Полунина, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Г. В. Порядин, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. Ю. Разумовский, член-корр., профессор (Москва, Россия)

О. Ю. Реброва, д. м. н. (Москва, Россия)

А. С. Рудой, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)

А. К. Рылова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Г. М. Савельева, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. Ф. Семиглазов, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Н. А. Скоблина, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Т. А. Славянская, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. М. Смирнов, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

А. Спаллоне, д. м. н., профессор (Рим, Италия)

В. И. Стародубов, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. А. Степанов, член-корр. РАН, д. б. н., профессор (Томск, Россия)

С. В. Сучков, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Х. П. Тахчиди, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Г. Е. Труфанов, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

О. О. Фаворова, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

М. Л. Филипенко, к. б. н. (Новосибирск, Россия)

Р. Н. Хазипов, д. м. н. (Марсель, Франция)

М. А. Чундокова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Н. Л. Шимановский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Л. Н. Шишкина, д. б. н. (Новосибирск, Россия)

Р. И. Якубовская, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

**ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ** <http://vestnikrgmu.ru/login>

**ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ** [editor@vestnikrgmu.ru](mailto:editor@vestnikrgmu.ru)

**СОТРУДНИЧЕСТВО** [manager@vestnikrgmu.ru](mailto:manager@vestnikrgmu.ru)

**АДРЕС РЕДАКЦИИ** ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997

Журнал включен в Scopus. CiteScore 2020: 0,4

Журнал включен в WoS. JCR 2020: 0,4

Индекс Хирша (h<sup>9</sup>) журнала по оценке Google Scholar: 6

**Scopus<sup>®</sup>**

**WEB OF SCIENCE<sup>™</sup>**

**Google<sub>scholar</sub>**

Журнал включен в РИНЦ. IF 2018: 0,5

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 507)

Здесь находится открытый архив журнала

**НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
LIBRARY.RU**

**ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)**

**CYBERLENINKA**

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2021-06

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № 012769 от 29 июля 1994 г.

Учредитель и издатель — Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (Москва, Россия)

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International [www.creativecommons.org](http://www.creativecommons.org)



Подписано в печать 31.12.2021

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula

[www.print-formula.ru](http://www.print-formula.ru)

# BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

BIOMEDICAL JOURNAL OF PIROGOV RUSSIAN NATIONAL  
RESEARCH MEDICAL UNIVERSITY

**EDITOR-IN-CHIEF** Denis Rebrikov, DSc, professor

**DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF** Alexander Oettinger, DSc, professor

**EDITORS** Valentina Geidebrekht, Nadezda Tikhomirova

**TECHNICAL EDITOR** Evgeny Lukyanov

**TRANSLATORS** Ekaterina Tretiyakova, Vyacheslav Vityuk

**DESIGN AND LAYOUT** Marina Doronina

## EDITORIAL BOARD

Averin VI, DSc, professor (Minsk, Belarus)

Alipov NN, DSc, professor (Moscow, Russia)

Belousov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bogomilskiy MR, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bozhenko VK, DSc, CSc, professor (Moscow, Russia)

Bylova NA, CSc, docent (Moscow, Russia)

Gainetdinov RR, CSc (Saint-Petersburg, Russia)

Gendlin GYe, DSc, professor (Moscow, Russia)

Ginter EK, member of RAS, DSc (Moscow, Russia)

Gorbacheva LR, DSc, professor (Moscow, Russia)

Gordeev IG, DSc, professor (Moscow, Russia)

Gudkov AV, PhD, DSc (Buffalo, USA)

Gulyaeva NV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Gusev EI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Danilenko VN, DSc, professor (Moscow, Russia)

Zarubina TV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Zatevakhin II, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Kagan VE, professor (Pittsburgh, USA)

Kzyshkowska YuG, DSc, professor (Heidelberg, Germany)

Kobrinskii BA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Kozlov AV, MD PhD, (Vienna, Austria)

Kotelevtsev YuV, CSc (Moscow, Russia)

Lebedev MA, PhD (Darem, USA)

Manturova NE, DSc (Moscow, Russia)

Milushkina OYu, DSc, professor (Moscow, Russia)

Mitupov ZB, DSc, professor (Moscow, Russia)

Moshkovskii SA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Munblit DB, MSc, PhD (London, Great Britain)

Negrebetsky VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Novikov AA, DSc (Moscow, Russia)

Pivovarov YuP, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Platonova AG, DSc (Kiev, Ukraine)

Polunina NV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Poryadin GV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Razumovskii AYu, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Rebrova OYu, DSc (Moscow, Russia)

Rudoy AS, DSc, professor (Minsk, Belarus)

Rylova AK, DSc, professor (Moscow, Russia)

Savelieva GM, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Semiglazov VF, corr. member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Skobolina NA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Slavyanskaya TA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Smirnov VM, DSc, professor (Moscow, Russia)

Spallone A, DSc, professor (Rome, Italy)

Starodubov VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Stepanov VA, corr. member of RAS, DSc, professor (Tomsk, Russia)

Suchkov SV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Takhchidi KHP, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Trufanov GE, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Favorova OO, DSc, professor (Moscow, Russia)

Filipenko ML, CSc, leading researcher (Novosibirsk, Russia)

Khazipov RN, DSc (Marsel, France)

Chundukova MA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Shimanovskii NL, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Shishkina LN, DSc, senior researcher (Novosibirsk, Russia)

Yakubovskaya RI, DSc, professor (Moscow, Russia)

**SUBMISSION** <http://vestnikrgmu.ru/login?lang=en>

**CORRESPONDENCE** [editor@vestnikrgmu.ru](mailto:editor@vestnikrgmu.ru)

**COLLABORATION** [manager@vestnikrgmu.ru](mailto:manager@vestnikrgmu.ru)

**ADDRESS** ul. Ostrovyanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997

Indexed in Scopus. CiteScore 2020: 0.4

Indexed in WoS. JCR 2020: 0.4

Five-year h-index is 6

**Scopus**

**e** НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
LIBRARY.RU

**WEB OF SCIENCE**



ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)

**Google**  
scholar

Open access to archive

**CYBERLENINKA**

Issue DOI: 10.24075/brsmu.2021-06

The mass media registration certificate № 012769 issued on July 29, 1994

Founder and publisher is Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

The journal is distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License [www.creativecommons.org](http://www.creativecommons.org)



Approved for print 31.12.2021  
Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula  
[www.print-formula.ru](http://www.print-formula.ru)

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

5

**Новые неинвазивные подходы к диагностике метастатического поражения лимфоузлов при раке молочной железы методом масс-спектрометрии**

А. О. Токарева, В. В. Чаговец, В. В. Родионов, В. В. Кометова, М. В. Родионова, Н. Л. Стародубцева, В. Е. Франкевич

**New non-invasive approaches to the diagnosis of lymph node metastases from breast cancer by mass spectrometry**

Tokareva AO, Chagovets VV, Rodionov VV, Kometova VV, Rodionova MV, Starodubtseva NL, Frankovich VE

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

10

**Метаболомная подпись свободных мукопротеидов при онкологических заболеваниях: CA125 и рак яичников высокой степени злокачественности**

В. В. Чаговец, В. Г. Васильев, М. В. Юррова, Г. Н. Хабас, С. В. Павлович, Н. Л. Стародубцева, О. А. Майборода

**Metabolic “footprints” of the circulating cancer mucins: CA125 in the high-grade ovarian cancer**

Chagovets VV, Vasil'ev VG, Iurova MV, Khabas GN, Pavlovich SV, Starodubtseva NL, Mayboroda OA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

17

**Значимость анализа липидных экстрактов из отделяемого цервикального канала для диагностики плацента-ассоциированных осложнений беременности**

Н. А. Ломова, В. В. Чаговец, А. О. Токарева, Е. Л. Долгополова, Т. Э. Карапетян, А. П. Магомедова, Р. Г. Шмаков

**Significance of analysis of lipid extracts in cervical canal secretion for diagnosing of placenta-associated complications of pregnancy**

Lomova NA, Chagovets VV, Tokareva AO, Dolgopolova EL, Karapetyan TE, Magomedova AP, Shmakov RG

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

26

**Особенности диагностики и течения эндометриоза с децидуальным метаморфозом во время беременности**

А. А. Герасимова, Л. А. Ашрафян, И. Б. Манухин, М. В. Шамаракова, М. С. Мирясова, П. А. Клименко

**Features of the deciduallized endometriosis diagnosis and course during pregnancy**

Gerasimova AA, Asyrafyan LA, Manuchin IB, Shamarakova MV, Miryasova MS, Klimenko PA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

34

**Индекс резистентности внутренних сонных артерий и нейросети мозга при хронической церебральной ишемии**

В. Ф. Фокин, Н. В. Пономарева, Р. Б. Медведев, Р. Н. Коновалов, М. В. Кротенкова, О. В. Лагода, М. М. Танашян

**Resistive index of internal carotid artery and brain networks in patients with chronic cerebral ischemia**

Fokin VF, Ponomareva NV, Medvedev RB, Konovalov RN, Krotenkova MV, Lagoda OV, Tanashyan MM

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

41

**Низкомолекулярные аминотиолы в плазме крови при ишемическом инсульте в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа**

М. Ю. Максимова, А. В. Иванов, К. А. Никифорова, Э. Д. Вирус, Е. Т. Суанова, Ф. Р. Охтова, М. А. Пирадов, А. А. Кубатиев

**Plasma low molecular weight aminothiols in ischemic stroke patients with type 2 diabetes mellitus**

Maksimova MYu, Ivanov AV, Nikiforova KA, Virus ED, Suanova ET, Ochtova FR, Piradov MA, Kubatiev AA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

49

**Влияние тренировок в виртуальной реальности на психофизиологические и постуральные нарушения у пожилых**

А. Е. Кхижникова, А. С. Клочков, А. А. Фукс, А. М. Котов-Смоленский, Н. А. Супонева, М. А. Пирадов

**Effects of virtual reality exergame on psychophysiological and postural disorders in elderly patients**

Khizhnikova AE, Klochov AS, Fuks AA, Kotov-Smolenskiy AM, Suponova NA, Piradov MA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

58

**Ультразвуковое исследование блуждающих нервов у пациентов с болезнью Паркинсона**

А. О. Чечеткин, А. Н. Москаленко, Е. Ю. Федотова, С. Н. Иллариошкин

**Ultrasound imaging of vagus nerves in patients with Parkinson's disease**

Chechetkin AO, Moskalenko AN, Fedotova EYu, Illarioshkin SN

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

66

**Влияние пептида His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro на процессы свободнорадикального окисления в условиях хронического иммобилизационного стресса**

А. О. Ворвуль, И. И. Бобынцев, О. А. Медведева, Ю. Э. Азарова, А. Е. Бельых, Л. А. Андреева

**Effects of His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro peptide on free-radical oxidation processes in conditions of chronic restraint stress**

Vorvul AO, Bobyntsev II, Medvedeva OA, Azarova YuE, Belykh AE, Andreeva LA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

73

**Новый вирулентный бактериофаг *Klebsiella pneumoniae* KPPK108.1, инфицирующий штаммы серотипа K108**  
П. В. Евсеев, М. М. Шнейдер, Ю. В. Михайлова, А. А. Шленков, Ю. Г. Янушевич, М. Г. Карлова, А. В. Моисеенко, О. С. Соколова<sup>4</sup>, Д. А. Шагин**Novel *Klebsiella pneumoniae* virulent bacteriophage KPPK108.1 capable of infecting the K108 serotype strains**  
Evseev PV, Shneider MM, Mikhailova YuV, Shelenkov AA, Yanushevich YuG, Karlova MG, Moiseenko AV, Sokolova OS, Shagin DA**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

81

**Дегенеративная болезнь диска у молодых: цитокиновый профиль и факторы ангиогенеза**

А. В. Новикова, Н. Г. Правдюк, В. С. Саклакова, Е. А. Лоломадзе, В. М. Феников, Д. А. Николаев, К. С. Давыгора, В. Т. Тимофеев, Н. А. Шостак

**Degenerative disc disease in young adults: cytokine profile and angiogenic factors**

Novikova AV, Pravdyuk NG, Saklakova VS, Lolomadze EA, Feniksov VM, Nikolaev DA, Davygora KS, Timofeev VT, Shostak NA

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ**

90

**Отдаленные результаты применения комбинированного лазерного лечения друзенойдной отслойки ретинального пигментного эпителия**  
Х. П. Тахчиди, Н. Х. Тахчиди, Т. А. Касмымнина, Н. А. Махно**Long-term effects of multimodality laser therapy in patient with drusenoid pigment epithelial detachment**

Takhchidi KhP, Takhchidi NKh, Kasmyrina TA, Mahno NA

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ**

96

**Лазерное лечение макулярной ретинальной складчатости как осложнения в отдаленном послеоперационном периоде ведения отслойки сетчатки**

Х. П. Тахчиди, Е. Х. Тахчиди, Т. А. Касмымнина, Е. П. Тебина

**Laser treatment of macular retinal folds in late postoperative period after retinal detachment repair**

Takhchidi KhP, Takhchidi EKh, Kasminina TA, Tebina EP

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ**

102

**Использование видеоанализа движений при оценке локомоторных функций после артроскопической реконструкции передней крестообразной связки**

Е. Ю. Можейко, А. О. Павлов, М. А. Чистов, М. А. Храмченко, В. А. Гуревич

**Using motion capture analysis for assessing locomotion after arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction**

Mozheyko EYu, Pavlov AO, Chistov MA, Khramchenko MA, Gurevich VA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

110

**Биоимпедансный анализ состава тела в диагностике нарушений физического развития детей и подростков**  
М. Ю. Гавришин, О. В. Сазонова, Д. О. Горбачев, Л. М. Бородина, О. В. Фролова, Д. С. Тупикова, О. В. Бережнова, С. Р. Трубецкая**Bioimpedance analysis of body composition in the diagnosis of physical development disorders in children and adolescents**

Gavryushin MYu, Sazonova OV, Gorbachev DO, Borodina LM, Frolova OV, Tupikova DS, Berezhnova OV, Trubetskaya SR

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

117

**Консолидация–реконсолидация зрительно-образной и семантической памяти при болезни Паркинсона**

В. Б. Никишина, Е. А. Петраш, А. А. Кузнецова, Т. В. Шутеева, И. А. Захарова

**Consolidation and reconsolidation of visual and semantic memory in Parkinson's disease**

Nikishina VB, Petrash EA, Kuznetsova AA, Shuteeva TA, Zakhарова IA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

127

**Факторы, взаимосвязанные с ростом потребления алкоголя в первые месяцы пандемии COVID-19 среди пользователей социальных онлайн-сетей в России**

А. Ю. Гиль, А. К. Дёмин

**Factors associated with increase in alcohol consumption during first months of COVID-19 pandemic among online social media users in Russia**

Gill AU, Demin AK

## НОВЫЕ НЕИНВАЗИВНЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЛИМФОУЗЛОВ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

А. О. Токарева<sup>1,2</sup>, В. В. Чаговец<sup>1</sup>, В. В. Родионов<sup>1</sup>, В. В. Кометова<sup>1</sup>, М. В. Родионова<sup>1</sup>, Н. Л. Стародубцева<sup>1,2</sup>, В. Е. Франкевич<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт энергетических проблем химической физики имени В. Л. Тальрозе, Москва, Россия

Ранняя диагностика процесса метастазирования позволяет выбрать оптимальный протокол лечения и повысить выживаемость пациенток. Неинвазивные и малоинвазивные методы диагностики помогают ставить диагноз с минимальным ущербом для организма. Целью исследования было найти биомаркеры, характеризующие начало метастатического процесса и создать диагностическую модель по липидному профилю плазмы крови с использованием жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Исследовали плазму крови 55 пациенток, у 28 из которых было диагностировано метастазирование в региональные лимфоузлы, 27 пациенток составили контрольную группу. Липиды, относящиеся к окисленным липидам и сфингомиелинам имели при метастазировании статистически значимо более высокий и более низкий уровень соответственно. С использованием методов многомерного анализа были составлены панели липидов, и модели на их основе в ходе кросс-валидации по отдельному объекту имели чувствительность и специфичность 79 и 74% (режим положительных ионов) и 50 и 85% (режим отрицательных ионов).

**Ключевые слова:** липиды, регионарное метастазирование, рак молочной железы, плазма крови, молекулярные маркеры

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и ГФЕН в рамках научного проекта № 19-515-55021

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова (протокол № 9 от 22 ноября 2018 г.), проведено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации, Международной конференции по гармонизации (ICF), Стандартов надлежащей клинической практики (GCP), ФЗ № 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г. «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»; все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Владимир Евгеньевич Франкевич  
ул. Опарина, д. 4, г. Москва, 117997, Россия; vfrankovich@gmail.com

**Статья получена:** 26.10.2021 **Статья принята к печати:** 08.11.2021 **Опубликована онлайн:** 10.11.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.053

## NEW NON-INVASIVE APPROACHES TO THE DIAGNOSIS OF LYMPH NODE METASTASES FROM BREAST CANCER BY MASS SPECTROMETRY

Tokareva AO<sup>1,2</sup>, Chagovets VV<sup>1</sup>, Rodionov VV<sup>1</sup>, Kometova VV<sup>1</sup>, Rodionova MV<sup>1</sup>, Starodubtseva NL<sup>1,2</sup>, Frankevich VE<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> V. L. Talrose Institute for Energy Problems of Chemical Physics, Moscow, Russia

Early diagnosis of metastasis makes it possible to select the optimal treatment protocol and improve patient survival. Noninvasive and minimally invasive diagnostic techniques help to make a diagnosis with minimal damage to the body. The study was aimed to find biomarkers, being the hallmarks of the metastatic process initiation, and to develop a diagnostic model based on the plasma lipid profile using liquid chromatography-mass spectrometry. We studied blood plasma of 55 patients, 28 of them were diagnosed with the regional lymph node metastasis; the control group comprised 27 patients. The levels of lipids, belonging to the groups, such as oxidized lipids and sphingomyelins, in patients with metastases were significantly higher and significantly lower, respectively. The lipid panels were created by multivariate analysis, and the models based on these panels showed sensitivity and specificity of 79 and 74% (positive ion mode), and of 50 and 85% (negative ion mode) in leave-one-out cross-validation.

**Keywords:** липиды, регионарное метастазирование, рак молочной железы, кровь, молекулярные маркеры

**Funding:** the study was funded by RFBR and National Natural Science Foundation of China within the framework of the scientific project № 19-515-55021

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (protocol № 9 dated November 22, 2018); the study was carried out in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki, International Council for Harmonisation (ICF), Good Clinical Practice (GCP) guidelines, Federal Law 323-FZ dated November 21, 2011 “On the Basics of Protecting the Health of Citizens in the Russian Federation”; the informed consent was submitted by all patients.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vladimir E. Frankevich  
Oparina, 4, Moscow, 117997, Russia; vfrankovich@gmail.com

**Received:** 26.10.2021 **Accepted:** 08.11.2021 **Published online:** 10.11.2021

**DOI:** 10.24075/brsru.2021.053

Распространение раковых клеток по организму от материнской опухоли происходит через жидкие среды организма, такие как кровь или лимфа [1]. Определить начало метастазирования в региональные лимфатические узлы со 100%-й точностью можно при рассечении подмышечных узлов и биопсии сторожевого узла. При этом из-за высокой инвазивности высок риск осложнений, связанных со скоплением лимфатической жидкости в тканях [2, 3]. К неинвазивным методам диагностики регионального метастазирования относят ультразвуковое исследование (УЗИ), магнитно-резонансную и позитронно-эмиссионную томографию

(МРТ и ПЭТ). УЗИ является стандартным методом для поиска метастазирования в лимфатические узлы, но его чувствительность и специфичность зависят от качества аппаратуры и опыта оператора [4]. Применение МРТ ограничено противопоказаниями для людей с почечной недостаточностью, аллергией, кардиостимуляторами. ПЭТ отличается невысокой чувствительностью для диагностики подмышечных узлов [5].

Анализ плазмы крови является малоинвазивным методом. Его можно использовать для диагностики по молекулярному профилю плазмы болезни Альцгеймера [6], рака шейки матки [7], легкого [8], муковисцидоза печени и

**Таблица 1.** Значения относительной интенсивности липидов (условные единицы), имеющих статистически значимую разницу в уровнях в плазме при наличии метастазов и без них в режиме положительных ионов

Липиды	Метастазирование	Нет метастазирования	<i>p</i>
OxTG 16:0_16:0_18:3(OO)	$6,86 \times 10^5$ ( $4,46 \times 10^5$ ; $8,94 \times 10^5$ )	$5,00 \times 10^5$ ( $2,43 \times 10^5$ ; $6,39 \times 10^5$ )	0,04
OxTG 16:0_18:0_18:3(OH)	$1,96 \times 10^5$ ( $4,77 \times 10^5$ ; $2,42 \times 10^5$ )	$4,63 \times 10^5$ ( $3,27 \times 10^5$ ; $9,94 \times 10^5$ )	0,003
OxTG 18:1_18:1_18:2(OOH)	$2,72 \times 10^6$ ( $1,70 \times 10^6$ ; $3,72 \times 10^6$ )	$1,86 \times 10^6$ ( $1,27 \times 10^6$ ; $2,50 \times 10^6$ )	0,03
TG 14:0_16:0_18:1	$2,43 \times 10^6$ ( $2,05 \times 10^6$ ; $2,84 \times 10^6$ )	$1,85 \times 10^6$ ( $1,45 \times 10^6$ ; $2,57 \times 10^6$ )	0,04

легких [9]. Кроме того, в плазме крови были обнаружены белковые маркеры метастазирования опухолей прямой кишки [10] и ротовой полости [11], а также маркеры для определения регионального метастазирования, однако набор биомаркеров был специфичен для типа опухоли (лобулярной или протоковой) [12]. Липиды входят в состав молекулярного профиля и являются участниками важных метаболических процессов [13]. Липидный профиль плазмы, полученный с использованием высокоеффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии, позволил построить эффективную модель для классификации рака молочной железы или доброкачественной опухоли молочной железы на основе выбранных маркеров [14], что позволяет в совокупности с вышеупомянутыми примерами предположить наличие маркеров процессов метастазирования в плазме крови.

Целями данного исследования были поиск липидных маркеров регионального метастазирования в плазме крови у пациентов с зарегистрированным раком молочной железы методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии и оценка возможности создания диагностической панели.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 55 женщин с диагностированным раком молочной железы, проходивших лечение в Национальном медицинском исследовательском центре акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова (Россия). Критериями включения были: наличие подписанныго информированного добровольного согласия на проведение оперативного хирургического вмешательства и включение в дальнейшее исследование, возраст больных от 18 до 80 лет; наличие гистологически или цитологически подтвержденного диагноза рака молочной железы. Критерии исключения: неoadьювантная терапия и наличие злокачественных новообразований другой локализации до постановки диагноза РМЖ. У 28 женщин было выявлено метастазирование в региональные лимфоузлы, 27 женщин составили контрольную группу. Липиды экстрагировали из 40 мкл плазмы методом Фолча [15]: к 40 мкл плазмы и 5 мкл внутреннего стандарта добавляли 480 мкл  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{MeOH}$  (1 / 1) и выдерживали в ультразвуковой ванне 10 мин. После этого смесь перемешивали 10 с и центрифугировали 5 мин при 15 000 G. Органический слой, содержащий липиды, отбирали

в отдельную виалу. К водному слою добавляли 250 мкл  $\text{CHCl}_3$  /  $\text{MeOH}$  (1 / 1) и центрифугировали 5 мин при 15 000 G. Повторно отбирал нижний органический слой и соединял с отобранным ранее. Липидный раствор высушивали в потоке азота и перерастворяли в 200 мкл  $\text{IPA}$  /  $\text{ACN}$  (1 / 1) для дальнейшего анализа.

Анализ липидов из экстракта проводили на жидкостном хроматографе Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific; Германия), соединенном с масс-анализатором Massis Impact qTOF с источником ионов ЭРИ (Bruker Daltonics; Германия). Разделение образцов осуществляли методом обращенно-фазовой хроматографии на колонке Zorbax C18 ( $150 \times 2,1$  мм, 5 мкм; Agilent, США) с линейным градиентом от 30 до 90% элюента B (раствор ацетонитрил / изопропанол / вода, в объемном соотношении 90 / 8 / 2, с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония) за 20 мин. В качестве элюента A использовали раствор ацетонитрил / вода в объемном соотношении 60 / 40 с добавлением 0,1% муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония. Скорость потока элюирования была 40 мкл/мин, объем инжектируемого образца — 3 мкл. Масс-спектры получали в режиме положительных ионов и в режиме отрицательных ионов в диапазоне  $m/z$ , равном 100–1700, со следующими установками: напряжение на капилляре — 4,1 кВ и 3,0 кВ для режима положительных ионов и режима отрицательных ионов; давление распыляющего газа — 0,7 бар; скорость потока осушающего газа — 6 л/мин, температура осушающего газа — 200 °C.

Липиды идентифицировали с использованием R-скрипта Lipid Match [16] по точной массе и по характерным тандемным масс-спектрам (MC / MC).

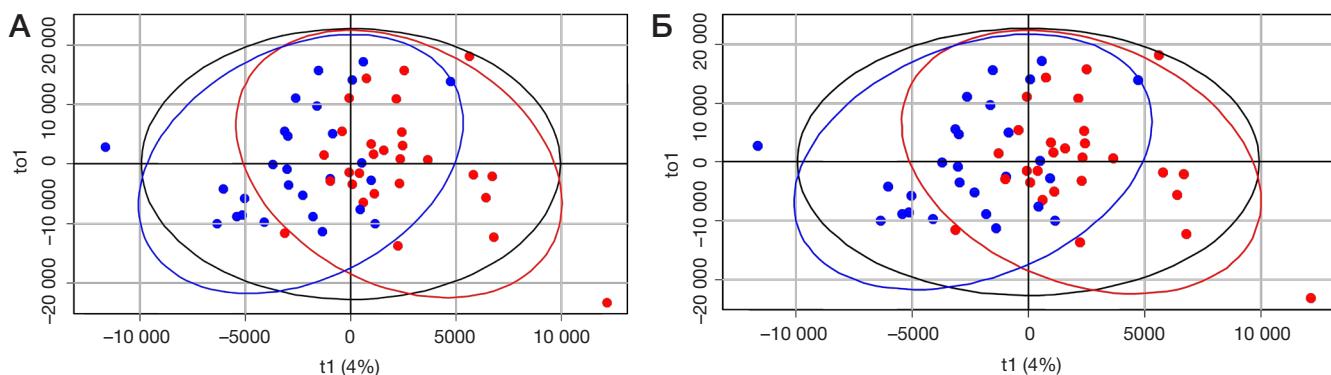
Для статистической обработки результатов использовали скрипты, написанные на языке R [17] в среде RStudio [18].

Поиск соединений, имеющих статистически значимую разницу уровней плазмы у пациентов с метастазированием и без него, осуществляли с помощью теста Манна-Уитни для попарного сравнения групп. Для описания количественных данных использовали медиану (Me) и квартили  $Q_1$  и  $Q_3$ . Величину порогового уровня значимости  $p$  принимали равной 0,05.

Создание диагностической модели на основе логистической регрессии осуществляли путем вычисления значения проекции переменной при ортогональной проекции на скрытые структуры [19] и выбора соединений,

**Таблица 2.** Значения относительной интенсивности липидов (условные единицы), имеющих статистически значимую разницу в уровнях в плазме при наличии метастазов и без них в режиме отрицательных ионов

Липиды	Метастазирование	Нет метастазирования	<i>p</i>
OxPC 16:0_18:2(2O)	$4,66 \times 10^5$ ( $3,35 \times 10^5$ ; $8,20 \times 10^5$ )	$2,58 \times 10^5$ ( $1,42 \times 10^5$ ; $5,22 \times 10^5$ )	0,02
OxPC 16:0_22:5(OH)	$1,15 \times 10^5$ ( $8,32 \times 10^4$ ; $1,39 \times 10^5$ )	$7,93 \times 10^4$ ( $5,10 \times 10^4$ ; $1,10 \times 10^5$ )	0,04
OxPC 18:0_18:2(OOH)	$1,99 \times 10^5$ ( $1,41 \times 10^5$ ; $3,81 \times 10^5$ )	$1,08 \times 10^5$ ( $6,15 \times 10^4$ ; $2,02 \times 10^5$ )	0,008
OxPC 18:0_20:4(2O)	$1,31 \times 10^5$ ( $8,47 \times 10^4$ ; $2,14 \times 10^5$ )	$7,08 \times 10^4$ ( $5,21 \times 10^4$ ; $1,66 \times 10^5$ )	0,04
SM d22:0/20:3	$5,71 \times 10^5$ ( $5,17 \times 10^5$ ; $6,49 \times 10^5$ )	$6,94 \times 10^5$ ( $5,28 \times 10^5$ ; $7,38 \times 10^5$ )	0,01
SM d22:0/20:4	$4,21 \times 10^5$ ( $3,56 \times 10^5$ ; $4,90 \times 10^5$ )	$4,76 \times 10^5$ ( $4,08 \times 10^5$ ; $5,45 \times 10^5$ )	0,02



**Рис. 1.** Графики счетов, построенные для ортогональных проекций на скрытые структуры в режиме положительных ионов (А) и для режима отрицательных ионов (Б). Красными точками обозначены образцы от пациенток с региональным метастазированием, синими — от пациентов без регионального метастазирования

характеризующихся значением проекции переменной больше 1. Из выбранных переменных на основе информационного критерия Акаике (AIC) [20] осуществляли поэтапный выбор переменных, пока это приводило к уменьшению AIC. Для получения финальной модели из регрессии поэтапно удаляли переменные, коэффициенты которых не были статистически значимо отличны от 0 ( $p > 0,05$ ). Качество полученной диагностической модели тестировали внутренней кросс-валидацией с контролем по отдельным объектам. Для оценки использовали значения площади под операционной кривой, чувствительность и специфичность.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования было выявлено 183 липидных соединения в режиме положительных ионов и 161 соединение в режиме отрицательных ионов, из них четыре характеризовались наличием статистически значимой разницы в уровнях при режиме положительных ионов (табл. 1) и шесть — при режиме отрицательных ионов (табл. 2). Уровень окисленных липидов (окситриглицеридов в режиме положительных ионов и фосфатидилхолинов в режиме отрицательных ионов) повышается при наличии метастазирования. Уровень сфингомиелинов, наоборот, падает при наличии метастазирования.

По результатам построений ортогональных проекций на скрытые структуры (рис. 1) было выбрано 36 липидов в режиме положительных ионов и 29 — в режиме отрицательных ионов со значением проекции переменной (ПП) больше 1.

Использовали семь соединений в режиме положительных ионов, которые позволили построить модель с площадью под операционной кривой, равной 0,84

(табл. 3; рис. 2А), и два соединения в режиме отрицательных ионов, которые позволили построить модель с площадью под операционной кривой, равной 0,71 (табл. 4; рис. 2Б). Чувствительность и специфичность составили для модели в режиме положительных ионов 79 и 74% соответственно, для модели в режиме отрицательных ионов — 50 и 85% соответственно.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большая часть липидов, уровень которых статистически значимо повышается при наличии метастазирования, относится к окисленным. Окисленные липиды формируются преимущественно в подвергающихся апоптозу клетках, являясь при этом участниками воспалительных процессов [21]. Они были также выделены как предсказательные маркеры ишемической болезни сердца в плазме крови [22]. Созданные панели содержат в основном сфингомиелины и лизо- и фосфатидилхолины, содержащие длинные ацильные цепи. На сегодняшний день известна связь синтаз жирных кислот и омега-6 ненасыщенных жирных кислот с процессами метастазирования [23, 24], а также зарегистрировано повышение уровня сфингомиелинов и лизофосфатидилхолинов относительно фосфатидилхолинов в плазме крови при прогрессирующем метастатическом раке молочной железы у мышей [25]. Однако в данном исследовании было зарегистрировано статистически значимое понижение уровня сфингомиелинов в плазме крови при начале метастазирования. Разное изменение уровней сфингомиелинов в начале метастазирования было обнаружено при анализе злокачественных тканей (понижение уровня) и при анализе граничных здоровых тканей молочной железы (повышение уровня)

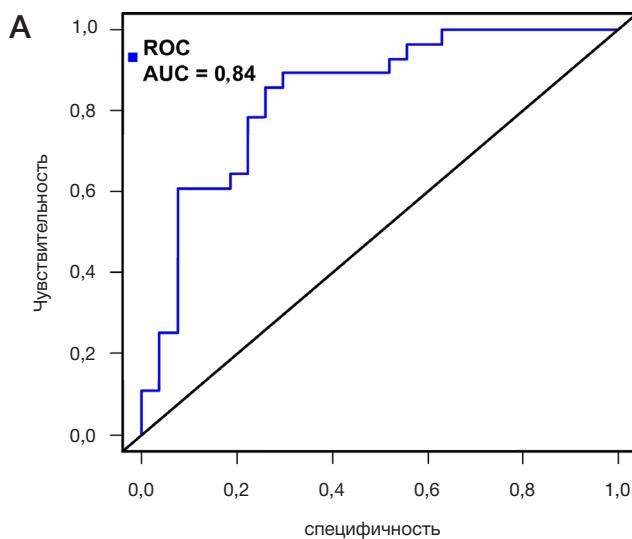
**Таблица 3.** Соединения, использованные для построения логистической регрессии, их коэффициенты (условные единицы), доверительный интервал ДИ (условные единицы), критерий Вальда, вероятность отличия значения коэффициента  $p$  от нуля в режиме положительных ионов

Липиды	$\beta$	ДИ $\beta$	Критерий Вальда	$p$
Свободный член	-3,98	-15,96–6,27	-0,74	0,46
CE 20:4	$3,44 \times 10^{-7}$	$1,30 \times 10^{-7}$ – $6,54 \times 10^{-7}$	2,64	0,008
LPC 18:2	$2,37 \times 10^{-7}$	$7,21 \times 10^{-8}$ – $4,72 \times 10^{-7}$	2,44	0,01
OxTG 16:0_18:0_18:3(OH)	$1,56 \times 10^{-6}$	$6,37 \times 10^{-7}$ – $2,89 \times 10^{-6}$	2,83	0,005
PC 16:0_22:5	$2,66 \times 10^{-7}$	$1,09 \times 10^{-7}$ – $5,17 \times 10^{-7}$	2,55	0,01
SM d18:2/24:1	$-4,72 \times 10^{-7}$	$-9,01 \times 10^{-7}$ – $1,70 \times 10^{-7}$	-2,60	0,009
SM d18:1/24:0	$-3,92 \times 10^{-7}$	$-8,47 \times 10^{-7}$ – $1,25 \times 10^{-7}$	-2,26	0,02
SM d18:1/22:0	$3,85 \times 10^{-7}$	$6,70 \times 10^{-8}$ – $8,51 \times 10^{-7}$	2,01	0,04

**Таблица 4.** Соединения, использованные для построения логистической регрессии, их коэффициенты  $\beta$  (условные единицы), доверительный интервал ДИ (условные единицы), критерий Вальда, вероятность отличия значения коэффициента  $\rho$  от нуля в режиме отрицательных ионов

Липиды	$\beta$	ДИ $\beta$	Критерий Вальда	$\rho$
Свободный член	3,71	-1,28–9,09	1,43	0,15
PC 16:0_22:5	$4,89 \times 10^{-7}$	$1,37 \times 10^{-7}$ – $9,45 \times 10^{-7}$	2,40	0,02
SM d22:0/20:3	$-1,05 \times 10^{-6}$	$-1,98 \times 10^{-6}$ – $2,52 \times 10^{-7}$	-2,42	0,02

[26]. Из липидов, определенных в диагностическую панель, только два соединения имеют статистически значимые различия в уровнях при метастазировании и при его отсутствии. Это связано с тем, что для создания диагностической панели использовали методы многомерного анализа, в которых учитывали связи липидов между собой. Использование данного метода для выбора маркеров оправдано с точки зрения применения модели к многокомпонентному пространству с неортогональными компонентами, которую представляет липидный профиль крови. Использование методов одномерного анализа позволяет оценить изменение липидного профиля с точки зрения дальнейшего исследования патофизиологии процесса метастазирования.



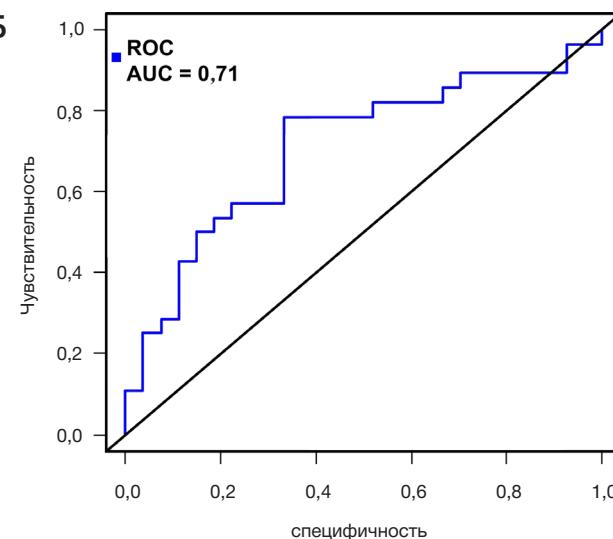
**Рис. 2.** Операционная кривая, построенная в ходе кросс-валидации диагностической модели в режиме положительных ионов (A) и в режиме отрицательных ионов (Б)

## Литература

1. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3 (6): 453–8.
2. Silberman AW, McVay C, Cohen JS, Altura JF, Brackett S, Sarna GP, et al. Comparative Morbidity of Axillary Lymph Node Dissection and the Sentinel Lymph Node Technique. *Ann Surg.* 2004; 240 (1): 1–6.
3. Schrenk P, Rieger R, Shamiyah A, Wayand W. Morbidity following sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma. *Cancer.* 2000; 88 (3): 608–14.
4. Sukhikh GT, Sencha AN. Multiparametric ultrasound diagnosis of breast diseases. Cham: Springer, 2018.
5. Zhou M, Lu B, Lv G, Tang Q, Zhu J, Li J, et al. Differential diagnosis between metastatic and non-metastatic lymph nodes using DW-MRI: a meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2015; 141 (6): 1119–30.
6. Wang T, Xiao S, Liu Y, Lin Z, Su N, Li X, et al. The efficacy of plasma biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014; 29 (7): 713–9.
7. Lin YW, Lai HC, Lin CY, Chiou JY, Shui HA, Chang CC, et al. Plasma proteomic profiling for detecting and differentiating *in situ* and invasive carcinomas of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer.* 2006; 16 (3): 1216–24.
8. Zhong L, Coe SP, Stromberg AJ, Khattar NH, Jett JR, Hirschowitz EA. Profiling tumor-associated antibodies for early detection of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2006; 1 (6): 513–9.
9. Schwarz KB, Rosensweig J, Sharma S, Jones L, Durant M, Potter C, et al. Plasma markers of platelet activation in cystic fibrosis liver and lung disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003; 37 (2): 187–91.
10. Langenskiöld M, Holmdahl L, Falk P, Ivarsson ML. Increased plasma MMP-2 protein expression in lymph node-positive patients with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2005; 20 (3): 245–52.
11. Chai YD, Zhang L, Yang Y, Su T. Discovery of potential serum protein biomarkers for lymph-node metastasis in oral cancer. *Head Neck.* 2015; 38 (1): 118–25.
12. Yigitbasi T, Calibasi-Kocal G, Buyukuslu N, Kemal Atahan M,

## ВЫВОДЫ

В данном исследовании проведен анализ липидного профиля пациенток с раком молочной железы методом высокоэффективной хромато-масс-спектрометрии. Липиды, имеющие статистически значимые различия в уровнях, относились к окисленным липидам и сфингомиелинам. Липиды, вошедшие в состав диагностических панелей, преимущественно относились к классам сфингомиелинов и фосфатидилхолинов и характеризовались высоким уровнем ненасыщенности ацильных цепей и длиной (20–24 атома углерода). Полученную диагностическую модель можно использовать в дальнейших исследованиях, связанных с разработкой метода малоинвазивной диагностики метастазирования.



- Kupeli H, Yigit S, et al. SELDI-TOF-MS Profiling of Metastatic Phenotype in Histopathological Subtypes of Breast Cancer. *Curr Proteomics*. 2018; 15 (3): 214–20.
13. Bandu R, Mok HJ, Kim KP. Phospholipids as cancer biomarkers: mass spectrometry-based analysis. *Mass Spectrom Rev*. 2016; 47 (3): 1–32.
  14. Chen X, Chen H, Dai M, Ai J, Li Y, Mahon B, et al. Plasma lipidomics profiling identified lipid biomarkers in distinguishing early-stage breast cancer from benign lesions. *Oncotarget*. 2016; 7 (24): 36622–31.
  15. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957; 226 (1): 497–509.
  16. Koelmel JP, Kroeger NM, Ulmer CZ, Bowden JA, Patterson RE, Cochran JA, et al. LipidMatch: An automated workflow for rule-based lipid identification using untargeted high-resolution tandem mass spectrometry data. *BMC Bioinformatics*. 2017; 18 (1): 1–11.
  17. R Development Core Team. A Language and Environment for Statistical Computing. R Found Stat Comput. 2019.
  18. R team. R Studio: Integrated Development for R. 2016.
  19. Galindo-Prieto B, Eriksson L, Trygg J. Variable influence on projection (VIP) for OPLS models and its applicability in multivariate time series analysis. *Chemom Intell Lab Syst*. 2015; 146: 297–304.
  20. Akaike H. A New Look at the Statistical Model Identification. *IEEE Trans Automat Contr*. 1974; 19 (6): 716–23.
  21. Miller YI, Shyy JYJ. Context-Dependent Role of Oxidized Lipids and Lipoproteins in Inflammation. *Trends Endocrinol Metab*. 2017; 28 (2): 143–52.
  22. Paynter NP, Balasubramanian R, Giulianini F, Wang DD, Tinker LF, Gopal S, et al. Metabolic predictors of incident coronary heart disease in women. *Circulation*. 2018; 137 (8): 841–53.
  23. Ferreri C, Sansone A, Ferreri R, Amézaga J, Tueros I. Fatty acids and membrane lipidomics in oncology: A cross-road of nutritional, signaling and metabolic pathways. *Metabolites*. 2020; 10 (9): 1–26.
  24. Maan M, Peters JM, Dutta M, Patterson AD. Lipid metabolism and lipophagy in cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 504 (3): 582–9.
  25. Kus K, Kij A, Zakrzewska A, Jasztal A, Stojak M, Walczak M, et al. Alterations in arginine and energy metabolism, structural and signalling lipids in metastatic breast cancer in mice detected in plasma by targeted metabolomics and lipidomics. *Breast Cancer Res*. 2018; 20 (1): 1–13.
  26. Токарева А. О., Чаговец В. В., Родионов В. В., Кометова В. В., Родионова М. В., Стародубцева Н. Л. и др. Липидные маркеры метастатического поражения регионарных лимфоузлов у больных раком молочной железы. *Акушерство и гинекология*. 2020; 8: 133–40.

## References

1. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3 (6): 453–8.
2. Silberman AW, McVay C, Cohen JS, Altura JF, Brackett S, Sarna GP, et al. Comparative Morbidity of Axillary Lymph Node Dissection and the Sentinel Lymph Node Technique. *Ann Surg*. 2004; 240 (1): 1–6.
3. Schrenk P, Rieger R, Shamiyah A, Wayand W. Morbidity following sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma. *Cancer*. 2000; 88 (3): 608–14.
4. Sukhikh GT, Sencha AN. Multiparametric ultrasound diagnosis of breast diseases. Cham: Springer, 2018.
5. Zhou M, Lu B, Lv G, Tang Q, Zhu J, Li J, et al. Differential diagnosis between metastatic and non-metastatic lymph nodes using DW-MRI: a meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015; 141 (6): 1119–30.
6. Wang T, Xiao S, Liu Y, Lin Z, Su N, Li X, et al. The efficacy of plasma biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2014; 29 (7): 713–9.
7. Lin YW, Lai HC, Lin CY, Chiou JY, Shui HA, Chang CC, et al. Plasma proteomic profiling for detecting and differentiating in situ and invasive carcinomas of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer*. 2006; 16 (3): 1216–24.
8. Zhong L, Coe SP, Stromberg AJ, Khattar NH, Jett JR, Hirschowitz EA. Profiling tumor-associated antibodies for early detection of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2006; 1 (6): 513–9.
9. Schwarz KB, Rosenzweig J, Sharma S, Jones L, Durant M, Potter C, et al. Plasma markers of platelet activation in cystic fibrosis liver and lung disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003; 37 (2): 187–91.
10. Langenskiöld M, Holmdahl L, Falk P, Ivarsson ML. Increased plasma MMP-2 protein expression in lymph node-positive patients with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2005; 20 (3): 245–52.
11. Chai YD, Zhang L, Yang Y, Su T. Discovery of potential serum protein biomarkers for lymph-node metastasis in oral cancer. *Head Neck*. 2015; 38 (1): 118–25.
12. Yigitbasi T, Calibasi-Kocal G, Buyukuslu N, Kemal Atahan M, Kupeli H, Yigit S, et al. SELDI-TOF-MS Profiling of Metastatic Phenotype in Histopathological Subtypes of Breast Cancer. *Curr Proteomics*. 2018; 15 (3): 214–20.
13. Bandu R, Mok HJ, Kim KP. Phospholipids as cancer biomarkers: mass spectrometry-based analysis. *Mass Spectrom Rev*. 2016; 47 (3): 1–32.
14. Chen X, Chen H, Dai M, Ai J, Li Y, Mahon B, et al. Plasma lipidomics profiling identified lipid biomarkers in distinguishing early-stage breast cancer from benign lesions. *Oncotarget*. 2016; 7 (24): 36622–31.
15. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*. 1957; 226 (1): 497–509.
16. Koelmel JP, Kroeger NM, Ulmer CZ, Bowden JA, Patterson RE, Cochran JA, et al. LipidMatch: An automated workflow for rule-based lipid identification using untargeted high-resolution tandem mass spectrometry data. *BMC Bioinformatics*. 2017; 18 (1): 1–11.
17. R Development Core Team. A Language and Environment for Statistical Computing. R Found Stat Comput. 2019.
18. R team. R Studio: Integrated Development for R. 2016.
19. Galindo-Prieto B, Eriksson L, Trygg J. Variable influence on projection (VIP) for OPLS models and its applicability in multivariate time series analysis. *Chemom Intell Lab Syst*. 2015; 146: 297–304.
20. Akaike H. A New Look at the Statistical Model Identification. *IEEE Trans Automat Contr*. 1974; 19 (6): 716–23.
21. Miller YI, Shyy JYJ. Context-Dependent Role of Oxidized Lipids and Lipoproteins in Inflammation. *Trends Endocrinol Metab*. 2017; 28 (2): 143–52.
22. Paynter NP, Balasubramanian R, Giulianini F, Wang DD, Tinker LF, Gopal S, et al. Metabolic predictors of incident coronary heart disease in women. *Circulation*. 2018; 137 (8): 841–53.
23. Ferreri C, Sansone A, Ferreri R, Amézaga J, Tueros I. Fatty acids and membrane lipidomics in oncology: A cross-road of nutritional, signaling and metabolic pathways. *Metabolites*. 2020; 10 (9): 1–26.
24. Maan M, Peters JM, Dutta M, Patterson AD. Lipid metabolism and lipophagy in cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 504 (3): 582–9.
25. Kus K, Kij A, Zakrzewska A, Jasztal A, Stojak M, Walczak M, et al. Alterations in arginine and energy metabolism, structural and signalling lipids in metastatic breast cancer in mice detected in plasma by targeted metabolomics and lipidomics. *Breast Cancer Res*. 2018; 20 (1): 1–13.
26. Токарева А. О., Чаговец В. В., Родионов В. В., Кометова В. В., Родионова М. В., Стародубцева Н. Л. и др. Липидные маркеры метастатического поражения регионарных лимфоузлов у больных раком молочной железы. *Акушерство и гинекология*. 2020; 8: 133–40. Russia.

## МЕТАБОЛОМНАЯ ПОДПИСЬ СВОБОДНЫХ МУЦИНОВ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ: CA125 И РАК ЯИЧНИКОВ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

В. В. Чаговец<sup>1</sup>✉, В. Г. Васильев<sup>2</sup>, М. В. Юрова<sup>1,3</sup>, Г. Н. Хабас<sup>1</sup>, С. В. Павлович<sup>1,3</sup>, Н. Л. Стародубцева<sup>1</sup>, О. А. Майборода<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

<sup>4</sup> Медицинский центр Лейденского университета, Лейден, Нидерланды

<sup>5</sup> Томский государственный университет, Томск, Россия

Муцины — это высокомолекулярные гликопротеины, характерной чертой которых является большое количество О-связанных олигосахаридов (О-гликанов), присоединенных к белковому оству. Основная часть циркулирующих муцинов быстро выводится с помощью рецепторов печени, распознающих гликаны. Муцины, которые не выводятся из организма и остаются в кровотоке, наиболее часто используют в качестве клинических диагностических маркеров. Пептидный эпипот одного из таких циркулирующих муцинов, называемого MUC16, известен как антиген CA125, маркер рака яичников. Целью работы было провести профилирование метаболитов плазмы с помощью 1Н-ЯМР анализа и изучить связь между измеренными значениями CA125 и системным метаболизмом пациентов в группе с подтвержденным раком яичников высокой степени злокачественности. В результате исследования были обнаружены статистически значимые ассоциации между измеренными значениями эпипота CA125 и концентрациями глюкозы, глутамина, аланина, бетаина и серина в плазме. Значимость выявленных ассоциаций для перечисленных соединений меньше 0,01. Это позволяет выдвинуть гипотезу о возможности включения метаболических показателей в диагностику рака яичников.

**Ключевые слова:** метаболомика, ЯМР, циркулирующие муцины, CA125, рак яичников

**Финансирование:** исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-65-46014).

**Вклад авторов:** В. В. Чаговец — планирование исследования, подготовка образцов, обсуждение обработки данных ЯМР, написание и редактирование рукописи; В. Г. Васильев — пробоподготовка, ЯМР-анализ; М. В. Юрова, Г. Н. Хабас — сбор и характеристика клинических образцов, обсуждение результатов; С. В. Павлович — планирование исследования, обсуждение результатов; Н. Л. Стародубцева — планирование исследования, обработка клинических данных; О. А. Майборода — планирование исследования и руководство им, написание рукописи, обработка данных ЯМР.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова (протокол № 10 от 05 декабря 2019 г.), проведено в соответствии с федеральными законами Российской Федерации (№№ 152, 323 и др.) и Хельсинкской декларацией 1964 г. со всеми последующими дополнениями и изменениями, регламентирующими научные исследования на биоматериалах, полученных от людей.

✉ **Для корреспонденции:** Виталий Викторович Чаговец

ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117997, Россия; vvcchagovets@gmail.com

**Статья получена:** 01.12.2021 **Статья принята к печати:** 16.12.2021 **Опубликована онлайн:** 29.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.065

## METABOLIC “FOOTPRINTS” OF THE CIRCULATING CANCER MUCINS: CA125 IN THE HIGH-GRADE OVARIAN CANCER

Chagovets VV<sup>1</sup>✉, Vasil'ev VG<sup>2</sup>, Iurova MV<sup>1,3</sup>, Khabas GN<sup>1</sup>, Pavlovich SV<sup>1,3</sup>, Starodubtseva NL<sup>1</sup>, Mayboroda OA<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands

<sup>5</sup> Tomsk State University, Tomsk, Russia

Mucins are large glycoproteins characterized by the abundant O-linked oligosaccharides (O-glycans) clustered on a protein backbone. Most of the circulating mucins are rapidly cleared by glycan-recognizing hepatic clearance receptors in the liver. Those mucins that remain in the bloodstream are most commonly used as markers in clinical diagnostics. One of such circulating mucins is MUC16; a peptide epitope of which is known as CA125 antigen — a marker for ovarian cancer. Here, using a targeted 1H-NMR profiling of plasma we are exploring a link between the measured CA125 values and the systemic metabolism of the patients within a group with confirmed high-grade ovarian cancer. The study allowed identifying statistically significant associations between the measured values of CA125 epitope and the plasma concentrations of glucose, glutamine, alanine, betaine and serine. The significance of the identified associations for the listed compounds is below 0.01. This, in turn, enables us to hypothesize about a possibility of including the metabolic measures into a composite score of the ovarian cancer based on the CA125 epitope of MUC16.

**Keywords:** metabolomics, NMR, circulating mucins, CA125, ovarian cancer

**Funding:** the study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project #20-65-46014).

**Author contribution:** Chagovets VV — study planning, sample preparation, discussion of NMR data processing, manuscript authoring and editing; Vasil'ev VG — sample preparation, NMR analysis; Iurova MV, Khabas GN — collection and characterization of clinical samples, discussion of the results; Pavlovich SV — study research, discussion of the results; Starodubtseva NL — study planning, clinical data processing; Mayboroda OA — study planning and management, manuscript authoring, NMR data processing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (Minutes #10 of December 05, 2019), conducted in accordance with federal laws of the Russian Federation (#152, 323 etc.) and the Declaration of Helsinki of 1964 with all subsequent extensions and amendments regulating scientific research involving biomaterials obtained from human beings.

✉ **Correspondence should be addressed:** Виталий В. Чаговец

Академика Опарина, 4, Москва, 117997, Россия; vvcchagovets@gmail.com

**Received:** 01.12.2021 **Accepted:** 16.12.2021 **Published online:** 29.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.065

Муцины — это высокомолекулярные гликопротеины, характеризующиеся большим количеством О-связанных олигосахаридов (О-гликанов), присоединенных к белковому оству. Обычно они локализованы на поверхности эпителия, но потенциальные участки протеолитического расщепления обнаруживаются в большинстве генов муцина, что объясняет их появление в системном кровотоке [1]. Основная часть циркулирующих муцинов быстро выводится с помощью рецепторов печени, распознающих гликаны. Муцины, которые не выводятся из организма и остаются в кровотоке, наиболее часто используются в качестве клинических диагностических маркеров. Одним из таких циркулирующих муцинов является MUC16, пептидный эпитоп которого известен как антиген CA125, маркер рака яичников [2].

CA125 известен более трех десятилетий [3]. Ряд масштабных клинических исследований был посвящен оценке потенциального использования сывороточного CA125 в качестве маркера рака яичников (РЯ). Несмотря на то, что структура эпитопа до конца не выяснена, а диагностическая точность его как маркера рака яичников ограничена [4], CA125 остается единственным клинически надежным диагностическим маркером рака яичников [5]. Важно, не оспаривая диагностическую ценность CA125, выяснить связь уровня CA125 в плазме крови с метаболическим статусом пациентов. С тех пор, как Отто Варбург открыл, что для опухолевых клеток характерно нарушение метаболизма, взгляд на рак как на метаболическое заболевание получает все большее признание [6]. Действительно, есть веские доказательства того, что повышенное потребление глюкозы и повышенная секреция лактата в опухолях способствуют их росту [7]. По мере прогрессирования опухоли увеличиваются ее биоэнергетические потребности и потребности в структурных блоках, что сказывается на системном метаболизме, изменения которого можно обнаружить в крови пациента. Таким образом, мы предполагаем, что измеренные уровни CA125 как онкомаркера будут коррелировать или «отражаться» в метаболическом профиле плазмы крови.

Основная цель данного исследования — изучить связь между измеренными уровнями CA125 и концентрациями метаболитов в плазме крови в однородной группе пациентов с клинически подтвержденным раком яичников высокой степени злокачественности.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 67 пациентов с гистологически верифицированным серозным РЯ высокой степени злокачественности (ВС3), от которых были получены образцы плазмы венозной крови непосредственно перед операцией до введения антибактериальных, обезболивающих и других препаратов.

Критерии включения пациентов: возраст более 18 лет; гистологическая верификация диагноза (серозный РЯ с ВС3 I–IV стадии по FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics).

**Таблица 1.** Возраст и ИМТ пациентов с I–II и III–IV стадиями РЯ ВС3 (статистически значимых различий не получено, использовали U-критерий Манна–Уитни)

Стадия РЯ ВС3	Возраст, лет		p	ИМТ, кг/м <sup>2</sup>		p
	Ме	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>		Ме	Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub>	
I–II	53	46–59	0,51	24	21–27	
III–IV	54	49–61		25	23–28	0,65

Критерии невключения: возраст менее 18 лет; прием гормональных препаратов (комбинированные оральные контрацептивы, заместительная или менопаузальная гормональная терапия) в течение 6 и более месяцев; патология по данным УЗИ органов малого таза и/или указание на наличие уже выявленных репродуктивных заболеваний; пролиферативные процессы; онкологические заболевания на момент проведения исследования или в анамнезе (любой нозологии, помимо исследуемой); перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза; сочетание у одной пациентки новообразований различных гистотипов; беременность.

Критерии исключения: данные пересмотра гистологических микропрепараторов о гистотипе злокачественной опухоли яичников, отличающемся от серозного РЯ с ВС3 или сопутствующем ему; первично-множественные опухолевые заболевания, не установленные на момент обращения пациента в Центр по поводу объемного образования яичников (данные о наличии были получены в период послеоперационного наблюдения).

Количественное определение опухолевого маркера CA125 в образцах крови осуществляли иммуноферментным методом.

#### Приготовление образцов для ЯМР-анализа

Все химические вещества, используемые для буферных растворов, были приобретены у Sigma-Aldrich (США), за исключением тяжелой воды D<sub>2</sub>O (Cortecnet; Франция) и натриевой соли 3-(триметилсилил)пропионовой-2,2,3,3-d<sub>4</sub> кислоты (TSP) (Cambridge Isotope Laboratories Inc., Великобритания). Были приготовлены два буферных раствора. Буферный раствор А представлял собой натрий-фосфатный буфер в H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O (80/20) с pH 7,4, содержащий 6,15 ммоль/л Na<sub>3</sub> и 4,64 ммоль/л TSP. Буферный раствор В представлял собой натрий-фосфатный буфер в D<sub>2</sub>O (pH 7,4), содержащий 1,5 моль/л K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 ммоль/л Na<sub>3</sub> и 4 ммоль/л TSP. 96-луночные пластины Ritter Deepwell были приобретены у Novaveth B.V. (Нидерланды), пробирки для ЯМР — у Bruker Biospin Ltd. (Германия). Образцы плазмы размораживали при 4 °C и перемешивали, переворачивая пробирки 10 раз. Затем образцы (120 мкл) смешивали с 120 мкл буферного раствора. Для каждого образца 190 мкл смеси буфера и плазмы переносили в пяти миллиметровые пробирки с использованием модифицированной станции наполнения пробирок Gilson 215 и выдерживали при 6 °C в устройстве для смены образцов.

#### ЯМР-анализ и обработка спектральных данных

1Н-ЯМР анализ проводили на спектрометре Bruker 700 МГц AVANCE NEO (Bruker; Германия), оснащенном пяти миллиметровой головкой криогенного зонда Prodigy. Устройство для смены образцов Bruker SampleJet (Bruker; Германия) использовали для подачи и извлечения образцов (согласно двум протоколам ЯМР: один — для образцов плазмы и один — для всех остальных образцов).

Все эксперименты выполняли при 300 К, за исключением образцов плазмы, которые анализировали при 310 К. Свежий образец 99,8%-го метанола-d4 использовали для калибровки температуры. Осевое шиммирование оптимизировалось автоматически перед каждым измерением. Продолжительность 90°-импульсов была автоматически откалибрована для каждого отдельного. Для каждого образца плазмы проводили эксперимент Карра–Парселя–Мейбума–Гилла (CPMG). Стандартную 1D-последовательность импульсов CPMG с предварительным насыщением использовали для получения T2-фильтрованных спектров. Применяли последовательность из 128 импульсов перефокусировки с задержкой отдельного спинового эха 0,6 мс, в результате чего общая задержка фильтрации T2 составила 78 мс. После применения четырех фиктивных сканирований было собрано в общей сложности 73 728 точек данных, охватывающих спектральную ширину 12 019 Гц.

### Идентификация и количественное определение метаболитов

Идентификацию метаболитов проводили путем поиска по полным 1D- и 2D-данным JRES с использованием запатентованного кода Bbiorerefcode (Bruker Biospin Ltd.; Германия).

Количественное определение метаболитов и гликогена в образцах крови выполняли в полуавтоматическом режиме с помощью программного обеспечения Chenomx NMR Suite 9.0 (Chenomx Inc.; Канада). Результаты полуавтоматической количественной оценки обрабатывали вручную. Концентрации рассчитывали на основании известной концентрации TSP (0,4 ммоль / л).

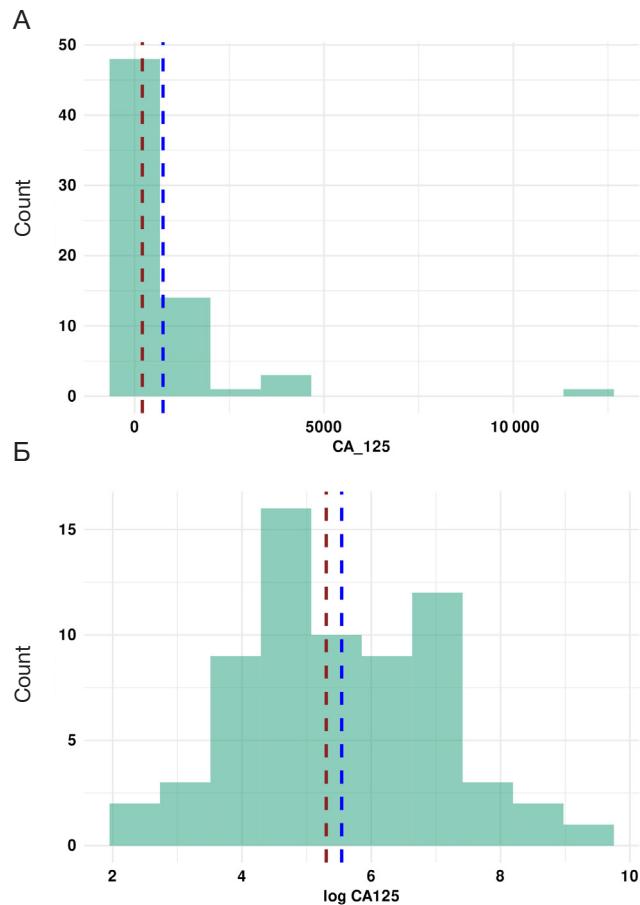
### Анализ данных

Все данные были проанализированы в программной среде R (<http://www.r-project.org/>, версии R 4.1.1, 4.1.2).

**Таблица 2.** Список количественно определенных метаболитов в плазме пациентов с РЯ ВС3. Значения представлены как медиана / межквартильный размах и округлены до ближайшего целого числа

Метаболит	Концентрация (μM) Медиана (IQR)	Метаболит	Концентрация (μM) Медиана (IQR)
2-Аминобутират	41 (27, 55)	Глутамин	310 (241, 407)
2-Гидроксибутират	104 (81, 127)	Глицин	149 (106, 229)
2-Оксоглутарат	30 (18, 48)	Изолейцин	45 (31, 64)
3-Гидроксибутират	206 (122, 460)	Изопропанол	10 (7, 18)
Ацетат	21 (15, 28)	Лактат	1191 (817, 2000)
Ацетоацетат	107 (55, 199)	Лейцин	125 (84, 150)
Ацетон	103 (58, 177)	Лизин	91 (62, 115)
Аланин	185 (114, 251)	Метанол	50 (35, 63)
Аргинин	89 (65, 130)	Пируват	41 (30, 57)
Бетаин	71 (50, 97)	Серин	119 (89, 155)
Цитрат	38 (29, 59)	Сукцинат	24 (6, 53)
Креатин	33 (20, 46)	Треонин	141 (112, 190)
Креатинин	40 (29, 48)	ТМАО	45 (30, 57)
Этанол	35 (30, 49)	Тирозин	42 (28, 57)
Формиат	27 (20, 35)	Валин	168 (108, 201)
Глюкоза	3052 (2080, 4199)	Миоинозитол	60 (45, 82)
Глутамат	111 (81, 156)		

Примечание: IQR — межквартильный размах.



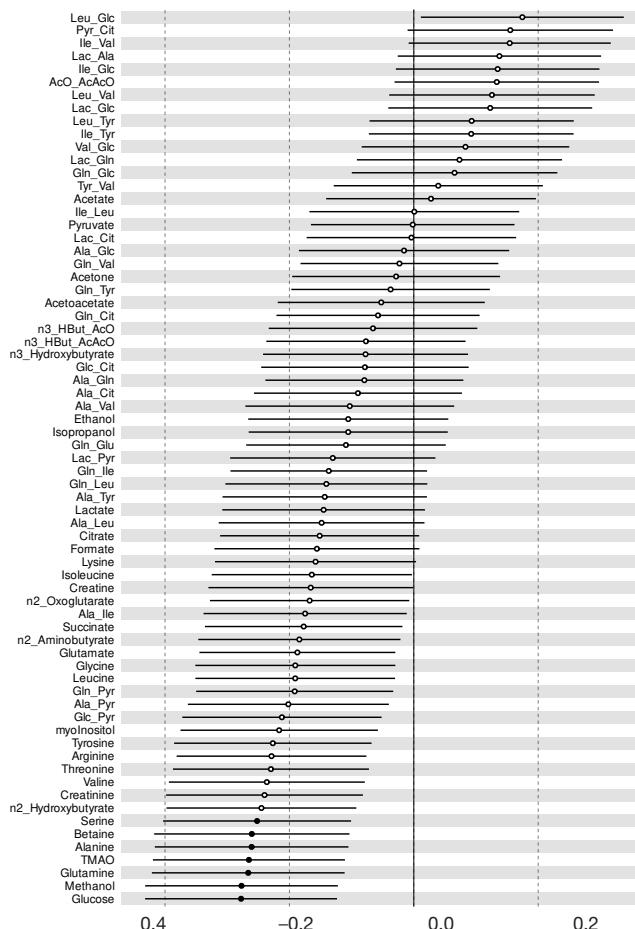
**Рис. 1.** Гистограмма уровней CA125. **А.** Исходные уровни и логарифмированные уровни. **Б.** Темно-красная линия указывает положение медианы, а синяя — среднее значение распределения

Начальную обработку таблиц данных производили с помощью пакетов tidyverse (версия 1.3.1) и readxl (1.3.1). Для визуализации результатов использовали ggplot2 (версия 3.3.5) и ggforestplot (версия 0.1.0).

Таблица 3. Сводные данные по рассчитанным отношениям метаболитов. Значения представлены как медиана / межквартильный размах

Отношение	Медиана (IQR1)	Отношение	Медиана (IQR)
Ala/Gln	0,58 (0,45, 0,67)	Glc/Cit	80 (42, 128)
Ala/Leu	1,54 (1,19, 1,94)	Gln/Cit	9,7 (4,5, 13,8)
Ala/Ile	3,98 (2,99, 5,08)	Glc/Pyr	65 (49, 125)
Ala/Tyr	4,23 (3,51, 5,03)	Gln/Glc	0,102 (0,090, 0,120)
Ala/Val	1,11 (0,90, 1,39)	Gln/Pyr	7 (5, 12)
Gln/Leu	2,77 (2,24, 3,24)	Lac/Ala	6,53 (5,27, 9,01)
Gln/Ile	7,10 (5,58, 8,47)	Lac/Cit	32 (16, 55)
Gln/Tyr	7,51 (6,34, 9,85)	Lac/Glc	0,38 (0,31, 0,53)
Gln/Val	2,06 (1,68, 2,38)	Lac/Gln	3,92 (3,02, 5,27)
Ile/Leu	0,38 (0,32, 0,46)	Lac/Pyr	27 (18, 46)
Ile/Tyr	1,08 (0,87, 1,40)	Pyr/Cit	0,90 (0,58, 1,36)
Ile/Val	0,29 (0,25, 0,35)	AcO/AcAcO	0,23 (0,12, 0,32)
Leu/Tyr	2,71 (2,25, 3,21)	n3_HBut/AcAcO	2,43 (1,84, 2,97)
Leu/Val	0,74 (0,69, 0,84)	n3_HBut/AcO	11 (6, 19)
Tyr/Val	0,27 (0,23, 0,33)	Ile/Glc	0,014 (0,012, 0,017)
Ala/Cit	4,61 (2,27, 7,95)	Leu/Glc	0,036 (0,032, 0,045)
Ala/Pyr	3,9 (2,6, 7,5)	Val/Glc	0,048 (0,043, 0,057)
Ala/Glc	0,057 (0,049, 0,070)	Gln/Glu	2,93 (2,41, 3,46)

**Примечание:** Ala/Gln — аланин/глутамин, Ala/Leu — аланин/лейцин, Ala/Ile — аланин/изолейцин, Ala/Tyr — аланин/тироzin, Ala/Val — аланин/валин, Gln/Leu — глутамин/лейцин, Gln/Val — глутамин/валин, Ile/Leu — изолейцин/лейцин, Ile\_Tyr — изолейцин/тироzin, Ile/Val — изолейцин/валин, Leu/Tyr — лейцин/тироzin, Leu/Val — лейцин/валин, Tyr/Tyr — тироzin/валин, Ala/Pyr — аланин/пируват, Ala/Glc — аланин/глюкоза, Glc/Cit — глюкоза/цитрат, Gln/Cit — глутамин/цитрат, Glc/Pyr — глюкоза/пируват, Gln/Glc — глутамин/глюкоза, Gln/Pyr — глутамин/пируват, Lac/Ala — лактат/аланин, Lac/Cit — лактат / цитрат, Lac/Glc — лактат/глюкоза, Lac/Gln — лактат/глутамин, Lac/Pyr — лактат/пируват, Pyr/Cit — пируват/цитрат, AcO/AcAcO — ацетат/ацетоуксусная кислота, n3\_HBut/AcAcO — n3\_гидроксибутират/ацетоуксусная кислота, n3\_HBut\_AcO — n3\_гидроксибутират/ацетат, Ile/Glc — изолейцин/глюкоза, Leu/Glc — лейцин/глюкоза, Val/Glc — валин/глюкоза, Gln/Glu — глутамин/глутамат.



**Рис. 2.** Форест-диаграмма, обобщающая все рассчитанные регрессионные модели. Модели отсортированы по их стандартизованным коэффициентам (ось x). Статистически значимые (после корректировки на множественное тестирование) модели выделены (закрашенные точки)

Таблица 4. Сводные данные по регрессионным моделям, представленным на рис. 3

Метаболит	St. $\beta$ (SE)	F-статистика	Скорректированный R <sup>2</sup>	Pr (> Chi)
Глюкоза	-0,277 (0,078)	4,483	0,137	0,0008
Метанол	-0,277 (0,079)	4,267	0,129	0,0008
Глутамин	-0,266 (0,079)	4,261	0,129	0,001
TMAO	-0,265 (0,078)	4,456	0,136	0,001
Аланин	-0,261 (0,079)	4,036	0,121	0,002
Бетанин	-0,260 (0,080)	3,606	0,106	0,002
Серин	-0,252 (0,077)	5,548	0,171	0,002

Примечание: St.  $\beta$  — стандартизованный  $\beta$ -коэффициент; SE — стандартная ошибка.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В выборку вошли 67 пациентов, из них 11 пациентов с I или II стадией и 56 пациентов — с III или IV стадией. Пациенты были сопоставимы по возрасту и индексу массы тела (ИМТ; табл. 1). Медианы возраста пациентов составили 53 (46; 59) года и 54 (49; 61) года, что сопоставимо с данными популяционных исследований [8]. Медианы ИМТ пациентов составили 24 (21; 27) кг/м<sup>2</sup> и 25 (23; 28) кг/м<sup>2</sup>.

На рис. 1 показана гистограмма уровней CA125 для исследуемой выборки в исходном (A) и логарифмическом масштабе (Б). Распределение, основанное на необработанных значениях, сильно смещено вправо (медиана — 200 ед./мл, среднее — 742,2 ед./мл); таким образом, чтобы оставаться в рамках основных допущений линейных моделей, были использованы логарифмически преобразованные значения CA125.

Чтобы получить представление о содержании метаболитов в плазме, использовали профилирование

методом 1Н-ЯМР, в результате чего было количественно определено 33 метаболита. В табл. 2 представлены значения их медиан и межквартильные интервалы. Чтобы расширить набор параметров, связанных с метаболическим статусом пациентов, к анализируемым данным были добавлены физиологически значимые соотношения. Эти соотношения могут быть информативны для понимания метаболизма аминокислот и ферментативных взаимопревращений (например, аланин / глутамин), глюконеогенеза (например, аланин / цитрат) и кетогенеза (например, ацетат / ацетоацетат). Все рассчитанные отношения, их медианы и межквартильный размах представлены в табл. 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Чтобы изучить связи между метаболитами и их соотношениями, были использованы модели линейной регрессии, в которых метаболиты выступали в качестве зависимой переменной, а CA125 — в качестве предиктора.

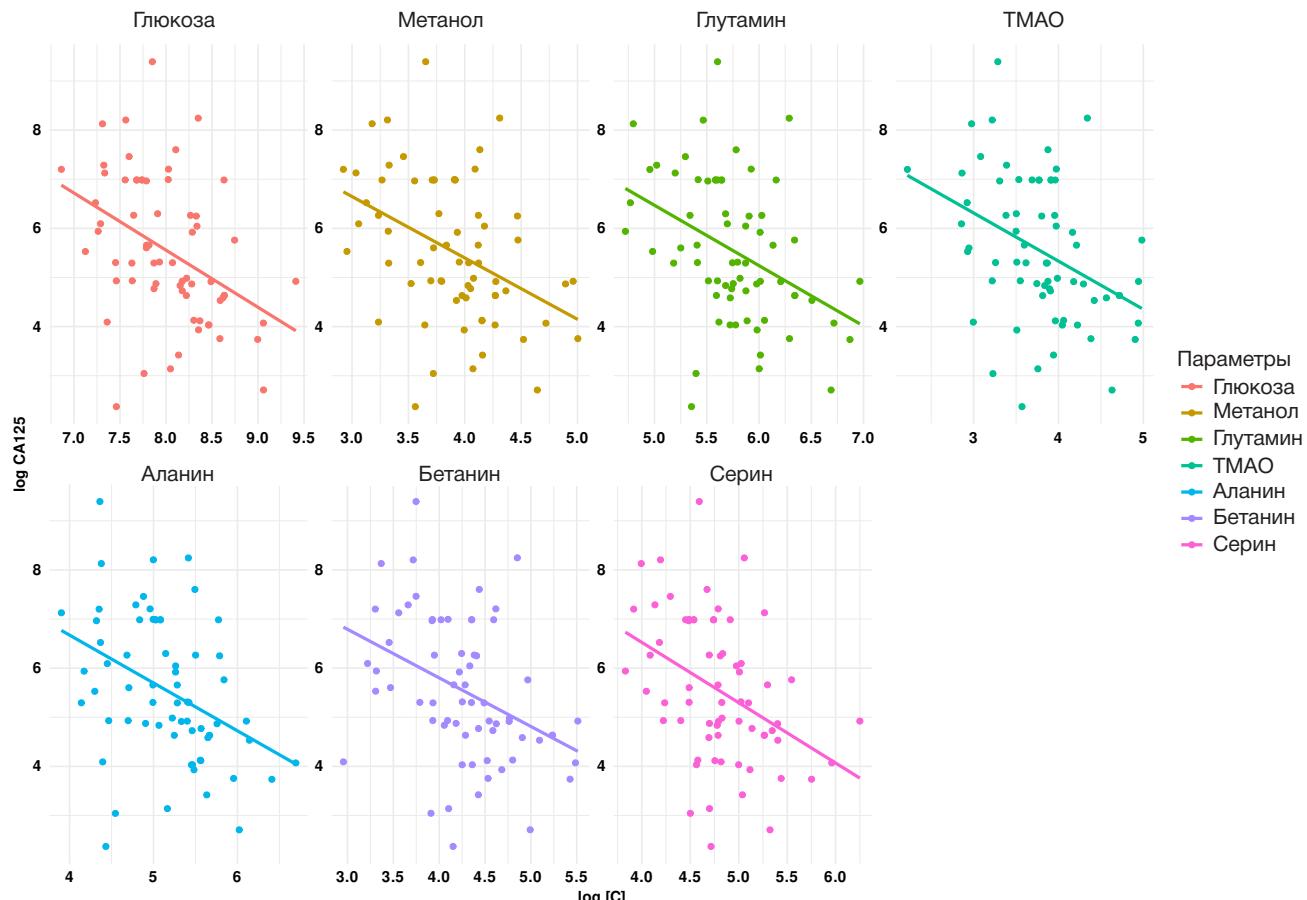


Рис. 3. Графики рассеяния с линиями регрессии, иллюстрирующими статистически значимые зависимости CA125 от концентраций метаболитов

Для исключения влияния конфаундеров при построении модели были учтены показатели возраста и ИМТ пациентов. Чтобы обеспечить прямое сравнение величины ассоциаций между всеми метаболитами и их отношениями, выполнили масштабирование значений. На рис. 2 показана сводная информация по всем моделям. Данные отсортированы в порядке убывания стандартизованных значений коэффициентов. Закрашенные точки соответствуют статистически значимым ассоциациям (для статистической значимости  $p$  учтена поправка на множественное тестирование гипотез). Характеристики модели для каждой ассоциации представлены в табл. 4 и на рис. 3. Результаты указывают на то, что уровень CA125 обратно пропорционально связан с некоторыми метаболитами в плазме крови (см. рис. 2). Из всех ассоциаций только наличие метанола может вызвать вопросы. Тем не менее метанол является нормальным компонентом плазмы человека [9]. Он появляется в основном как результат определенных предпочтений в диете (употребление свежих фруктов и ферментированных напитков), а также связан с некоторым вкладом микрофлоры кишечника. В нормальных условиях такие низкие или «физиологические» концентрации метанола метаболизируются в печени [10]. Отрицательная связь между метанолом и CA125 кажется противоречивой, но изменения в диетических привычках пациентов и снижение активности микробиоты на поздних стадиях онкологических заболеваний могут объяснить это наблюдение. Значимая отрицательная связь между CA125 и триметиламиноксидом, который часто интерпретируют как специфический для микробиоты метаболит [11], служит дополнительным аргументом в пользу микробиотического происхождения метанола. Установленные значимые ассоциации ряда метаболитов (глюкоза, глутамин, аланин, бетаин и серин) соответствуют изменениям в системном метаболизме на поздних стадиях рака. Механизм феномена сниженного содержания глюкозы и аминокислот (особенно глутамина и аланина) в физиологических жидкостях пациентов со злокачественными новообразованиями остается неизученным. Снижение уровня аланина по мере прогрессирования заболевания может быть объяснено его повышенным использованием в качестве основного глюконеогенного предшественника для удовлетворения высокого потребления глюкозы клетками опухоли [12].

Снижение уровня глутамина может быть связано с усилением глутаминолиза, необходимого для обеспечения предшественников для синтеза нуклеиновых кислот [12, 13]. Нет простого механистического объяснения роли бетаина в физиологии злокачественных новообразований. Тем не менее недавно проведенный метаанализ показал, что уровни бетаина снижают риск онкологических заболеваний раком [14]. Действительно, в качестве основного донора метильной группы в реакции превращения гомоцистеина в метионин бетаин играет значимую роль при патологиях, связанных с измененным системным метаболизмом гомоцистеина, фолиевой кислоты и витаминов группы В.

Несмотря на установленную статистическую значимость, модели описывают только 10–15% дисперсии данных — скорректированный  $R^2$  (табл. 4, рис. 3), что может быть объяснено размером выборки пациентов, а также неучтенными конфаундерами (особенности диеты, медикаменты).

## ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования были установлены статистически значимые ассоциации между измеренными уровнями эпитопа CA125 и концентрациями ряда метаболитов в плазме. Обнаруженная связь между CA125 в плазме и метаболическим составом плазмы является первым свидетельством того, что метаболом плазмы может отражать содержание циркулирующих мицинов. Это, в свою очередь, позволяет выдвинуть гипотезу о возможности включения метаболических показателей в общую оценку прогрессирования рака яичников на основе CA125. Интеграция метаболических показателей в перечень диагностических методов, используемых при раке яичников I–IV стадий, является перспективной, поскольку с момента открытия CA125 понимание биологии РЯ изменилось: опухоли классифицируют не только на основе гистологических признаков, но и на основе молекулярного фенотипа. Таким образом, в качестве следующего или параллельного шага можно предложить учитывать метаболический фенотип как отражение различных процессов, происходящих в организме пациентов с раком яичников.

## Литература

1. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4 (1): 45–60. DOI: 10.1038/NRC1251.
2. Yin BWT, Dnistriant A, Lloyd KO. Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene. *Int J cancer*. 2002; 98 (5): 737–40. DOI: 10.1002/IJC.10250.
3. Devine PL, McGuckin MA, Ward BG. Circulating mucins as tumor markers in ovarian cancer (review). *Anticancer Res*. 1992; 12 (3): 709–17. Accessed November 27, 2021. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/21533861\\_Circulating\\_mucins\\_as\\_tumor\\_markers\\_in\\_ovarian\\_cancer\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/21533861_Circulating_mucins_as_tumor_markers_in_ovarian_cancer_Review).
4. Pavlovich SV, Yurova MV, Melkumyan AG, Frankevich VE, Chagovets VV, Khabas GN. Biomarkers in ovarian neoplasms: opportunities, limitations, and prospects for using in reproductive-aged women. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2019; 11 (2019): 65–73. DOI: 10.18565/aig.2019.11.65–73.
5. Felder M, Kapur A, Gonzalez-Bosquet J, et al. MUC16 (CA125): tumor biomarker to cancer therapy, a work in progress. *Mol Cancer*. 2014; 13 (1): 1–15. DOI: 10.1186/1476-4598-13-129.
6. Seyfried TN, Flores RE, Poff AM, D'Agostino DP. Cancer as a metabolic disease: implications for novel therapeutics. *Carcinogenesis*. 2014; 35 (3): 515. DOI: 10.1093/CARCIN/BGT480.
7. Coller HA. Is Cancer a Metabolic Disease? *Am J Pathol*. 2014; 184 (1): 4. DOI: 10.1016/J.AJPATH.2013.07.035.
8. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О., редакторы. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии», 2020; 239 с.
9. Psychogios N, Hau DD, Peng J, et al. The Human Serum Metabolome. *PLoS One*. 2011; 6 (2): e16957. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0016957.
10. Dorokhov YL, Shindyapina AV, Sheshukova EV, Komarova TV. Metabolic methanol: molecular pathways and physiological roles. *Physiol Rev*. 2015; 95 (2): 603–44. DOI: 10.1152/PHYSREV.00034.2014.
11. Tang WHW, Wang Z, Kennedy DJ, et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide (TMAO) pathway contributes

- to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease. *Circ Res.* 2015; 116 (3): 448–55. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305360.
12. Lai HS, Lee JC, Lee PH, Wang ST, Chen WJ. Plasma free amino acid profile in cancer patients. *Semin Cancer Biol.* 2005; 15 (4): 267–76. DOI: 10.1016/J.SEMCANCER.2005.04.003.
13. Altman BJ, Stine ZE, Dang CV. From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2016; 16 (10): 619–34. DOI: 10.1038/NRC.2016.71.
14. Youn J, Cho E, Lee JE. Association of choline and betaine levels with cancer incidence and survival: A meta-analysis. *Clin Nutr.* 2019; 38 (1): 100–09. DOI: 10.1016/J.CLNU.2018.01.042.

## References

1. Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer.* 2004; 4 (1): 45–60. DOI: 10.1038/NRC1251.
2. Yin BWT, Dnistrian A, Lloyd KO. Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene. *Int J Cancer.* 2002; 98 (5): 737–40. DOI: 10.1002/IJC.10250.
3. Devine PL, McGuckin MA, Ward BG. Circulating mucins as tumor markers in ovarian cancer (review). *Anticancer Res.* 1992; 12 (3): 709–17. Accessed November 27, 2021. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/21533861\\_Circulating\\_mucins\\_as\\_tumor\\_markers\\_in\\_ovarian\\_cancer\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/21533861_Circulating_mucins_as_tumor_markers_in_ovarian_cancer_Review).
4. Pavlovich SV, Yurova MV, Melkumyan AG, Frankevich VE, Chagovets VV, Khabas GN. Biomarkers in ovarian neoplasms: opportunities, limitations, and prospects for using in reproductive-aged women. *Akush Ginekol (Sofia).* 2019; 11 (2019): 65–73. DOI: 10.18565/aig.2019.11.65–73.
5. Felder M, Kapur A, Gonzalez-Bosquet J, et al. MUC16 (CA125): tumor biomarker to cancer therapy, a work in progress. *Mol Cancer.* 2014; 13 (1): 1–15. DOI: 10.1186/1476-4598-13-129.
6. Seyfried TN, Flores RE, Poff AM, D'Agostino DP. Cancer as a metabolic disease: implications for novel therapeutics. *Carcinogenesis.* 2014; 35 (3): 515. DOI: 10.1093/CARCIN/BGT480.
7. Coller HA. Is Cancer a Metabolic Disease? *Am J Pathol.* 2014; 184 (1): 4. DOI: 10.1016/J.AJPATH.2013.07.035.
8. Kaprin AD, Starinskij VV, Shahzadova AO, redaktory. *Sostojanie onkologicheskoy pomoshchi naseleniju Rossii v 2019 godu.* M.: MNIOI im. P. A. Gercena — filial FGBU «NMIC radiologii», 2020; 239 s. Russian.
9. Psychogios N, Hau DD, Peng J, et al. The Human Serum Metabolome. *PLoS One.* 2011; 6 (2): e16957. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0016957.
10. Dorokhov YL, Shindyapina AV, Sheshukova EV, Komarova TV. Metabolic methanol: molecular pathways and physiological roles. *Physiol Rev.* 2015; 95 (2): 603–44. DOI: 10.1152/PHYSREV.00034.2014.
11. Tang WHW, Wang Z, Kennedy DJ, et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide (TMAO) pathway contributes to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease. *Circ Res.* 2015; 116 (3): 448–55. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305360.
12. Lai HS, Lee JC, Lee PH, Wang ST, Chen WJ. Plasma free amino acid profile in cancer patients. *Semin Cancer Biol.* 2005; 15 (4): 267–76. DOI: 10.1016/J.SEMCANCER.2005.04.003.
13. Altman BJ, Stine ZE, Dang CV. From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2016; 16 (10): 619–34. DOI: 10.1038/NRC.2016.71.
14. Youn J, Cho E, Lee JE. Association of choline and betaine levels with cancer incidence and survival: A meta-analysis. *Clin Nutr.* 2019; 38 (1): 100–09. DOI: 10.1016/J.CLNU.2018.01.042.

## ЗНАЧИМОСТЬ АНАЛИЗА ЛИПИДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ОТДЕЛЯЕМОГО ЦЕРВИКАЛЬНОГО КАНАЛА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПЛАЦЕНТА-АССОЦИИРОВАННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Н. А. Ломова<sup>✉</sup>, В. В. Чаговец, А. О. Токарева, Е. Л. Долгополова, Т. Э. Карапетян, А. П. Магомедова, Р. Г. Шмаков

Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

Использование омиксных технологий имеет на сегодняшний день большой потенциал для разработки новых диагностических подходов в акушерстве. Цервико-вагинальная жидкость (ЦВЖ) как часть системы «мать–плацента–плод» может быть использована для диагностики акушерских осложнений. Целью исследования было выявить особенности липидного состава отделяемого цервикального канала у беременных с задержкой роста плода и преэклампсии. Выполнен углубленный клиническо-анамнестический и масс-спектрометрический анализ ЦВЖ, полученный от 57 беременных женщин. Липидные экстракти ЦВЖ анализировали на жидкостном хроматографе, соединенном с масс-анализатором. В результате исследования идентифицировано 239 соединений липидов. Математический анализ выявил значимые различия между пациентками группы нормы и с задержкой развития плода (ЗРП) для 17 липидов ( $p < 0,05$ ). Между пациентками группы нормы и преэклампсии (ПЭ) значимые различия были обнаружены для трех липидов ( $p < 0,05$ ). Между пациентками с ПЭ и пациентками с ЗРП статистически значимая разница в уровнях была выявлена для двух липидов ( $p < 0,05$ ). Показано, что липиды относились преимущественно к классам оксилипидов, сфингомиелинов, триглицеридов и кардиолипинов. При построении диагностической модели достигнута чувствительность 0,81 и специфичность 0,91 (порог отсечки — 0,50; AUC — 0,85). Полученные данные перспективны для разработки методов диагностики плацента-ассоциированных осложнений беременности и понимания новых механизмов патогенеза данных осложнений.

**Ключевые слова:** прогностическая значимость, неинвазивная диагностика, преэклампсия, задержка роста плода, липидомика

**Финансирование:** исследование выполнено при поддержке государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации [Государственный регистрационный номер. AAAA-A18-118053190026-6].

**Благодарности:** авторы выражают особую благодарность д.ф.-м.н., руководителю отдела системной биологии в репродукции Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова В. Е. Франкевичу за помощь в подготовке исследования, систематическом анализе и редактировании рукописи.

**Вклад авторов:** Н. А. Ломова — анализ клинических данных, систематический анализ, написание рукописи; В. В. Чаговец — проведение метаболомного анализа методом масс-спектрометрии, статистический анализ полученных данных, редактирование рукописи; А. О. Токарева — проведение метаболомного анализа методом масс-спектрометрии, обработка масс-спектрометрических данных; Е. Л. Долгополова — сбор и подготовка биологических сред, статистический анализ результатов; Т. Э. Карапетян — анализ клинических данных, статистический анализ результатов; А. П. Магомедова — сбор и подготовка биологических сред; Р. Г. Шмаков — анализ клинических данных, систематический анализ, редактирование рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом НЦАГиП им. В. И. Кулакова (протокол № 11 от 11 ноября 2021 г.), проведено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации, Международной конференции по гармонизации (ICF), Стандартами надлежащей клинической практики (GCP), ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»; все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

<sup>✉</sup> Для корреспонденции: Наталья Анатольевна Ломова  
ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117997; natasha-lomova@yandex.ru

Статья получена: 23.11.2021 Статья принята к печати: 20.12.2021 Опубликована онлайн: 29.12.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.066

## SIGNIFICANCE OF ANALYSIS OF LIPID EXTRACTS IN CERVICAL CANAL SECRETION FOR DIAGNOSING OF PLACENTA-ASSOCIATED COMPLICATIONS OF PREGNANCY

Lomova NA<sup>✉</sup>, Chagovets VV, Tokareva AO, Dolgopolova EL, Karapetyan TE, Magomedova AP, Shmakov RG

Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Omics technologies hold great potential as the basis for development of the new diagnostic approaches in obstetrics. Cervicovaginal fluid (CVF) as part of the mother-placenta-fetus system can be used to diagnose obstetric complications. This study aimed to identify the features of lipid composition of the cervical canal secretion peculiar to Intrauterine Growth Restriction (IUGR) and preeclampsia (PE). We took CVF samples from 57 pregnant women and subjected them to an in-depth clinical-anamnestic and mass-spectrometric analysis. Lipid extracts of CVF were analyzed with a liquid chromatography system coupled with a mass analyzer. As a result, we identified 239 lipid compounds. In case of 17 lipids, mathematical analysis revealed significant differences between samples from women with normal pregnancy indicator values (normal group) and patients from the IUGR group ( $p < 0.05$ ). As for the normal group and PE group patients, there were significant differences identified for 3 lipids ( $p < 0.05$ ). Comparison of samples from the PE and IUGR groups yielded statistically significant differences in levels of two lipids ( $p < 0.05$ ). Mainly, the lipids were oxylipins, sphingomyelins, triglycerides, and cardiolipins. The developed diagnostic model had the sensitivity of 0.81 and specificity of 0.91 (cut-off level — 0.50; AUC — 0.85). The data obtained are valuable in the context of development of the new methods of diagnosing placenta-associated complications of pregnancy and for understanding new mechanisms of pathogenesis of these complications.

**Keywords:** prognostic value, non-invasive diagnostics, preeclampsia, intrauterine growth restriction, lipidomics

**Funding:** the study was supported through the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation [State registration number AAAA-A18-118053190026-6].

**Acknowledgements:** the authors are grateful to Dr. V. E. Frankovich, Head of the Department of Systems Biology in Reproduction of the V. I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, for his help in organization of the study, systematic analysis and manuscript editing.

**Author contribution:** Lomova NA — analysis of clinical data, systematic analysis, manuscript authoring; Chagovets VV — metabolic analysis (mass spectrometry), statistical analysis of the data obtained, manuscript editing; Tokareva AO — metabolic analysis (mass spectrometry), mass spectrometry data processing; Dolgopolova EL — collection and preparation of biological fluids, statistical analysis of the results; Karapetyan TE — analysis of clinical data, statistical analysis of the results; Magomedova AP — collection and preparation of biological fluids; Shmakov RG — analysis of clinical data, systematic analysis, manuscript editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the ethical committee of Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (Minutes #11 of November 11, 2021), conducted in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonization (ICH), Standards of Good Clinical Practice (GCP), Federal Law "On the Basics of Health Protection of Citizens in the Russian Federation", all patients signed a voluntary informed consent to participate in the study.

<sup>✉</sup> Correspondence should be addressed: Natalya A. Lomova  
Akademika Oparina, 4, Moscow, 117997, Russia; natasha-lomova@yandex.ru

Received: 23.11.2021 Accepted: 20.12.2021 Published online: 29.12.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.066

На сегодняшний день установлено, что такие распространенные осложнения беременности, как задержка роста плода (ЗРП) и преэклампсия (ПЭ), связаны с дисфункцией плаценты. При этих патологиях метаболическая и кровеносная система не способны адаптироваться к изменениям в период беременности, что приводит к гипертонии и нарушению плацентарного кровотока. Это не только вызывает нежелательные последствия для здоровья матери и ребенка в период гестации, но и может повлиять на их будущее здоровье. В последние годы в странах с развитой экономикой от 10 до 20% беременностей осложняются той или иной формой гипертонии [1]. ПЭ — это осложнение беременности, возникающее в плаценте и негативно влияющее как на мать, так и на плод. ПЭ выявляют у 5–7% беременных во всем мире [2]. Это состояние может возникнуть после 20-й недели беременности и характеризуется гипертонией, протеинурией и отеками, что вызывает в дальнейшем угнетение плода и препятствует положительному исходу беременности. ЗРП выражается в недостижении плодом своего потенциала роста, когда вес и индекс массы тела (ИМТ) новорожденного не соответствуют норме для определенного числа гестационных недель. ЗРП происходит примерно у 4–8% новорожденных в промышленно развитых странах и 6–30% — в развивающихся странах [3, 4]. Причины ЗРП подразделяются на внутренние, присущие плоду или плаценте, и внешние, такие как материнские факторы, воздействующие преимущественно на плаценту и плод, или на внутренние и внешние вместе.

На сегодняшний день отсутствуют адекватные способы прогнозирования данных осложнений беременности, поэтому очевидна необходимость разработки неинвазивных и объективных методов пренатальной диагностики и мониторинга.

Постгеномные омикс-технологии, в том числе метаболомика и липидомика, в настоящее время переживают фазу бурного роста и все более активно внедряются в клиническую практику. Применительно к рассматриваемым в данной работе патологиям были обнаружены значительные изменения уровней метаболитов еще до клинического проявления преэклампсии, и эти изменения усиливаются по мере прогрессирования расстройства [5–7]. Метаболомика может быть использована для обнаружения особенностей этих состояний на молекулярном уровне и способствовать выявлению биологических механизмов, лежащих в их основе, а также обнаружению новых биомаркеров. Метаболомика имеет также уникальные возможности для выявления различных эндотипов патологических состояний [7, 8] и для диагностики различных осложнений беременности. Похожие наблюдения были сделаны и для ЗРП [9]. В упомянутых работах проводили анализ метаболома крови. Забор крови является инвазивным способом получения биологического материала. В данной работе рассмотрена возможность использования отделяемого цервикального канала для достижения неинвазивности процедуры прогнозирования развития ПЭ или ЗРП.

На сегодняшний день поиск неинвазивных и малоинвазивных маркеров диагностики в акушерстве является перспективным направлением научного поиска. Одним из потенциальных локусов малоинвазивного забора биологического материала выступает цервикальный канал. Описаны потенциальные биомаркеры самопроизвольных преждевременных родов, которые

были идентифицированы с помощью целенаправленного протеомного анализа образцов цервико-вагинальной жидкости от бессимптомных женщин из группы высокого риска. Белки в образцах цервико-вагинальной жидкости от пациенток со спонтанными преждевременными родами относятся к белкам внеклеточного матрикса и / или регулируют физиологию клеточных мембран [10]. В 2020 г. в группе женщин с преждевременными родами и преждевременным разрывом плодных оболочек обнаружено достоверно значимое различие уровня цитокинов из образцов цервико-вагинальной жидкости, особенно IL6 и IL17α. Данные показатели могут быть более точными прогностическими маркерами преждевременных родов, чем фетальный фибронектин, используемый в клинической практике на сегодняшний день [11]. Во время беременности дисбактериоз микробиоты влагалища напрямую влияет на метаболические профили, что может вызвать преждевременные роды. В 2020 г. был проведен анализ метаболического профиля цервико-вагинальной жидкости с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса и определены метаболические маркеры для прогнозирования преждевременных родов. Анализ ROC-кривой показал, что ацетон, этиленгликоль, формиат, гликолят, изопропанол, метанол и триметиламиноксид имели лучшие прогностические значения для преждевременных родов. Эти метаболиты могут быть полезными маркерами для клинического применения и прогноза преждевременных родов [12]. Таким образом, на сегодняшний день доказано, что цервико-вагинальная жидкость, являющаяся частью системы «мать–плацента–плод», содержит целый ряд биологически активных компонентов, которые потенциально можно использовать для предикции и диагностики акушерской патологии.

Для выявления и валидации биомаркеров в метаболомных исследованиях используют широкий спектр аналитических методов: ультрафиолетовую и инфракрасную спектроскопию, спектроскопию ядерного магнитного резонанса, электрофорез, — но наибольшее распространение получили метаболомные платформы на базе жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией (ЖХ-МС).

Использование метаболомики в исследованиях акушерских синдромов, ассоциированных с плацентарной недостаточностью (ПЭ и ЗРП), имеют на сегодняшний день большой потенциал для понимания патогенеза данных осложнений беременности и разработки новых диагностических и прогностических подходов.

Целью исследования стал поиск различий липидома отделяемого цервикального канала пациенток с нормально протекающей беременностью и пациенток с задержкой роста плода и преэклампсией, а также разработка математических моделей на базе найденных различий для создания неинвазивных методов антенатальной диагностики ПЭ и ЗРП.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование «случай-контроль» было проведено в Национальном медицинском исследовательском центре акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова (Россия) в период с января по декабрь 2020 г. В нем участвовали 57 беременных женщин, проходящих обследование и родоразрешенных за это время в отделениях Центра. Беременные были разделены на три группы: I группа включала в себя 18 пациенток с

преэклампсией, II группа — 19 пациенток с задержкой роста плода, III группа — 20 беременных женщин без данных осложнений, условно здоровых (группа контроля). Критерии включения в группу I: повышение после 20-й недели беременности САД  $\geq 140$  мм рт. ст. и/или ДАД  $\geq 90$  мм рт. ст. независимо от уровня АД в анамнезе в сочетании с протеинурией  $\geq 0,3$  г в сутки или  $\geq 0,3$  г/л в двух порциях мочи, взятых с интервалом в 6 ч. Критерии включения в группу II: диагноз ЗРП, выставленный по данным УЗ-исследования, если было отмечено замедление показателей прироста предполагаемой массы плода (ПМП) и/или окружности живота (ОЖ)  $< 10$ -го процентиля в сочетании с патологическим кровотоком по данным УЗ-допплерографии либо значения ПМП и/или ОЖ  $< 3$ -го процентиля. Критерии исключения: многоглодная беременность, патология шейки матки, сахарный диабет, нарушение почечных функций, хроническая артериальная гипертензия, онкологические и инфекционно-воспалительные заболевания во время данной беременности. Случаи сочетания ПЭ и ЗРП не вошли в данное исследование. Всех пациенток родоразрешали путем операции кесарева сечения.

### Сбор и подготовка образцов

У всех беременных женщин, вошедших в исследование, в день госпитализации проводили забор цервико-вагинального отделяемого до проведения влагалищного исследования. Для исключения инфекционно-воспалительных заболеваний урогенитального тракта проводили забор отделяемого влагалища на микробиологическое исследование и мазок на степень чистоты влагалища. В среднем забор проходил за 10–14 дней до родоразрешения.

Забор цервико-вагинального отделяемого проводили с использованием одноразового влагалищного подъемника и стерильных одноразовых цитошеток. После введения подъемника и визуальной идентификации наружного канала шейки матки, в цервикальный канал на глубину 0,5 см вводили цитошетку и после вращательного движения по часовой стрелке извлекали таким образом, чтобы избежать контакта со стенками влагалища и наружными половыми органами. После забора образцы охлаждали в жидким азоте и хранили при температуре  $-80$  °C.

Перед анализом образцы подвергали жидкостно-жидкостной экстракции для получения липидной фракции. Для этого в пробирку с цервикальной щеткой добавляли 500 мкл раствора  $\text{H}_2\text{O}$  / метанол (1 : 1), после чего образец тщательно перемешивали в течение 5 мин и обрабатывали ультразвуком в течение еще 5 мин. После этого цервикальную щетку извлекали из пробирки, добавляли 1 мл хлороформа и перемешивали в течение 10 мин. Затем центрифугировали 5 мин при 13 000 G при температуре окружающей среды, отбирали 925 мкл нижнего слоя, высушивали в потоке азота и повторно растворяли в 200 мкл раствора изопропанол / ацетонитрил (1 : 1) для последующего анализа.

### Масс-спектрометрический анализ экстрактов липидов

Липидные экстракты анализировали на жидкостном хроматографе Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific; Германия), соединенном с масс-анализатором MaXis Impact qTOF с электрораспылительным источником ионизации (Bruker Daltonics; Германия). Разделение

образцов осуществляли методом обращенно-фазовой хроматографии на колонке Zorbax C18 (150 × 2,1 мм, 5 мкм; Agilent, США) с линейным градиентом от 30 до 90% элюента В за 20 мин. В качестве элюента А использовали раствор ацетонитрил / вода в объемном соотношении 60 : 40 с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония, в качестве элюента В — раствор изопропанол / ацетонитрил / вода (90 : 8 : 2), с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония. Скорость потока элюирования была равна 40 мкл/мин, объем инжектируемого образца — 3 мкл. Масс-спектры получали в режиме положительных и отрицательных ионов в диапазоне  $m/z$  100–1700 Да со следующими установками: напряжение на капилляре составляло 4,1 кВ в режиме положительных ионов и — 3,2 кВ в режиме отрицательных ионов, давление распыляющего газа — 0,7 бар, скорость потока осушающего газа — 6 л/мин, температура осушающего газа — 200 °C.

Исходные масс-спектрометрические данные обрабатывали с помощью программы msConvert из пакета Proteowizard 3.0.9987 [13], MzMine [14], Идентификацию липидов производили средствами скриптов LipidMatch [15] по точной массе и по характерным tandemным масс-спектрам (MC / MC). Номенклатура липидов соответствует LipidMaps [16].

### Статистический анализ

Для статистической обработки результатов использовали скрипты, написанные на языке R версии 3.3.3 [17], и программу RStudio 1.383 [18].

Соответствие анализируемых параметров закону нормального распределения оценивали по значениям теста Шапиро–Уилка. Статистический анализ проводили с помощью теста Стьюдента при нормальном распределении исследуемой величины или теста Манна–Уитни при парном сравнении в случае, когда распределение не соответствовало закону нормального распределения. Для описания количественных данных, имеющих нормальное распределение, использовали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD) в формате M (SD). При распределении признаков с распределением, отличающимся от нормального, их описывали в виде медианы (Me) и квартилей  $Q_1$  и  $Q_3$  в формате Me ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ). Величину порогового уровня значимости  $p$  принимали равной 0,05.

Для оценки возможности классификации пациентов по группам на основании исследуемых параметров были разработаны модели логистической регрессии. В качестве независимых переменных в моделях рассматривали липиды со статистически значимой разницей уровней между исследуемыми группами. Выбор переменных осуществляли на основе критерия AIC (информационного критерия Акаике) [19]. Производили поэтапный отбор переменных, пока это приводило к увеличению AIC. Качество полученной диагностической модели тестировали внутренней кросс-валидацией с контролем по отдельным объектам. Для оценки использовали значения площади под операционной кривой, чувствительность и специфичность. В качестве зависимой переменной выступала принадлежность пациентки к группе. Для каждой модели были определены критерий Вальда, 95%-й доверительный интервал (ДИ), отношение шансов (ОШ) и его доверительный интервал. Качество разработанных моделей определяли путем построения ROC-кривой,

Таблица 1. Клиническая характеристика исследуемых групп

Параметр	Описательная статистика параметра			Статистическая значимость различий параметров при попарном сравнении групп ( <i>p</i> -value)		
	ПЭ (n=18)	ЗРП (n=19)	Норма (n=20)	ПЭ-Норма	ЗРП-Норма	ПЭ-ЗРП
Возраст, лет	31 ± 5	34 ± 8	31 ± 5	0,769	0,21	0,331
ИМТ	28 ± 4	23 ± 4	27 ± 3	0,666	0,005	0,0045
Срок родоразрешения, недели	36 ± 3	37 ± 3,1	40 ± 1	< 0,001	< 0,001	0,342
Рост при рождении, см	46,6 ± 4,5	45,2 ± 5,3	52,6 ± 2,4	0,001	< 0,001	0,452
Вес при рождении, г	2341 ± 633,6	2128,7 ± 602	3493,6 ± 303,6	< 0,001	< 0,001	0,383
Оценка по Апгар на первой минуте, баллы	8 (7;8)	8 (8;8)	8 (8;8)	0,04	0,135	0,845
Оценка по Апгар на пятой минуте, баллы	9 (8;9)	9 (8;9)	9 (9;9)	0,131	0,05	0,859

определения площади под ROC-кривой, а также расчета чувствительности и специфичности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты анализа клинических параметров исследуемых групп представлены в табл. 1.

Было выявлено, что ИМТ беременных женщин из группы ЗРП статистически значимо ниже, чем у женщин групп «норма» и «презклампсия» ( $p = 0,005$  и  $p = 0,0045$  соответственно).

Все женщины были родоразрешены в III триместре беременности. Срок родоразрешения для групп с ПЭ и ЗРП значимо отличался от контрольной группы ( $p < 0,001$ ),

что объясняется необходимостью ускоренного родоразрешения по акушерским показаниям. Частота преждевременного родоразрешения в группе ПЭ составила 33,3% (шесть случаев), а ЗРП — 31,6% (шесть случаев).

Средний вес новорожденных в контрольной группе составил 3493,6 г по сравнению с 2341 г и 2128,7 г для случаев ПЭ и ЗРП соответственно ( $p \leq 0,001$ ).

Следует отметить, что оценка новорожденного по шкале Апгар в группе с ПЭ была значимо ниже на первой минуте жизни ( $p = 0,04$ ), тогда как в группе ЗРП — на пятой минуте ( $p = 0,05$ ), по сравнению с группой контроля. Вероятно, это обусловлено истощением компенсаторных механизмов и тяжелой адаптации в раннем неонатальном периоде

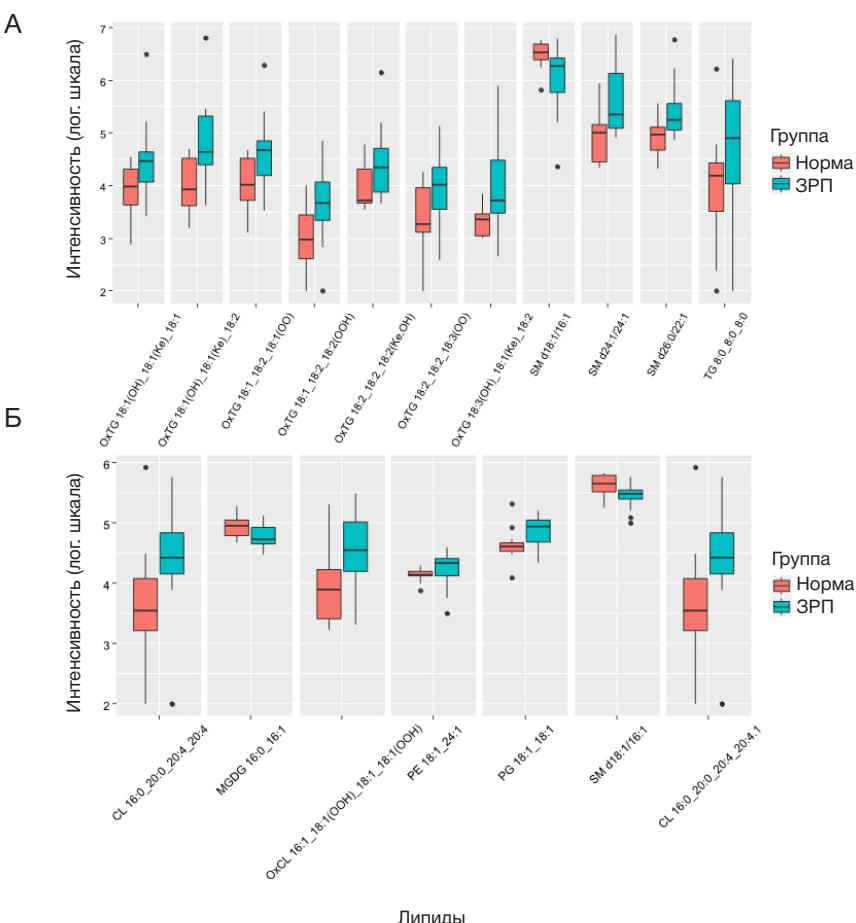


Рис. 1. Диаграмма размаха уровней липидов. Уровни липидов статистически значимо различаются между группами нормы и ЗРП в режиме положительных ионов (А), в режиме отрицательных ионов (Б)

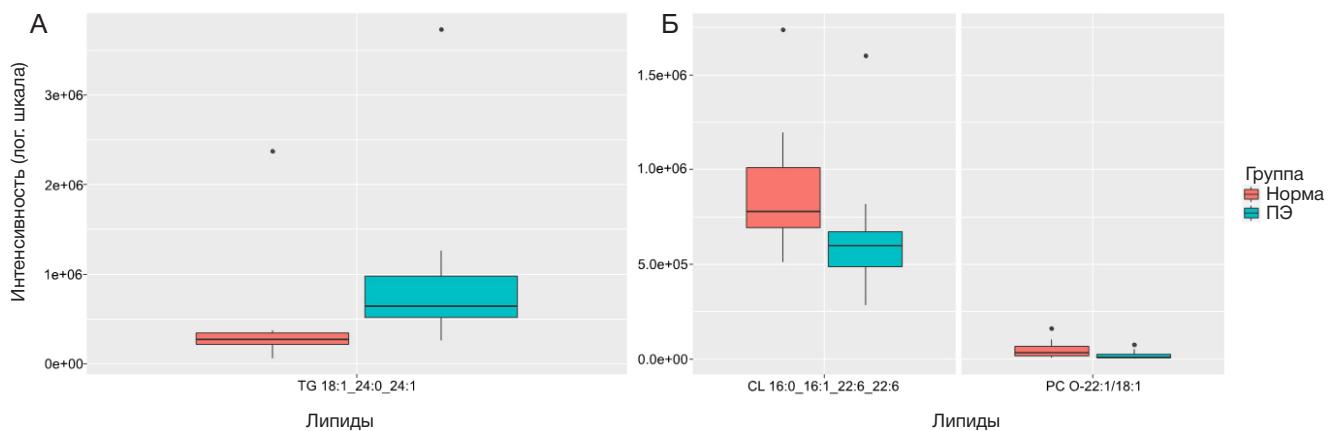


Рис. 2. Диаграмма размаха уровней липидов. Уровни липидов статистически значимо различаются между группами нормы и ПЭ в режиме положительных ионов (А), в режиме отрицательных ионов (Б)

у новорожденных, длительный период пребывающих в условиях хронической гипоксии и отставания роста. У одного ребенка выявлена асфиксия средней степени тяжести при рождении, потребовавшая дополнительной респираторной поддержки.

Анализ липидного состава отделяемого цервикального канала осуществляли с помощью ЖХ-МС. МС проводили как в режиме положительных, так и в режиме отрицательных ионов, поскольку такой подход позволяет расширить охват зарегистрированных и идентифицированных липидов. В результате ЖХ-МС-анализа было идентифицировано 129 липидов в режиме положительных ионов и 110 соединений липидов в режиме отрицательных ионов. Сравнение относительных уровней липидов между исследуемыми группами позволило выявить 10 липидов со статистически значимой разницей между группами нормы и ЗРП в режиме положительных ионов и семь липидов в режиме отрицательных ионов (рис. 1). При сравнении группы нормы и ПЭ были найдены один липид со статистически значимой разницей уровней в режиме положительных ионов и два липида в режиме отрицательных ионов (рис. 2). Между группами ПЭ и ЗРП статистически значимую разницу в уровнях имели два липида (рис. 3).

Липиды относились преимущественно к классам оксилипидов (окситриглицеридов и оксикардиолипинов), сфингомиелинов, триглицеридов и кардиолипинов.

На основе полученных данных были построены модели логистической регрессии для определения пациенток,

у которых может развиться ЗРП или ПЭ по липидам отделяемого цервикального канала (табл. 2). Для оценки качества разработанных моделей был выполнен ROC-анализ, результаты которого представлены в табл. 3 и на рис. 4, 5. Наилучшими параметрами характеризовались модели для классификации ЗРП / Норма, построенные по данным, полученным как в режиме положительных, так и в режиме отрицательных ионов. AUC составили 0,70 и 0,85 соответственно. Модель для классификации по группам ПЭ / Норма имела достаточно высокое значение специфичности (0,91), но низкую чувствительность (0,30). Таким образом, из рассмотренных в данной работе акушерских патологий ЗРП и ПЭ, неинвазивный подход анализа липидного профиля отделяемого цервикального канала представляется более перспективным для диагностики ЗРП. Применимость описанного подхода для диагностики ПЭ требует дополнительного исследования. Для дальнейшего усовершенствования и валидации могут быть рассмотрены модели ЗРП / Норма и ЗРП / ПЭ, построенные по данным МС в режиме отрицательных и положительных ионов соответственно.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведенного нами анализа идентифицировано 129 липидов в режиме положительных ионов и 110 соединений липидов в режиме отрицательных ионов, относящихся к простым липидам глициеридам и к

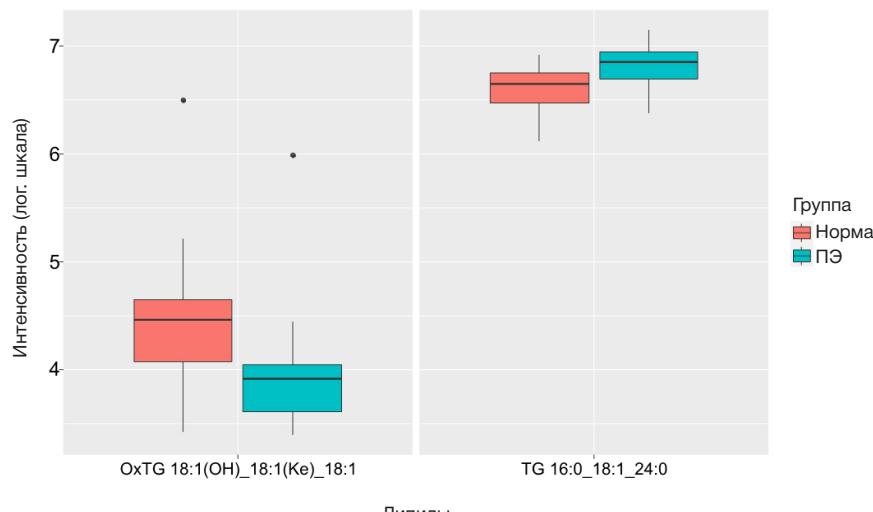


Рис. 3. Диаграмма размаха уровней липидов. Уровни липидов статистически значимо различаются между группами ПЭ и ЗРП (режим положительных ионов)

**Таблица 2.** Характеристики компонентов, использованных для построения моделей логистической регрессии, позволяющих классифицировать пациенток по группам ЗРП, ПЭ, Норма по липидному профилю отделяемого цервикального канала: независимая переменная, ее коэффициент  $\beta$ , доверительный интервал (ДИ)  $\beta$ , критерий Вальда, вероятность различия значения коэффициента от нуля  $P$

Липиды	$\beta$	ДИ $\beta$	Критерий Вальда	$P$
ЗРП / Норма, режим положительных ионов				
Свободный член	-0,93	-2,63-0,43	-1,20	0,23
OxTG 18:3(OH)_18:1(Ке)_18:2	3,01·10 <sup>-4</sup>	5,99·10 <sup>-5</sup> -8,16·10 <sup>-4</sup>	1,38	0,17
ЗРП / Норма, режим отрицательных ионов				
Свободный член	-10,73	-31,29-1,54	-1,62	0,1
SM d22:3/22:4	3,20·10 <sup>-3</sup>	6,28·10 <sup>-4</sup> -8,88·10 <sup>-3</sup>	1,65	0,1
PE 18:1_24:1	5,84e-04	1,72·10 <sup>-4</sup> -1,49·10 <sup>-3</sup>	1,96	0,05
MGDG 16:0_16:1	-3,01·10 <sup>-5</sup>	-8,54·10 <sup>-5</sup> -4,33·10 <sup>-6</sup>	-1,45	0,15
ПЭ / Норма, режим положительных ионов				
Свободный член	-0,75	-2,23-0,45	-1,14	0,25
TG 18:1_24:0_24:1	1,06·10 <sup>-6</sup>	-2,27·10 <sup>-7</sup> -3,53·10 <sup>-6</sup>	1,19	0,24
ПЭ / ЗРП, режим положительных ионов				
Свободный член	2,71	0,71-5,45	2,31	0,02
TG 16:0_18:1_24:0	-3,91·10 <sup>-7</sup>	-8,39·10 <sup>-7</sup> -7,62·10 <sup>-8</sup>	-2,07	0,04

сложным липидам, в свою очередь делящимся на глицерофосфолипиды и сфинголипиды. Эта обширная группа природных органических соединений, включающая жиры и жироподобные вещества, необходима для построения клеточных мембран и регуляции обмена веществ и имеет несомненный интерес в исследовании ее изменения в акушерской патологии и особенно детекции колебания ее уровня на границе системы «мать–плацента–плод». Жирные кислоты и липиды во время эмбрионального периода играют первостепенную роль в росте и развитии. Дисбаланс потребления жирных кислот в перинатальном периоде изменяет состав жирных кислот мембранных фосфолипидов плода, что может вызвать структурные и функциональные проблемы в его клетках. Кроме того, метаболическая и нейроэндокринная среда плода и новорожденного играет ключевую роль в регулировании энергетического баланса. Дисбаланс жирных кислот и липидов во время беременности может привести к необратимым изменениям в контроле нейроэндокринной функции и энергетическом обмене у плода, что приведет к метаболическому программированию. Таким образом, детекция уровня липидов позволяет зафиксировать нарушения в работе «мать–плацента–плод» еще на доклиническом этапе [20]. Показано, что метаболический путь сфинголипидов играет критическую роль в толерантности плода и матери, регулируя врожденный иммунитет на границе раздела между плодами и матерями как в экспериментах с животными, так и у людей, и может дать новое понимание разработки терапевтических стратегий лечения акушерских осложнений [21].

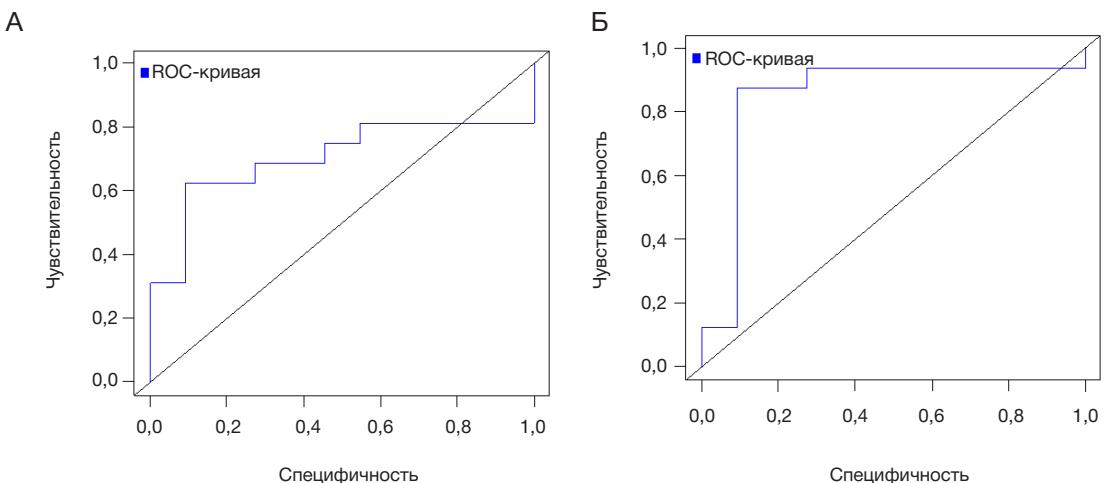
Во время беременности метаболические изменения происходят во всех системах организма женщины,

**Таблица 3.** Характеристики моделей логистической регрессии, позволяющих классифицировать пациенток по группам ЗРП, ПЭ, Норма по липидному профилю отделяемого цервикального канала. ПЦПР — прогностическая ценность положительного результата, ПЦОР — прогностическая ценность отрицательного результата

Группы пациентов	МС-режим регистрации ионов	Чувствительность	Специфичность	Порог	AUC	ПЦПР	ПЦОР
ЗРП / Норма	положительный	0,63	0,91	0,2	0,7	0,6	0,89
ЗРП / Норма	отрицательный	0,81	0,91	0,5	0,85	0,79	0,9
ПЭ / Норма	положительный	0,3	0,91	0,1	0,67	0,27	0,88
ЗРП / ПЭ	положительный	0,67	0,6	0,5	0,66	0,6	0,58

в том числе и в липидном обмене. Холестерин и свободные жирные кислоты необходимы для клеточного синтеза эмбриональных мембран. Плод синтезирует липиды и широко использует материнские, хотя свободный трансплацентарный транспорт материнских липопротеинов ограничен «плацентарным барьером» [22]. Фосфолипиды и триацилглицерины (ТАГ) из организма матери не проникают напрямую к плоду. Существует ряд механизмов транспорта жирных кислот на территорию плода, которые задействуют способность связывать жирные кислоты [23] и интенсивно транспортировать их через плаценту. Циркулирующие липиды имеют разнообразное влияние на функцию эндотелиальных клеток. Дислипидемия часто связана с дисфункцией этих клеток [24]. Исследования показали зависимую от концентрации связь между повышенным уровнем ТАГ и риском ПЭ. Корреляцию между дислипидемией и ПЭ можно объяснить множеством механизмов. Например, увеличение таких липидных фракций, как ТАГ, ведет к их накоплению в эндотелиальных клетках и уменьшению выработки простатицилина, что впоследствии приводит к эндотелиальной дисфункции [25]. В нашем исследовании уровень TG 18:1\_24:0\_24:1, CL 16:0\_16:1\_22:6\_22:6, PC O-22:1/18:1 имели достоверно значимые различия в группе «ПЭ», по сравнению с группой «Норма» ( $\rho = 0,008$ ,  $\rho = 0,02$ ,  $\rho = 0,04$  соответственно). При построении диагностической модели ПЭ / Норма достигнута специфичность 0,91 (порог отсечки — 0,10; AUC — 0,67).

При синдроме ЗРП на фоне нарушений структуры и функции плаценты мы видим проявления проблемы на территории плода и не отмечаем их в организме матери. В ряде исследований [26, 27] было установлено,



**Рис. 4.** Операционная кривая, построенная для диагностической модели ЗРП / Норма по МС-данным, зарегистрированным в режиме положительных ионов (А) и в режиме отрицательных ионов (Б)

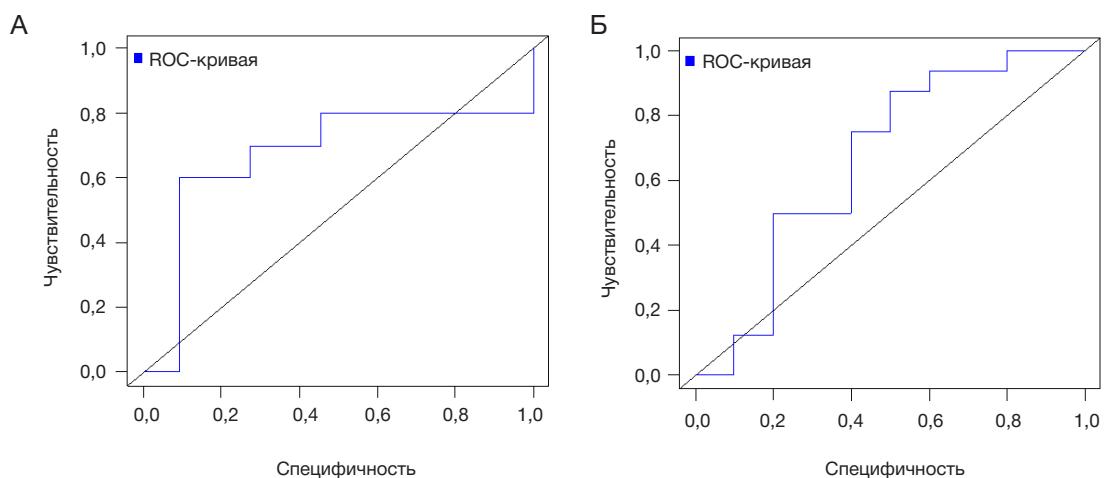
что при беременности, осложненной ЗРП, происходит снижение содержания уровня липидов в пуповинной крови и крови матери, а также уменьшение числа их рецепторов. Снижение уровня липидов и их рецепторов в фето-плацентарном комплексе, вероятно, будет иметь весьма серьезные последствия для нормального роста и развития плода, так как они не будут способны в достаточной мере обеспечивать транспорт холестерина и нормальное функционирование плаценты и гармоничный рост плода. В нашей работе уровни 17 липидов (табл. 2) имели достоверно значимые различия в группе «ЗРП», по сравнению с группой «Норма» ( $p < 0,05$ ). При построении диагностической модели ЗРП / Норма достигнута чувствительность 0,81, специфичность 0,91 (порог отсечки — 0,50; AUC — 0,85).

Особый интерес представляет достоверно значимое различие полученных результатов образцов цервико-вагинального отделяемого среди групп пациенток с ЗРП и ПЭ ( $p = 0,04$ ). Это наглядно демонстрирует существующие патогенетические различия данных осложнений беременности, изначально объединенных общей идеей плацентарной дисфункции.

#### ВЫВОДЫ

В результате проведенного нами исследования наглядно продемонстрирована возможность использования

цервико-вагинальной жидкости в комплексном диагностическом мониторинге беременных с плаценто-ассоциированными акушерскими осложнениями. Выполнен углубленный клинико-анамнестический и масс-спектрометрический анализ данных, полученных от 57 беременных женщин. При изучении отделяемого цервикального канала беременных с ЗРП и ПЭ было идентифицировано 129 соединений липидов в режиме положительных ионов и 110 соединений липидов в режиме отрицательных ионов. В нашем исследовании уровень ряда липидов имел достоверно значимые различия в группах «ПЭ» и «ЗРП» по сравнению с группой «Норма». Это наблюдение может указывать на существующие различия в цепи биологических процессов патогенеза данных осложнений беременности, объединенных общей идеей плацентарной дисфункции и в результате дальнейших исследований в данном направлении выявить новые подходы к разработке таргетных путей терапии «больших акушерских синдромов». Липиды относились преимущественно к классам оксилипидов (окситриглицеридов и оксикардиолипинов), сфингомиelinов, триглицеридов и кардиолипинов, что позволяет использовать данный метод в комплексе предиктивных мероприятий. На основании выявленных различий были созданы модели логистической регрессии, которые могут быть перспективными для разработки методов неинвазивной диагностики данных заболеваний.



**Рис. 5.** Операционная кривая, построенная для диагностической модели ПЭ / Норма (А), для ЗРП / ПЭ по МС-данным, зарегистрированным в режиме положительных ионов (Б)

В результате проведенного нами исследования продемонстрирована возможность использования неинвазивного метода определения уровня липидов

в цервико-вагинальной жидкости в комплексном диагностическом мониторинге беременных с плаценто-ассоциированными акушерскими осложнениями.

## Литература

1. Sutton ALM, Harper LM, Tita ATN. Hypertensive Disorders in Pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2018; 45 (2): 333–47.
2. Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2020; 135 (6): 1492–5.
3. Nardozza LMM, Caetano ACR, Zamarian ACP, Mazzola JB, Silva CP, Marçal VMG, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet.* 2017; 295 (5): 1061–77.
4. Gaccioli F, Lager S. Placental Nutrient Transport and Intrauterine Growth Restriction. *Front Physiol.* 2016; 7. DOI: 10.3389/fphys.2016.00040.
5. Benton SJ, Ly C, Vukovic S, Bainbridge SA. Andrée Gruslin award lecture: Metabolomics as an important modality to better understand preeclampsia. *Placenta.* 2017; 60: S32–S40.
6. Kenny LC, Broadhurst D, Brown M, Dunn WB, Redman CWG, Kell DB, et al. Detection and identification of novel metabolomic biomarkers in preeclampsia. *Reprod Sci.* 2008; 15 (6): 591–7.
7. Anderson, Deborah K., Liang JW and CL. Applications of Metabolomics in the Study and Management of Preeclampsia; A Review of the Literature Rachel. *Metabolomics.* 2017; 13 (7): 86.
8. Comhair SAA, McDunn J, Bennett C, Fettig J, Erzurum SC, Kalhan SC. Metabolomic Endotype of Asthma. *J Immunol.* 2015; 195 (2): 643–50.
9. Moros G, Boutsikou T, Fotakis C, Iliodromiti Z, Sokou R, Katsila T, et al. Insights into intrauterine growth restriction based on maternal and umbilical cord blood metabolomics. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 1–10.
10. Parry S, Leite R, Esplin MS, Bukowski R, Zhang H, Varner M, Andrews WW, Saade GR, Ilekis J, Reddy UM, Huang H, Sadovsky Y, Blair IA, Biggio J; Cervicovaginal fluid proteomic analysis to identify potential biomarkers for preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 222 (5): 493.e1–493.e13. DOI: 10.1016/j.ajog.2019.11.1252. Epub 2019 Nov 20.
11. Park S, You YA, Yun H, Choi SJ, Hwang HS, Choi SK, Lee SM, Kim YJ. Cervicovaginal fluid cytokines as predictive markers of preterm birth in symptomatic women. *Obstet Gynecol Sci.* 2020; 63 (4): 455–63. DOI: 10.5468/ogs.19131. Epub 2020 Jun 19.
12. AbuZar Ansari, Heeyeon Lee, Young-Ah You, Youngae Jung, Sunwha Park, Soo Min Kim, Geum-Sook Hwang, Young Ju Kim. Identification of Potential Biomarkers in the Cervicovaginal Fluid by Metabolic Profiling for Preterm Birth Metabolites. *2020; 10 (9): 349.* DOI: 10.3390/metabo10090349.
13. Chambers MC, MacLean B, Burke R, Amodei D, Ruderman DL, Neumann S, et al. A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. *Nature Biotechnology.* 2012; 30 (10): 918–20.
14. Pluskal T, Castillo S, Villar-Briones A, Orešić M. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC Bioinformatics.* 2010; 11. DOI: 10.1186/1471-2105-11-395.
15. Koelmel JP, Kroeger NM, Ulmer CZ, Bowden JA, Patterson RE, Cochran JA, et al. LipidMatch: An automated workflow for rule-based lipid identification using untargeted high-resolution tandem mass spectrometry data. *BMC Bioinformatics.* 2017; 18 (1): 1–11.
16. Liebisch G, Vizcaíno JA, Köfeler H, Trötzmüller M, Griffiths WJ, Schmitz G, et al. Shorthand notation for lipid structures derived from mass spectrometry. *J Lipid Res.* 2013; 54 (6): 1523–30.
17. R : A Language and Environment for Statistical Computing. 2018. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing.
18. R team. R Studio: Integrated Development for R. 2016.
19. Bozdogan H. Model selection and Akaike's Information Criterion (AIC): The general theory and its analytical extensions. *Psychometrika.* 1987; 52 (3): 345–70.
20. Kabaran S, Besler HT. Do fatty acids affect fetal programming? *J Health Popul Nutr.* 2015; 33: 14. DOI: 10.1186/s41043-015-0018-9. PMID: 26825664.
21. Mizugishi K, Inoue T, Hatayama H, Bielawski J, Pierce JS, Sato Y, Takaori-Kondo A, Konishi I, Yamashita K. Sphingolipid pathway regulates innate immune responses at the fetomaternal interface during pregnancy. *J Biol Chem.* 2015; 290 (4): 2053–68. DOI: 10.1074/jbc.M114.628867. Epub 2014 Dec 11. PMID: 25505239.
22. Herrera E. Maternal-fetal transfer of lipid metabolites. In: RA Polin, WW Fox, SH Abman, editors. *Fetal and Neonatal Physiology.* 2004; p. 375–388.
23. Погорелова Т. Н. Линде В. А., Гунько В. О., Крукиер И. И., Селютина С. Н. Метаболизм, транспорт и состав липидов в плаценте. *Фундаментальные исследования.* 2015; 2 (26): 5832–6.
24. Stewart DJ, Monge JC. Hyperlipidemia and endothelial dysfunction. *Curr Opin Lipidol.* 1993; 4: 319–24.
25. Wiznitzer A, Mayer A, Novack V. Association of lipid levels during gestation with preeclampsia and gestational diabetes mellitus: a population-based study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2009; 201 (5): 482.e1–482.
26. Jin W-Y, Lin S-L, Hou R-L, Xiao-Yang Chen, Ting Han, Yan Jin, et al. Associations between maternal lipid profile and pregnancy complications and perinatal outcomes: a population-based study from China. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2016; 16: 60. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12884-016-0852-9>.
27. Oluwole AA, Adegbesan-Omilabu MA, Okunade KS. Preterm delivery and low maternal serum cholesterol level: Any correlation? *Nigerian Medical Journal: Journal of the Nigeria Medical Association.* 2014; 55: 5: 406–10. Available from: <https://doi.org/10.4103/0300-1652.140381>.

## References

1. Sutton ALM, Harper LM, Tita ATN. Hypertensive Disorders in Pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2018; 45 (2): 333–47.
2. Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2020; 135 (6): 1492–5.
3. Nardozza LMM, Caetano ACR, Zamarian ACP, Mazzola JB, Silva CP, Marçal VMG, et al. Fetal growth restriction: current knowledge. *Arch Gynecol Obstet.* 2017; 295 (5): 1061–77.
4. Gaccioli F, Lager S. Placental Nutrient Transport and Intrauterine Growth Restriction. *Front Physiol.* 2016; 7. DOI: 10.3389/fphys.2016.00040.
5. Benton SJ, Ly C, Vukovic S, Bainbridge SA. Andrée Gruslin award lecture: Metabolomics as an important modality to better understand preeclampsia. *Placenta.* 2017; 60: S32–S40.
6. Kenny LC, Broadhurst D, Brown M, Dunn WB, Redman CWG, Kell DB, et al. Detection and identification of novel metabolomic biomarkers in preeclampsia. *Reprod Sci.* 2008; 15 (6): 591–7.
7. Anderson, Deborah K., Liang JW and CL. Applications of Metabolomics in the Study and Management of Preeclampsia; A Review of the Literature Rachel. *Metabolomics.* 2017; 13 (7): 86.
8. Comhair SAA, McDunn J, Bennett C, Fettig J, Erzurum SC, Kalhan SC. Metabolomic Endotype of Asthma. *J Immunol.* 2015; 195 (2): 643–50.
9. Moros G, Boutsikou T, Fotakis C, Iliodromiti Z, Sokou R, Katsila T, et al. Insights into intrauterine growth restriction based on maternal and umbilical cord blood metabolomics. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 1–10.
10. Parry S, Leite R, Esplin MS, Bukowski R, Zhang H, Varner M,

- Andrews WW, Saade GR, Illeks J, Reddy UM, Huang H, Sadovsky Y, Blair IA, Biggio J; Cervicovaginal fluid proteomic analysis to identify potential biomarkers for preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 222 (5): 493.e1–493.e13. DOI: 10.1016/j.ajog.2019.11.1252. Epub 2019 Nov 20.
11. Park S, You YA, Yun H, Choi SJ, Hwang HS, Choi SK, Lee SM, Kim YJ. Cervicovaginal fluid cytokines as predictive markers of preterm birth in symptomatic women. *Obstet Gynecol Sci*. 2020; 63 (4): 455–63. DOI: 10.5468/ogs.19131. Epub 2020 Jun 19.
12. AbuZar Ansari, Heeyeon Lee, Young-Ah You, Youngae Jung, Sunwha Park, Soo Min Kim, Geum-Sook Hwang, Young Ju Kim. Identification of Potential Biomarkers in the Cervicovaginal Fluid by Metabolic Profiling for Preterm Birth Metabolites. 2020; 10 (9): 349. DOI: 10.3390/metabo10090349.
13. Chambers MC, MacLean B, Burke R, Amodei D, Ruderman DL, Neumann S, et al. A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. *Nature Biotechnology*. 2012; 30 (10): 918–20.
14. Pluskal T, Castillo S, Villar-Briones A, Orešič M. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. *BMC Bioinformatics*. 2010; 11. DOI: 10.1186/1471-2105-11-395.
15. Koelmel JP, Kroeger NM, Ulmer CZ, Bowden JA, Patterson RE, Cochran JA, et al. LipidMatch: An automated workflow for rule-based lipid identification using untargeted high-resolution tandem mass spectrometry data. *BMC Bioinformatics*. 2017; 18 (1): 1–11.
16. Liebisch G, Vizcaíno JA, Kofeler H, Trötzmüller M, Griffiths WJ, Schmitz G, et al. Shorthand notation for lipid structures derived from mass spectrometry. *J Lipid Res*. 2013; 54 (6): 1523–30.
17. R : A Language and Environment for Statistical Computing. 2018. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing.
18. R team. R Studio: Integrated Development for R. 2016.
19. Bozdogan H. Model selection and Akaike's Information Criterion (AIC): The general theory and its analytical extensions. *Psychometrika*. 1987; 52 (3): 345–70.
20. Kabaran S, Besler HT. Do fatty acids affect fetal programming? *J Health Popul Nutr*. 2015; 33: 14. DOI: 10.1186/s41043-015-0018-9. PMID: 26825664.
21. Mizugishi K, Inoue T, Hatayama H, Bielawski J, Pierce JS, Sato Y, Takaori-Kondo A, Konishi I, Yamashita K. Sphingolipid pathway regulates innate immune responses at the fetomaternal interface during pregnancy. *J Biol Chem*. 2015; 290 (4): 2053–68. DOI: 10.1074/jbc.M114.628867. Epub 2014 Dec 11. PMID: 25505239.
22. Herrera E. Maternal-fetal transfer of lipid metabolites. In: RA Polin, WW Fox, SH Abman, editors. *Fetal and Neonatal Physiology*. 2004; p. 375–388.
23. Pogorelova TN, Linde VA, Gunko VO, Kruckier II, Seljutina SN. Metabolizm, transport i sostav lipidov v placente. Fundamental'nye issledovaniya. 2015; 2 (26): 5832–6. Russian.
24. Stewart DJ, Monge JC. Hyperlipidemia and endothelial dysfunction. *Curr Opin Lipidol*. 1993; 4: 319–24.
25. Wiznitzer A, Mayer A, Novack V. Association of lipid levels during gestation with preeclampsia and gestational diabetes mellitus: a population-based study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2009; 201 (5): 482.e1–482.
26. Jin W-Y, Lin S-L, Hou R-L, Xiao-Yang Chen, Ting Han, Yan Jin, et al. Associations between maternal lipid profile and pregnancy complications and perinatal outcomes: a population-based study from China. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2016; 16: 60. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12884-016-0852-9>.
27. Oluwole AA, Adegbesan-Omilabu MA, Okunade KS. Preterm delivery and low maternal serum cholesterol level: Any correlation? *Nigerian Medical Journal: Journal of the Nigeria Medical Association*. 2014; 55: 5: 406–10. Available from: <https://doi.org/10.4103/0300-1652.140381>.

## ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ТЕЧЕНИЯ ЭНДОМЕТРИОЗА С ДЕЦИДУАЛЬНЫМ МЕТАМОРФОЗОМ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

А. А. Герасимова<sup>1,2</sup>, Л. А. Ашрафян<sup>3</sup>, И. Б. Манухин<sup>4</sup>, М. В. Шамаракова<sup>2</sup>, М. С. Мирясова<sup>5</sup>, П. А. Клименко<sup>6</sup> 

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>2</sup> Центр планирования семьи и репродукции, Москва, Россия

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

<sup>4</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

<sup>5</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва

<sup>6</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

В настоящее время при наличии децидуализированных эндометриоидных кист яичников (ДЭК) хирургическое лечение для исключения злокачественных опухолей яичников выполняют практически в 90% случаев. Неоправданные хирургические вмешательства при этом увеличивают риск для здоровья матери и плода. Целью исследования было провести дифференциальную диагностику ДЭК у беременных для определения рационального лечения. В исследование включены 82 пациентки: 63 из них были с эндометриоидными кистами (ЭК), 16 — с ДЭК, 3 — с редкими формами эндометриоза и 10 — с серозными папиллярными пограничными опухолями яичников. Для ультразвуковой (УЗ) диагностики использовали предложенную авторами модель. Полученные УЗ-данные сопоставляли с концентрацией белка-онкомаркера (СА-125), рассчитывали индекс RMI (risk of malignancy index), выполняли морфологическое исследование образований. Особо ценными УЗ-параметрами при дифференциальной диагностике ЭК, ДЭК и пограничных серозных опухолей были: измененная толщина стенки образования, наличие и форма папиллярных образований, аваскулярные эхогенные включения без четких контуров, кровоток и расположение сосудов, асцит. Результаты частотного анализа показали различия между группами по данным УЗИ (в 60–100% наблюдений). Гистологическое исследование выявило различие между группами в 100% наблюдений. Полученные результаты не позволили нам пролонгировать беременность при ДЭК без выполнения хирургического лечения. Результаты лечения пациенток с ДЭК во время беременности были хуже таковых без выраженной децидуальной трансформации ЭК яичников. В настоящее время диагностика ДЭК и лечение больных во время беременности остаются несовершенными. Необходимы дальнейшие клинические наблюдения и поиск более надежных способов диагностики и рационального лечения беременных с ДЭК.

**Ключевые слова:** ультразвуковое исследование, морфологическое исследование, опухоли яичников, беременность

**Вклад авторов:** авторы внесли равнозначный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили ее финальную версию перед публикацией.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 176 от 25 июня 2018 г.). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

 **Для корреспонденции:** Пётр Афанасьевич Клименко  
Севастопольский проспект, д. 24а, г. Москва, 117209, Россия; pa.klimenko@mail.ru

**Статья получена:** 23.11.2021 **Статья принята к печати:** 06.12.2021 **Опубликована онлайн:** 12.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.059

## FEATURES OF THE DECIDUALIZED ENDOMETRIOSIS DIAGNOSIS AND COURSE DURING PREGNANCY

Gerasimova AA<sup>1,2</sup>, Asyrafyan LA<sup>3</sup>, Manuchin IB<sup>4</sup>, Shamarakova MV<sup>2</sup>, Miryasova MS<sup>5</sup>, Klimenko PA<sup>6</sup> 

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Family Planning and Reproduction Center, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

<sup>6</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Currently, surgical treatment aimed to exclude the malignant ovarian tumors is performed in almost 90% of patients with decidualized endometrial cysts (DEC). However, unnecessary surgical interventions increase the risk to maternal and fetal health. The study was aimed to perform a differential diagnosis of DEC in pregnant women in order to define the rational treatment. A total of 82 female patients were included in the study: 63 had endometrial cysts (EC), 16 had DEC, 3 had rare forms of endometriosis, and 10 had ovarian serous papillary borderline tumors. When performing the diagnostic ultrasound, our proposed model was used. The ultrasound imaging data obtained were juxtaposed with the concentration of the protein tumor markers (CA-125), the risk of malignancy index (RMI) was calculated, and the morphological assessment of the masses was performed. The ultrasound imaging parameters, being the most valuable for differential diagnosis of EC, DEC, and serous borderline tumors, were as follows: the altered mass wall thickness, the existence and shape of papillary masses, avascular echogenic inclusions with blurry contour, blood circulation and arrangement of blood vessels, ascites. The frequency analysis revealed the differences between groups based on the ultrasound imaging data (in 60–100% of observations). Histological examination revealed the differences between groups in 100% of observations. Our findings have made it impossible to prolong pregnancy in patients with DEC without performing surgery. The results of treatment provided to patients with DEC during pregnancy were worse compared to those in patients with no prominent decidualization in ovarian EC. Today, the diagnosis of DEC and the treatment of patients during pregnancy remain unsophisticated. Further clinical observation and the search for more reliable methods of the diagnosis and rational treatment of pregnant women with DEC are required.

**Keywords:** ultrasound examination, morphological analysis, ovarian tumors, pregnant women

**Author contributions:** the authors contributed to the study and preparation of the article equally, they read and approved the final version of the article prior to publication.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 176 dated June 25, 2018). The informed consent was submitted by all patients.

 **Correspondence should be addressed:** Пётр А. Клименко  
Севастопольский проспект, 24а, Москва, 117209, Россия; pa.klimenko@mail.ru

**Received:** 23.11.2021 **Accepted:** 06.12.2021 **Published online:** 12.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.059

Эндометриоз яичников представляет собой хроническое опухолеподобное поражение, наблюдаемое у 1–2% беременных женщин [1]. При беременности у 12% женщин эндометриоидные очаги могут подвергаться децидуальной трансформации и возникают уже с 9-й недели беременности [2].

Децидуальная трансформация — доброкачественное временное поражение, наблюдаемое в гестационный период. Обычно ее обнаруживают во время операции кесарева сечения или хирургического лечения образований с высоким риском малигнизации, и она регрессирует в течение 4–6 недель после родоразрешения [3]. Уменьшение размеров децидуальной трансформации после родов, по некоторым данным [4], связано с высоким уровнем прогестерона, отсутствием менструального цикла и усилением апоптоза, являющегося главным фактором регрессии эндометриоза.

Децидуализированные эндометриоидные кисты (ДЭК) во время беременности почти всегда малосимптомны. Большинство авторов при УЗИ ДЭК выделяют сочетание типичной для ЭК кистозной полости с большим количеством взвеси и обильно васкуляризованных папиллярных разрастаний, что имеет схожесть эхографических характеристик с таковыми при злокачественных опухолях яичников. Хирургические вмешательства для исключения злокачественных опухолей яичников при наличии ДЭК выполняют практически в 90% наблюдений [5, 6]. Неоправданные хирургические вмешательства увеличивают риск для здоровья матери и плода [7–11].

Таким образом, децидуальный метаморфоз хотя и характеризуется у беременных доброкачественным течением, однако является причиной большого числа осложнений, а наличие макроскопической картины, близкой к таковой при злокачественных опухолях, может приводить к необоснованным лечебным мероприятиям.

Цель исследования — дифференциальная диагностика ДЭК у беременных для определения рационального лечения.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование, проводившееся с 2000 по 2021 г., были включены 82 пациентки с гистологически верифицированным эндометриозом. Возраст обследованных колебался от 19 до 41 года (медиана — 31 год). Критерии включения в исследование: согласие на участие в исследовании; наличие беременности; УЗ-данные, подтверждающие эндометриоз яичника в прегравидарном периоде или во время беременности; последующее хирургическое лечение и его морфологическая верификация. Критерии исключения: отказ беременной от участия в исследовании; угроза прерывания беременности; внутриутробное инфицирование; пренатальные повреждения плода, установленные до проведения исследования.

В первой (контрольной) группе наблюдений при УЗИ у 63 из 82 обследованных признаки децидуализации во время беременности не были зарегистрированы. Эти пациентки были родоразрешены путем кесарева сечения из-за наличия смешанных показаний: эндометриоза и тазового предлежания — у 9, острой гипоксии плода — у 10, неподготовленности родовых путей и слабости родовой деятельности — у 11, перенашивания и угрожаемого плоду состояния — у 10, тяжелой преэклампсии — у 4, симфизита — у 5, рубца на матке — у 6, предлежания плаценты — у 4, первичного бесплодия

экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) — 4. После родов и гистологического исследования образований яичников (ОЯ) у 43 из них в качестве находки была обнаружена децидуальная трансформация яичников.

Из 63 родов 5 (7,9%) были преждевременными. Из них в 1 случае в 29 недель — тяжелая преэклампсия без эффекта от лечения; в 2 случаях в 32 недели — предлежание плаценты с кровотечением (1 пациентка) и преждевременным излитием околоплодных вод (ПИОВ) (1 пациентка); в 2 случаях в 35–36 недель — предлежание плаценты с кровотечением (1 пациентка) и острая гипоксия плода (1 пациентка).

Во 2-й группе у 16 пациенток децидуальная трансформация яичников была обнаружена в 16–28 (медиана — 17) недель беременности с признаками, похожими на малигнизацию, из-за чего проведена лапароскопия с аднексэктомией (в одном случае) и резекцией яичника (в четырех случаях), лапаротомия с аднексэктомией (в четырех случаях) и резекцией яичника (в семи случаях). При лапаротомии проводили ревизию брюшной полости со взятием гистологического материала и срочным морфологическим исследованием.

Три пациентки были с тяжелой децидуальной трансформацией и редкими осложнениями эндометриоза. У одной больной, родоразрешенной путем операции кесарева сечения, эндометриоидные имплантанты стали интраоперационной «находкой». Очаги децидуоза располагались на поверхности матки, сальнике, брюшине и представляли собой многочисленные желтоватые эластичные узелки различного размера, самые крупные из которых достигали в диаметре 4 см. У двух женщин децидуальный метаморфоз диагностирован в стенке толстой кишки, резецированной на 2-е и 5-е сутки после родоразрешения, в связи с развивающимися симптомами «острого живота».

При дифференциальной диагностике ДЭК нами использованы также ранее полученные результаты (2-я контрольная группа) [12] у 10 пациенток с серозными папиллярными пограничными опухолями яичников.

УЗИ проводили на аппарате Voluson E8 (General Electric; США) с использованием трансабдоминальной и трансвагинальной цветовой допплерографии и импульсноволновой допплерометрии. УЗ-характеристики опухолей оценивали с использованием моделей, предложенных ранее [13]. Комплексное УЗИ выполняли в режиме 2D и 3D в комбинации с использованием допплерографических методик в режиме цветового и энергетического картирования (ЦДК и ЭДК), а также трехмерной ангиографии. Для УЗ-диагностики использовали предложенную нами модель, разделяющую доброкачественные опухоли от пограничных и злокачественных [13]. Для оценки точности модели помимо числа верных отнесений учитывали параметры чувствительности (Se) и специфичности (Sp).

Концентрацию СА-125 исследовали с помощью иммуноферментного анализа с использованием тест-системы (Siemens; Германия).

RMI определяли согласно рекомендациям [14, 15] по формуле:

$$RMI = M \times U \times CA-125,$$

где M — менопаузальный статус в баллах, U — результаты УЗИ в баллах, С — уровень СА-125 в сыворотке в международных единицах в миллилитре.

Значение RMI  $\geq 200$  расценивали как признак высокой вероятности эпителиального рака яичников.

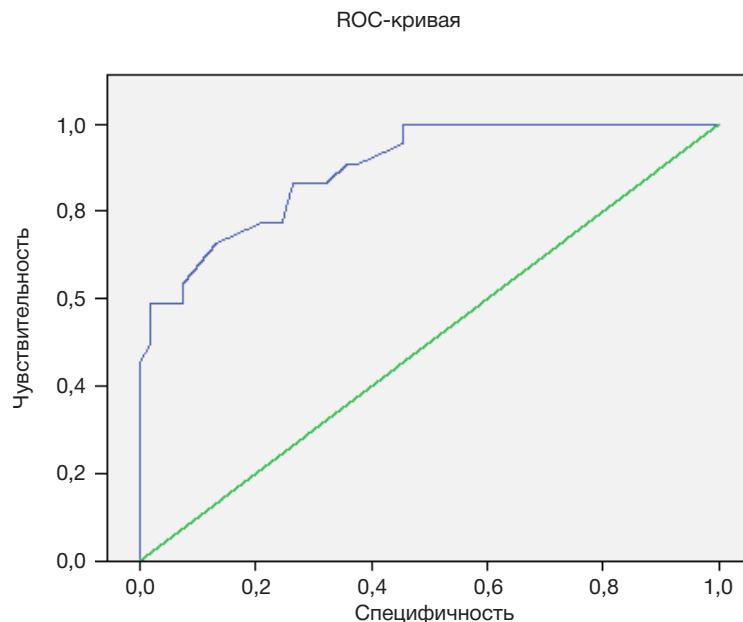


Рис. 1. ROC-кривая для модели, идентифицирующей эндометриоидную кисту

Гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, оценивали разные патологии. При постановке морфологического диагноза использовали классификацию опухолей женской репродуктивной системы ВОЗ (2014). Для иммуногистохимического исследования отбирали парафиновые блоки: 15 блоков от пациенток с ЭК и 10 — ДЭК. Морфологическое исследование осуществляли традиционным способом. Подтверждали диагноз «дэцидуоз» иммуногистохимическим методом с использованием антител Vimentin (3B4, Ventana) и CD10 (56C6, Ventana), представляющих маркеры мезенхимной ткани и эндометриальной стромы соответственно. В качестве позитивного контроля для оценки экспрессии Vimentin использовали образцы ткани кишки, при изучении иммунореактивности CD10 — препараты миндалины; негативным контролем для обоих маркеров служили образцы исследуемого материала, для которых в процессе иммуногистохимического исследования не применяли первичные антитела. Положительное окрашивание обоих маркеров субъективно классифицировали как слабое, умеренное или сильное.

Помимо этого были изучены истории болезни и исходы беременности и родов у этих 82 пациенток после проведенного лечения.

Для статистической обработки данных применяли прикладной пакет программ SPSS 15.0 (IBM; США). Данные подвергали частотному анализу путем построения кросс-таблиц. Различия считали статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенное УЗИ показало, что ЭК ( $n = 63$ ) в 1-й группе в большинстве наблюдений имели небольшие размеры, располагались внутри яичников, имели ровные наружные и внутренние контуры, содержимое кист было средней и повышенной эхогенности, в стенках визуализировались сосуды. 60 (95%) ЭК были односторонними, локализовались справа у 18 (30%) больных, слева — у 42 (70%). В трех (5%) наблюдениях были выявлены двухсторонние кисты.

Размер кист колебался от  $25 \times 20$  до  $127 \times 83$  мм, в среднем  $47,5 \pm 4,8 \times 31,8 \pm 3,1$  мм (медиана составила

$41,5 \times 28,5$  мм). У 48 (76%) беременных 1-й группы ЭК имели характерную эхографическую картину (фиксированное расположение вплотную к матке и сзади, наличие утолщенной стенки, создающей эффект двойного контура, несмешаемой мелкодисперсной взвеси — симптом матового стекла), не отличающуюся от типичного изображения ЭК вне беременности. При ЦДК и ЭДК выявлены единичные цветовые локусы с регистрацией высоко- или среднерезистентного кровотока в стенке образования. В трех наблюдениях были выявлены двухсторонние кисты. Около 5% из 63 наблюдений ЭК имели внутрикистозные включения средней и высокой эхогенности в виде сгустков крови и множественных зон губчатого строения с мелкобугристым контуром на внутренней поверхности образования). В 12 (19%) наблюдениях на сканограммах эндометриоидные кисты были похожи на серозные цистаденомы: гипоэхогенные образования округлой формы с наличием небольшого количества взвеси, аваскулярные при ЦДК.

При дифференциальной диагностике ЭК с использованием предложенного нами способа [13] наибольшую информативную ценность представляли возраст пациенток, расположение сосудов и индекс резистентности кровотока (RI). Максимальная оценка ЭК с помощью решающего правила не превышала 2 баллов.

Для модели, идентифицирующей ЭК (рис. 1), производительность составила 84%, однако площадь под ROC-кривой была очень высокой, что указывает на высокое качество модели.

Предоперационное обследование пациенток в 1-й группе не выявило особенностей в параметрах УЗИ, СА-125, РМИ родильниц без дэцидуоза и у тех, у кого он был обнаружен в качестве находки при гистологическом исследовании.

Значение СА-125 в крови пациенток колебалось от 7,3 до 131,2 ЕД/мл, в среднем составило  $61,1 \pm 8,5$  ЕД/мл (медиана — 53 ЕД/мл). При этом у 19 (30%) больных оно было меньше пороговых значений (7,3–33,4 ЕД/мл), у 31 (49%) пациентки этот показатель имел тенденцию к повышению (44–94 ЕД/мл), а у 13 (21%) он превышал 100 ЕД/мл (100,2–131,2 ЕД/мл). При физиологической беременности, по нашим данным, СА-125 колеблется от 8,5 до 280 ЕД/мл (медиана — 95,6 ЕД/мл).

Показатель RMI варьировал от 7,3 до 131,2, в среднем  $65,4 \pm 9$  (медиана — 59). В группе больных с ЭК около 98% имели RMI менее 200, при этом 19 (31%) пациенток — менее 25, 28 (44%) пациенток — от 25 до 100, только у 16 (25%) наблюдаемых значения RMI превышали 100, не достигая 200.

Результаты планового кесарева сечения в этой группе были следующие: все дети родились в удовлетворительном состоянии. Оценка по шкале Апгар составила 6–8 баллов (медиана — 7,8 балла) у недоношенных детей и 8–9 баллов (медиана — 8,9 балла) — у доношенных. Масса у недоношенных достигала 1880–2840 г (медиана — 2640 г) и 2660–4480 г (медиана — 3530 г) — у доношенных. Трое недоношенных детей попали на второй этап выхаживания. Ранний неонатальный период у остальных протекал гладко, пациентки с детьми были выписаны из родильного дома на 5–7-е сутки после операции. Заболеваемость составила 3,2%.

При морфологическом исследовании ЭК без децидуального метаморфоза стенки кист яичников состояли из овариальной ткани с фиброзными изменениями, внутренним слоем из цитогенной стромы с кровоизлияниями и отложениями гемосидерина, выстилающий эпителий был эндометриоидного типа. При ДЭК, обнаруженных в качестве находок, определены фрагменты стенки эндометриоидной кисты яичника, лишенные выстилающего эпителия, с обширными участками децидуального метаморфоза, представленного гипертрофированными эндометриоидными стромальными клетками полигональной формы с четкими границами, обильной эозинофильной цитоплазмой и круглыми или овальными ядрами с мелкозернистым хроматином; митозы не обнаружены.

Во 2-й группе ( $n = 16$ ) ДЭК при УЗИ определены как образования, фиксированные к стенкам таза, с низким расположением относительно беременной матки. У 10 (62,5%) беременных ДЭК были односторонними, локализованными справа у 7 (70%) пациенток, слева — у трех (30%). В шести (37,5%) наблюдениях отмечено двухстороннее поражение яичников.

Размер кист колебался от  $20 \times 30$  до  $108 \times 161$  мм, в среднем  $73,7 \pm 6,2 \times 96,5 \pm 7,5$  мм (медиана —  $76,5 \times 108,5$  мм) (достоверно отличаются от 1-й группы,  $p < 0,001$ –0,05).

ДЭК отличала кистозно-солидная структура образований яичников во всех наблюдениях, многокамерное строение у четырех (25%) пациенток, либо наличие неполных перегородок в четырех (25%) наблюдениях, неравномерное утолщение стенки с наличием пристеночных обильно васкуляризованных структур с множественными цветовыми локусами кровотока и низкими показателями индексов сосудистого сопротивления во всех образованиях.

При дифференциальной диагностике ДЭК с использованием предложенного нами способа [13] прогностически важные значения имели такие факторы, как ткань яичников, RI, MCC, расположение сосудов. Максимальная оценка ДЭК с помощью решающего правила превышала 4 балла. По УЗ-характеристикам ДЭК (рис. 2) можно было идентифицировать как опухоль с малигнизацией.

Полученная модель на тестовой выборке продемонстрировала чувствительность 100% и специфичность 92,3% при суммарной точности модели 92,8% (рис. 3).

Показатель СА-125 в крови пациенток 2-й группы колебался от 17,6 до 361 ЕД/мл и составил в среднем  $120,1 \pm 31,6$  ЕД/мл (медиана — 70,5 ЕД/мл). При этом

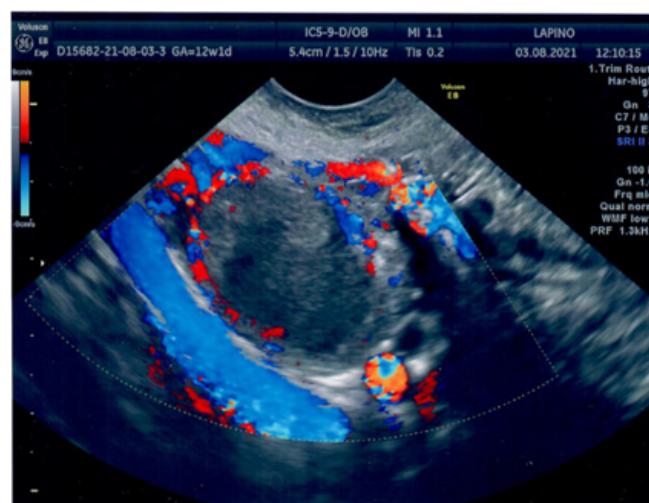


Рис. 2. Допплерограмма эндометриоидной кисты. Продольное ТВ-сканирование. Множественные цветовые локусы кровотока и низкие показатели индексов сосудистого сопротивления

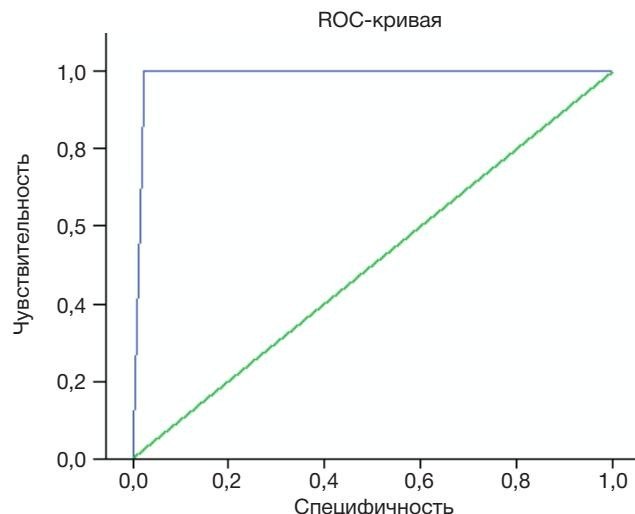
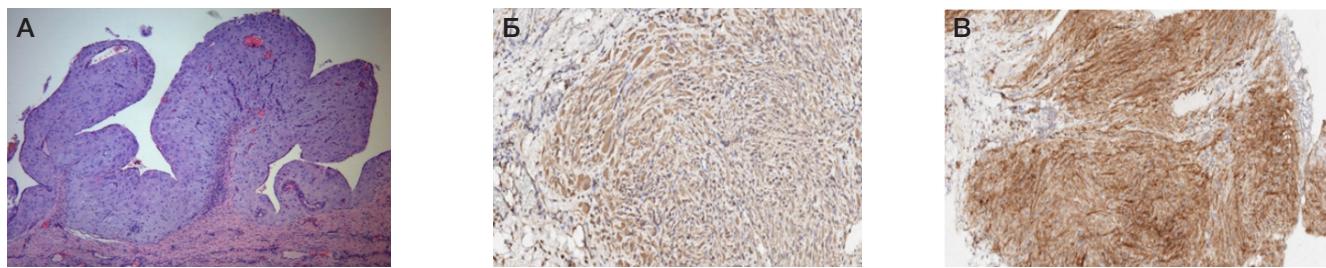


Рис. 3. ROC-кривая диагностической модели злокачественных и пограничных опухолей у беременных

у двух (12,5%) беременных показатель не достигал пороговых значений, в девяти (56,25%) наблюдениях он имел тенденцию к повышению (от 47,8 до 82,67 ЕД/мл), а у пяти (31,25%) пациенток превышал пороговые значения, достигая 361 ЕД/мл.

Значение RMI варьировало от 69 до 1083 и составило в среднем  $348 \pm 97$  (медиана — 212,  $p < 0,001$ –0,05). В группе пациенток с ДЭК семь (43,75%) беременных имели уровни RMI, значительно превышающие 200 (от 207 до 1083), при этом пять (31,25%) пациенток имели уровень RMI не более 200 и только у четырех (25%) значения RMI не достигли 100.

Беременность у пациенток 2-й группы с децидуальной трансформацией яичников протекала по-разному. После хирургического лечения из-за подозрения на малигнизацию в 12–27 недель беременности у четырех из 16 пациенток (25,0%) течение беременности осложнилось невынашиванием. У одной пациентки в 23 недели произошла антенатальная гибель плода, трое родили преждевременно и 12 своевременно. Оценка недоношенных новорожденных по шкале Апгар колебалась от 6–8 до 7–8 баллов (медиана — 6–7 баллов). Масса недоношенных составила 1880–2640 г, медиана — 2010 г. У пациенток, родивших в срок, оценка новорожденных по



**Рис. 4.** Эндометриоидная киста с выраженным децидуальным метаморфозом и формированием псевдососочковых структур. **А.** ДЭК (гематоксилин-эозин,  $\times 50$ ). **Б.** CD10-диффузная выраженная мембрano-цитоплазматическая экспрессия. **В.** Vimentin-диффузная выраженная цитоплазматическая экспрессия

шкале Апгар варьировала от 8–9 до 9–9 баллов (медиана — 8–9 баллов), по Сильверману — 2–3 балла, масса новорожденных составила 2810–3720 г (медиана — 3185 г). Ранний неонатальный период в одном наблюдении проходил в условиях реанимации, в трех наблюдениях потребовалась респираторная поддержка, лечение респираторного дистресс-синдрома, три новорожденных впоследствии были переведены на 2-й этап выхаживания в многопрофильную детскую больницу. Таким образом, перинатальная смертность во 2-й группе составила — 62,5%, заболеваемость — 25,0%.

На рис. 4А показана стенка эндометриоидной кисты яичника, лишенной выстилающего эпителия, с фиброзными изменениями овариальной ткани и выраженной гипертрофией клеток эндометриоидной стромы с формированием хорошо васкуляризованных папиллярных структур.

Иммуногистохимическое исследование во 2-й группе, выполненное на 10 отобранных парафиновых блоках показало, что децидуальный метаморфоз был подтвержден во всех наблюдениях в стенке эндометриоидных кист. Последние при морфологическом исследовании имели типичное строение, были выстланы эпителием эндометриоидного типа, уплощенным эпителием или

лишены выстилающего эпителия, с наличием очаговых кровоизлияний и отложением гемосидерина в стенке. Иммуногистохимическое исследование выявило в стромальных клетках очагов децидуальной трансформации позитивную умеренную цитоплазматическую экспрессию CD10 (рис. 4Б) и положительную выраженную цитоплазматическую иммунореактивность Vimentin (рис. 4В).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализируя полученные данные, следует отметить, что ЭК без выраженной децидуальной трансформации во время беременности имеют латентное благоприятное течение и не приводят к патологическому течению беременности и родов, увеличению перинатальной заболеваемости и смертности.

По литературным данным, развитие децидуализации в ЭК происходит в 12–20%, размеры кист уменьшаются в 52% наблюдений, увеличиваются — в 20% и не изменяются — в 28%. При этом частота разрыва ДЭК составляет 3–4%, абсцедирование выявлено в 4% наблюдений [16, 17].

Дифференциальная диагностика ЭК с ДЭК яичников у беременных остается одной из нерешенных проблем акушерства. Большинство авторов выделяют среди

**Таблица.** Сравнительная характеристика параметров при ЭК, ДЭК и пограничных опухолях яичников

Исследуемые показатели	ЭК	ДЭК	Пограничные опухоли
Расположение образований	Позади матки, фиксированно низко	Позади матки, фиксированно низко	Сбоку от матки, часто на уровне дна
Строение: кистозное, кистозно-солидное	Кистозное	Кистозно-солидное	Кистозно-солидное
Тип взвеси: крупнодисперсная эхогенная «матовое стекло», мелкодисперсная эхогенная	«Матовое стекло» — крупнодисперсная эхогенная	«Матовое стекло» — крупнодисперсная эхогенная	Мелкодисперсная эхогенная
Структура: одно-, двух-, трехкамерное	Однокамерное	Одно-, двух-, трехкамерное	Одно-, двух-, трехкамерное
Стенка образования: толщина, длина измененного участка	Фрагментарно до 2 мм	Тотально до 3–6 мм	Фрагментарно до 2 мм
Наличие папиллярных разрастаний и их форма	Нет	В 100% правильная округлая	В 100% неправильная по типу «цветной капусты»
Аваскулярные эхогенные включения без четких контуров	Крайне редко	До 97%	Нет
RI (индекс резистентности)	0,54 (0,41–0,69)	0,44 (0,24–0,62)	0,42 (0,19–0,58)
MCC (максимальная систолическая скорость)	9,6 (9,2–14,3)	13,2 (6,0–17,0)	14 (3,9–21,9)
PI (пульсационный индекс)	0,82 (0,51–1,22)	0,55 (0,25–0,87)	0,54 (0,27–0,88)
Кровоток (расположение сосудов)	Нет, единичные локусы	Умеренный и выраженный кровоток	Выраженный кровоток, в стенке, в перегородках, в папиллярных разрастаниях
Асцит	нет	нет	имеется у 60%
CA-125 (ЕД/мл)	61,1 $\pm$ 8,5 (медиана 53)	120 $\pm$ 31,6 (медиана 70,5)	135,4 $\pm$ 55,1 (медиана 80,5)
RMI	65,4 $\pm$ 9 (медиана 59)	348 $\pm$ 97 (медиана 212)	334,1 $\pm$ 147 (медиана 241,5)
Гистологическое исследование	Гистологическая картина ЭК яичников	Гистологическая картина ДЭК яичников	Гистологическая картина серозных пограничных папиллярных опухолей яичников

эхографических признаков ДЭК сочетание типичной для ЭК кистозной полости с большим количеством взвеси и обильно васкуляризованных папиллярных разрастаний [7–11]. УЗ-картина при наличии ДЭК имеет схожесть эхографических характеристик с таковыми при злокачественных опухолях яичников. По нашим данным (таблица), использование неинвазивных общепризнанных дооперационных диагностических методов на сегодняшний день с высокой вероятностью позволяют различать ЭК с ДЭК и пограничными опухолями. При сравнении ДЭК с пограничными опухолями (со 2-й контрольной группой) обнаружены значительные колебания изучаемых показателей, однако в большинстве наблюдений по данным УЗИ они все же были различимы. В современной медицине хорошим тестом (маркером) является тот, который при сравнении двух групп не встречается в группе сравнения примерно в 70%.

При дифференциальной диагностике исследуемых групп (таблица) особо ценными УЗ-параметрами были следующие: измененная толщина стенки образования, наличие и форма папиллярных образований, аваскулярные эхогенные включения без четких контуров, кровоток и расположение сосудов, асцит. По результатам частотного анализа, по каждому из перечисленных УЗ-маркеров группа с ДЭК отличалась от группы с ЭК и с пограничными опухолями в 60–100% наблюдений. Результаты гистологического исследования позволили провести дифференциальную диагностику между ЭК, ДЭК и пограничными образованиями в 100% наблюдений.

Исходя из того что до настоящего времени оценка изучаемых УЗ-маркеров носит субъективный характер, а полученные результаты не позволяли исключить высокий риск малигнизации образований в наблюдениях с ДЭК, было выполнено хирургическое лечение у этих пациенток на ранних сроках развития беременности. Эхографическое изображение ДЭК, вызывающее подозрение на малигнизацию, по этическим соображениям не позволяло пролонгировать беременность даже с возможностью получения при этом большей частоты перинатальных осложнений. Необходимость хирургического лечения для исключения злокачественных опухолей яичников при наличии децидуализированных ЭК (ДЭК) согласуется с литературными данными [5, 6], и данный способ лечения выполняют практически в 90% наблюдений.

Неблагоприятные исходы беременности у пациенток с эндометриозом связаны прежде всего с невынашиванием беременности, высоким риском преждевременных родов и рождением детей с низкой массой тела [18–20].

Беременность и роды у пациенток с эндометриозом ассоциированы с высоким риском возникновения осложнений, среди которых: гемоперитонеум, перфорация кишечника, аппендицит, разрыв ЭК [19, 20].

Нередко при децидуальном метаморфозе отмечают и другие осложнения беременности. Так, в одном из исследований на 5-е сутки после кесарева сечения и гангренозного аппендицита после гистологического исследования обнаружили наличие децидуальных изменений во всех слоях червеобразного отростка [21]. В наших наблюдениях у одной пациентки, родоразрешенной по акушерским показаниям, интраоперационно были выявлены множественные желтоватые эластичные узелки вариабельного размера (до 4 см), располагавшиеся на поверхности матки, сальнике и брюшине (рис. 5).



Рис. 5. Множественные участки децидуальной трансформации

Фрагменты сальника были резецированы для гистологического исследования, которое показало в нем выраженные децидуальные изменения. У двух других пациенток после оперативного родоразрешения, выполненного также из-за наличия акушерских показаний, в послеоперационном периоде на 2–5-е сутки после кесарева сечения пришлось проводить повторные хирургические операции в связи с появлением симптомов «острого живота». Выполнены резекции макроскопически измененных фрагментов толстой кишки с обширным децидуальным метаморфозом стенок с многочисленными эндометриоидными гетеротопиями и децидуальными изменениями, расположенными во всех слоях стенки кишки.

Имеются данные об одинаковых иммуногистохимических особенностях внemаточных мезенхимных клеток, подвергшихся децидуальной реакции и децидуально измененных клеток эндометриальной стромы с позитивной экспрессией мезенхимных маркеров Vimentin, Desmin, а также рецепторов прогестерона [22]. Снижение концентрации прогестерона, обусловленное завершением беременности, инициирует инволютивные изменения очагов децидуального метаморфоза, которые в некоторых случаях сопровождаются выраженным расстройством кровообращения и распадом децидуальной ткани, по-видимому, влекущий появление болевой симптоматики и кровотечения [23, 24]. Выявлено внутрибрюшное кровотечение у пациентки на 7-е сутки после кесарева сечения с очагом децидуального метаморфоза, расположенного в области задней стенки матки слева [25, 26].

Таким образом, децидуальный метаморфоз характеризуется у беременных доброкачественным течением, однако является причиной большого числа осложнений, а наличие макроскопической картины, близкой к злокачественным опухолям, может приводить к необоснованным лечебным мероприятиям.

## ВЫВОДЫ

В настоящее время диагностика ДЭК и лечение больных во время беременности вызывают много вопросов. Необходимы дальнейшие клинические наблюдения и изыскание более надежных способов диагностики и рационального лечения беременных с ДЭК.

## Литература

1. Marino T, Craig SD. Managing adnexal masses in pregnancy. *Contemp Obstet Gynecol*. 2000; 45: 130–43.
2. Kommos F, Pfisterer J, Peters F, et al. Ektopische Dezidualreaktion — möglicher Anlass zur kolposkopischen, histologischen und intraoperativen Fehldiagnose. *Geburtsh Frauenheilk*. 1998; 58: 446–50.
3. Adhikari LJ, Rulong SR. Florid diffuse peritoneal deciduosis mimicking carcinomatosis in a primigravida patient: a case report and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013; 6 (11): 2615–9.
4. Meresman GF, Auge L, Baranao RI, et al. Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2002; 77: 1141–7.
5. Pateman K, Moro F, Mavrellos D, et al. Natural history of ovarian endometrioma in pregnancy. *BMC Womens Health*. 2014; 14: 128.
6. Leone Roberti Maggiore U, Ferrero S, Mangili G, et al. A systematic review on endometriosis during pregnancy: diagnosis, misdiagnosis, complications and outcomes. *Hum Reprod Update*. 2016; 22 (1): 70–103.
7. Groszmann Y, Howitt BE, Bromley B, Feltmate CM, Benacerraf BR. Decidualized endometrioma masquerading as ovarian cancer in pregnancy. *J Ultrasound Med*. 2014; 33 (11): 1909–15. DOI: 10.7863/ultra.33.11.1909.
8. Bailleux M, Bernard JP, Benachi A, Deffieux X. Ovarian endometriosis during pregnancy: a series of 53 endometriomas. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2017; 209: 100–4. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2015.09.037.
9. Mascilini F, Moruzzi C, Giansiracusa C, et al. Imaging in gynecological disease. 10: Clinical and ultrasound characteristics of decidualized endometriomas surgically removed during pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014; 3 (44): 354–60.
10. Barbieri M, Somigliana E, Oneda S, et al. Decidualized ovarian endometriosis in pregnancy: a challenging diagnostic entity. *Hum Reprod*. 2009; 8 (24): 1818–24.
11. Graupera B, Pascual M, Hereter L, et al. Dezidualization of endometrioma during pregnancy mimicking a malignant ovarian tumor. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013; 42 (S1): 71.
12. Ашрафян Л. А., Курцер М. А., Герасимова А. А., Клименко П. А. Пограничные и злокачественные опухоли яичников во время беременности. *Онкогинекология*. 2019; 3 (31): 68–77.
13. Герасимова А. А., Швырев С. Л., Соломатина А. А., Гус А. И., Клименко П. А. Способ выявления характера яичниковых образований. *Онкология*. 2013; 1; 34–40.
14. Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, et al. Evaluation of a risk of malignancy index based on serum CA125, ultrasound findings and menopausal status in the preoperative diagnosis of pelvic masses. *Brit J Obstet Gynaecol*. 1996; 103 (8): 826–31.
15. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, et al. A risk of malignancy index incorporating CA125, ultrasound and menopausal status for the accurate pre-operative diagnosis of ovarian cancer. *Brit J Obstet Gynaecol*. 1990; 97: 922–9.
16. Буланов М. Н., Горта Р. Н. Ультразвуковое исследование эндометриодных кист яичников во время беременности. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2015; 1: 55–71.
17. Bromley B, Benacerraf B. Adnexal masses during pregnancy: accuracy of sonographic diagnosis and outcome. *J Ultrasound Med*. 1997; 7 (16): 447–52.
18. Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, et al. A retrospective analysis of ovarian endometriosis during pregnancy. *Fertil Steril*. 2010; 94 (1): 78–84.
19. Fruscella E, Testa AC, Ferrandina G, et al. Sonographic features of deciduized ovarian endometriosis suspicious for malignancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004; 5 (24): 578–80.
20. Carvalho LFP, Rossener R, Azeem A, et al. From conception to birth — how endometriosis affects the development of each stage of reproductive life *Minerva Ginecol*. 2013; 65 (2): 181–98.
21. Vercellini P, Parazzini F, Pietropaolo G, et al. Pregnancy outcome in women with peritoneal, ovarian and rectovaginal endometriosis: a retrospective cohort study. *BJOG*. 2012; 119 (12): 1538–43. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2012.03466.x.
22. Papp Z, Petri I, Villányi E, Tiszlavicz L, Ugocsai G. Deciduosis causing perforating appendicitis in the early postpartum period following caesarean section. *Orv Hetil*. 2008; 149 (7): 329–31. DOI: 10.1556/OH.2008.28227.
23. Heatley MK, Maxwell P, Toner PG. The immunophenotype of human decidua and extrauterine decidual reactions. *Histopathology*. 1996; 29: 437–42.
24. Lockwood CJ, Kayisli UA, Stocco C, et al. Abrupton-induced preterm delivery is associated with thrombin-mediated functional progesterone withdrawal in decidual cells. *Am J Pathol*. 2012; 181: 2138–48. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.08.036.
25. Lier MCI, Brosens IA, Mijatovic V, Habiba M, Benagiano G. Decidual bleeding as a cause of spontaneous hemoperitoneum in pregnancy and risk of preterm birth. *Gynecol Obstet Invest*. 2017; 82 (4): 313–21. DOI: 10.1159/000468933.
26. Lüdders DW, Henke RP, Saba M, et al. Severe maternal pre- and postpartum intra-abdominal bleeding due to deciduosis. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2015; 75 (3): 259–62. DOI: 10.1055/s-0035-1545876.

## References

1. Marino T, Craig SD. Managing adnexal masses in pregnancy. *Contemp Obstet Gynecol*. 2000; 45: 130–43.
2. Kommos F, Pfisterer J, Peters F, et al. Ektopische Dezidualreaktion — möglicher Anlass zur kolposkopischen, histologischen und intraoperativen Fehldiagnose. *Geburtsh Frauenheilk*. 1998; 58: 446–50.
3. Adhikari LJ, Rulong SR. Florid diffuse peritoneal deciduosis mimicking carcinomatosis in a primigravida patient: a case report and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013; 6 (11): 2615–9.
4. Meresman GF, Auge L, Baranao RI, et al. Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2002; 77: 1141–7.
5. Pateman K, Moro F, Mavrellos D, et al. Natural history of ovarian endometrioma in pregnancy. *BMC Womens Health*. 2014; 14: 128.
6. Leone Roberti Maggiore U, Ferrero S, Mangili G, et al. A systematic review on endometriosis during pregnancy: diagnosis, misdiagnosis, complications and outcomes. *Hum Reprod Update*. 2016; 22 (1): 70–103.
7. Groszmann Y, Howitt BE, Bromley B, Feltmate CM, Benacerraf BR. Decidualized endometrioma masquerading as ovarian cancer in pregnancy. *J Ultrasound Med*. 2014; 33 (11): 1909–15. DOI: 10.7863/ultra.33.11.1909.
8. Bailleux M, Bernard JP, Benachi A, Deffieux X. Ovarian endometriosis during pregnancy: a series of 53 endometriomas. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2017; 209: 100–4. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2015.09.037.
9. Mascilini F, Moruzzi C, Giansiracusa C, et al. Imaging in gynecological disease. 10: Clinical and ultrasound characteristics of decidualized endometriomas surgically removed during pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014; 3 (44): 354–60.
10. Barbieri M, Somigliana E, Oneda S, et al. Decidualized ovarian endometriosis in pregnancy: a challenging diagnostic entity. *Hum Reprod*. 2009; 8 (24): 1818–24.
11. Graupera B, Pascual M, Hereter L, et al. Dezidualization of endometrioma during pregnancy mimicking a malignant ovarian tumor. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013; 42 (S1): 71.
12. Ашрафян Л. А., Курцер М. А., Герасимова А. А., Клименко П. А. Пограничные и злокачественные опухоли яичников во время беременности. *Онкогинекология*. 2019; 3 (31): 68–77.
13. Герасимова А. А., Швырев С. Л., Соломатина А. А., Гус А. И., Клименко П. А. Способ выявления характера яичниковых образований. *Онкология*. 2013; 1; 34–40.
14. Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, et al. Evaluation of a risk of malignancy index based on serum CA125, ultrasound findings and menopausal status in the preoperative diagnosis of pelvic masses. *Brit J Obstet Gynaecol*. 1996; 103 (8): 826–31.
15. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, et al. A risk of malignancy index incorporating CA125, ultrasound and menopausal status for the accurate pre-operative diagnosis of ovarian cancer. *Brit J Obstet Gynaecol*. 1990; 97: 922–9.
16. Буланов М. Н., Горта Р. Н. Ультразвуковое исследование эндометриодных кист яичников во время беременности. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2015; 1: 55–71.
17. Bromley B, Benacerraf B. Adnexal masses during pregnancy: accuracy of sonographic diagnosis and outcome. *J Ultrasound Med*. 1997; 7 (16): 447–52.
18. Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, et al. A retrospective analysis of ovarian endometriosis during pregnancy. *Fertil Steril*. 2010; 94 (1): 78–84.
19. Fruscella E, Testa AC, Ferrandina G, et al. Sonographic features of deciduized ovarian endometriosis suspicious for malignancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004; 5 (24): 578–80.
20. Carvalho LFP, Rossener R, Azeem A, et al. From conception to birth — how endometriosis affects the development of each stage of reproductive life *Minerva Ginecol*. 2013; 65 (2): 181–98.
21. Vercellini P, Parazzini F, Pietropaolo G, et al. Pregnancy outcome in women with peritoneal, ovarian and rectovaginal endometriosis: a retrospective cohort study. *BJOG*. 2012; 119 (12): 1538–43. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2012.03466.x.
22. Papp Z, Petri I, Villányi E, Tiszlavicz L, Ugocsai G. Deciduosis causing perforating appendicitis in the early postpartum period following caesarean section. *Orv Hetil*. 2008; 149 (7): 329–31. DOI: 10.1556/OH.2008.28227.
23. Heatley MK, Maxwell P, Toner PG. The immunophenotype of human decidua and extrauterine decidual reactions. *Histopathology*. 1996; 29: 437–42.
24. Lockwood CJ, Kayisli UA, Stocco C, et al. Abrupton-induced preterm delivery is associated with thrombin-mediated functional progesterone withdrawal in decidual cells. *Am J Pathol*. 2012; 181: 2138–48. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.08.036.
25. Lier MCI, Brosens IA, Mijatovic V, Habiba M, Benagiano G. Decidual bleeding as a cause of spontaneous hemoperitoneum in pregnancy and risk of preterm birth. *Gynecol Obstet Invest*. 2017; 82 (4): 313–21. DOI: 10.1159/000468933.
26. Lüdders DW, Henke RP, Saba M, et al. Severe maternal pre- and postpartum intra-abdominal bleeding due to deciduosis. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2015; 75 (3): 259–62. DOI: 10.1055/s-0035-1545876.

- beremennosti. Onkoginekologija. 2019; 3 (31): 68–77. Russian.
13. Gerasimova AA, Shyrev SL, Solomatina AA, Gus AI, Klimenko PA. Sposob vyjavlenija haraktera jaichnikovyh obrazovanij. Onkologija. 2013; 1; 34–40. Russian.
  14. Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, et al. Evaluation of a risk of malignancy index based on serum CA125, ultrasound findings and menopausal status in the preoperative diagnosis of pelvic masses. *Brit J Obstet Gynaecol.* 1996; 103 (8): 826–31.
  15. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, et al. A risk of malignancy index incorporating CA125, ultrasound and menopausal status for the accurate pre-operative diagnosis of ovarian cancer. *Brit J Obstet Gynaecol.* 1990; 97: 922–9.
  16. Bulanov MN, Gorta RN. Ul'trazvukovoe issledovanie jendometroidnyh kist jaichnikov vo vremja beremennosti. Ul'trazvukovaja i funkcional'naja diagnostika. 2015; 1: 55–71. Russian.
  17. Bromley B, Benacerraf B. Adnexal masses during pregnancy: accuracy of sonographic diagnosis and outcome. *J Ultrasound Med.* 1997; 7 (16): 447–52.
  18. Ueda Y, Enomoto T, Miyatake T, et al. A retrospective analysis of ovarian endometriosis during pregnancy. *Fertil Steril.* 2010; 94 (1): 78–84.
  19. Fruscella E, Testa AC, Ferrandina G, et al. Sonographic features of decidualized ovarian endometriosis suspicious for malignancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004; 5 (24): 578–80.
  20. Carvalho LFP, Rossener R, Azeem A, et al. From conception to birth — how endometriosis affects the development of each stage of reproductive life *Minerva Ginecol.* 2013; 65 (2): 181–98.
  21. Vercellini P, Parazzini F, Pietropaolo G, et al. Pregnancy outcome in women with peritoneal, ovarian and rectovaginal endometriosis: a retrospective cohort study. *BJOG.* 2012; 119 (12): 1538–43. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2012.03466.x.
  22. Papp Z, Petri I, Villányi E, Tiszlavicz L, Ugocsai G. Deciduosis causing perforating appendicitis in the early postpartum period following caesarean section. *Orv Hetil.* 2008; 149 (7): 329–31. DOI: 10.1556/OH.2008.28227.
  23. Heatley MK, Maxwell P, Toner PG. The immunophenotype of human decidua and extrauterine decidual reactions. *Histopathology.* 1996; 29: 437–42.
  24. Lockwood CJ, Kayisli UA, Stocco C, et al. Abrupton-induced preterm delivery is associated with thrombin-mediated functional progesterone withdrawal in decidual cells. *Am J Pathol.* 2012; 181: 2138–48. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.08.036.
  25. Lier MCI, Brosens IA, Mijatovic V, Habiba M, Benagiano G. Decidual bleeding as a cause of spontaneous hemoperitoneum in pregnancy and risk of preterm birth. *Gynecol Obstet Invest.* 2017; 82 (4): 313–21. DOI: 10.1159/000468933.
  26. Lüdders DW, Henke RP, Saba M, et al. Severe maternal pre- and postpartum intra-abdominal bleeding due to deciduosis. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2015; 75 (3): 259–62. DOI: 10.1055/s-0035-1545876.

## ИНДЕКС РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВНУТРЕННИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ И НЕЙРОСЕТИ МОЗГА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

В. Ф. Фокин , Н. В. Пономарева, Р. Б. Медведев, Р. Н. Коновалов, М. В. Кротенкова, О. В. Лагода, М. М. Танашян

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Изучение количественных показателей церебральной гемодинамики актуально для больных хронической ишемией мозга (ХИМ), поскольку оно помогает раскрыть патогенез этого заболевания, а также определить направления его эффективной диагностики и лечения. Целью работы было оценить сопряженность индекса резистентности (RI) левой внутренней сонной артерии (ВСА) с когнитивными функциями и организацией церебральных нейросетей по данным фМРТ у больных ХИМ (51 мужчина и 105 женщин). Указанные показатели исследовали при значениях RI левой ВСА ниже и выше среднего уровня ( $0,54 \pm 0,013$ ). Более низкий, физиологически нормальный уровень резистентности левой ВСА соответствовал более успешному выполнению когнитивных вербальных функций. В первой группе RI находился в пределах физиологической нормы ( $RI = 0,42 \pm 0,007$ ), тогда как во второй RI был выше нормальных значений ( $RI = 0,61 \pm 0,01$ ). Вариация RI правой ВСА не была взаимосвязана с характеристиками вербальных функций. Посредством анализа фМРТ определяли разность показателей коннективности между различными областями мозга в группах с низким и высоким RI. Физиологически нормальный и повышенный RI левой ВСА сопряжены с различиями в организации нейросетей: при физиологически нормальном RI лучше выражены межполушарные коммуникации на уровне базальных ганглиев и ствола мозга, а при высоком — связи, соединяющие лобные области с мозжечком и затылочными областями коры. RI левой ВСА можно рассматривать как биомаркер когнитивного снижения и реорганизации нейронных сетей у больных ХИМ.

**Ключевые слова:** хроническая ишемия мозга, внутренняя сонная артерия, индекс резистентности, когнитивные функции, нейросети

**Вклад авторов:** В. Ф. Фокин — концепция исследования, написание статьи; Н. В. Пономарева — статистический анализ, написание статьи; Р. Б. Медведев — дуплексное сканирование; анализ гемодинамических данных; Р. Н. Коновалов — регистрация и анализ фМРТ; М. В. Кротенкова — анализ фМРТ, дизайн исследования; О. В. Лагода — клинический анализ; М. М. Танашян — клинический анализ, дизайн исследования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 11/14 от 19 ноября 2014 г.); все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании.

 **Для корреспонденции:** Виталий Федорович Фокин  
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367; fvf@mail.ru

**Статья получена:** 27.10.2021 **Статья принята к печати:** 15.11.2021 **Опубликована онлайн:** 27.11.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.055

## RESISTIVE INDEX OF INTERNAL CAROTID ARTERY AND BRAIN NETWORKS IN PATIENTS WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA

Fokin VF , Ponomareva NV, Medvedev RB, Konovalov RN, Krotenkova MV, Lagoda OV, Tanashyan MM

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Quantitative assessment of cerebral hemodynamics is important for patients with chronic cerebral ischemia (CCI), as it helps to reveal the pathogenesis of the disease and set the course for effective prevention and treatment. The study was aimed to assess the correlation of the left carotid artery (ICA) resistive index (RI) with cognitive functions and brain network organization based on fMRI data in patients with CCI (51 males and 105 females). The listed above indicators were studied in patients with the left ICA RI values below and above the average ( $0,54 \pm 0,013$ ). The lower, normal physiological ICA resistance levels corresponded to the more successful realization of verbal cognitive functions. In the first group, RI was within normal range ( $RI = 0,42 \pm 0,007$ ), and in the second group RI exceeded normal levels ( $RI = 0,61 \pm 0,01$ ). Variation of the right ICA RI did not correlate with the characteristics of verbal cognitive functions. FMRI data analysis was used to assess the differences in connectivity between various brain regions in the groups with low and high RI. The normal physiological and elevated RI values of the left ICA correlated with differences in the organization of brain networks: normal physiological RI values corresponded to a better organization of hemispheric connections in the basal ganglia and brainstem, and high RI values corresponded to a better organization of connections between the frontal regions and the cerebellum as well as occipital areas of the cerebral cortex. The left ICA RI can be considered as a biomarker of cognitive decline and brain networks reorganization in patients with CCI.

**Keywords:** chronic cerebral ischemia, internal carotid artery, resistive index, cognitive functions, neural networks

**Author contribution:** Fokin VF — study concept, manuscript writing; Ponomareva NV — statistical analysis, manuscript writing; Medvedev RB — duplex ultrasonography, hemodynamic data analysis; Konovalov RN — fMRI data acquisition and analysis; Krotenkova MV — fMRI data analysis, study design; Lagoda OV — clinical data analysis; Tanashyan MM — clinical data analysis, study design.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol № 11/14 dated November 19, 2014); the informed consent was submitted by all patients.

 **Correspondence should be addressed:** Виталий Ф. Фокин  
Волоколамское шоссе, 80, Москва, 125367; fvf@mail.ru

**Received:** 27.10.2021 **Accepted:** 15.11.2021 **Published online:** 27.11.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.055

Хроническая ишемия мозга (ХИМ) относится к числу широко распространенных социально значимых сосудистых заболеваний [1]. Поддержание нормального уровня церебрального кровоснабжения является основной проблемой для больных ХИМ. В связи с этим кровоток по внутренним сонным артериям (ВСА) играет значительную роль в сохранении нормального функционирования головного мозга. Существует немалое количество работ,

свидетельствующих о том, что нарушение мозгового кровотока по ВСА приводит к гипоксии, формированию структурно-функциональных изменений в бассейне ВСА и когнитивным нарушениям — прежде всего это касается нарушения кровоснабжения по левой ВСА, поскольку левое полушарие у правшей вовлечено в организацию и регуляцию многих когнитивных функций [2]. Существует несколько показателей мозгового кровотока, широко используемых

для характеристики кровоснабжения: линейная и объемная скорости кровотока, индекс резистентности (RI) и др. В настоящей работе использовали RI, поскольку он является комплексным и представляет собой разность систолической и диастолической скорости кровотока по отношению к систолической скорости. Этот показатель, наряду с толщиной комплекса интима-медиа, используют для описания атеросклеротического поражения церебральных сосудов. При развитии ХИМ и болезни мелких сосудов RI демонстрирует тенденцию к повышению [3].

Другим важным аспектом этой проблемы является вопрос, с какими нейрофизиологическими механизмами связан повышенный уровень индекса резистентности BCA. В настоящее время широко используют понятие нейросетей мозга, которое своим развитием в значительной мере обязано успехам функциональной МРТ (фМРТ). Ключевым при исследовании нейросетей является представление о коннективности, т. е. синхронизированном изменении BOLD-сигнала (от англ. blood-oxygen-level-dependent), которое, по мнению многих исследователей, свидетельствует о вовлеченности этих областей в единую функциональную систему. Изменения BOLD-сигнала характеризуют переход содержащегося в эритроцитах гемоглобина из окисленной в восстановленную форму в различных образованиях мозга. Временные корреляции низкочастотных флюктуаций BOLD-сигнала в различных областях мозга выявляют организованные функциональные сети мозга. Показатели коннективности фМРТ покоя можно рассматривать как средства для описания и исследования межцентральных отношений, а также как потенциальный биомаркер неврологических и психических расстройств [4, 5].

Описание нейросетей позволило лучше понять нейродинамику нервных центров при нарушениях мозгового кровообращения, приводящего к дисфункции и гибели нейронов.

При развитии хронического нарушения мозгового кровообращения нервные центры коры и другие образования мозга страдают в разной степени, что вызывает появление новой нейронной организации. Так, от насыщения крови кислородом зависят двусторонний объем гиппокампа, таламуса, скорлупы, угловой извилины и других образований, однако эти образования обладают разной чувствительностью к гипоксии [6]. Кроме того, плотность нейронов в разных частях мозга различается при гораздо более однородной плотности капилляров [7]. Поэтому можно предположить, что увеличение жесткости сосудистой стенки из-за атеросклеротических процессов, отражающихся в увеличении RI, сопровождающееся нарушениями гемодинамики, повлияет на реорганизацию нейронных сетей из-за возникающей в наиболее уязвимых областях мозга гипоксии [8]. Это определяет актуальность исследования RI для решения комплекса проблем, связанных с ХИМ. Две проблемы наиболее существенны — связь указанного показателя с когнитивными функциями и его связь с нейросетями мозга.

Целью настоящей работы было оценить сопряженность RI BCA с когнитивным снижением и показателями нейросетей мозга в состоянии покоя у больных ХИМ.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании, выполненном в 2019–2021 гг. на базе Научного центра неврологии, приняли участие 156

больных ХИМ (51 мужчина и 105 женщин) в возрасте от 51 до 85 лет (средний возраст составил  $67,0 \pm 0,69$  лет, SD = 8,74). При ХИМ возникают нарушения когнитивных функций, а больные отличаются друг от друга в основном количественными характеристиками нарушения памяти, работоспособности, раздражительности, проявлений стволовой симптоматики и т. д. Основными этиологическими причинами ХИМ у обследованных пациентов были атеросклероз, артериальная гипертензия (включая гипертоническую болезнь), венозная недостаточность и др. Артериальная гипертензия (артериальная гипертония 1-й или 2-й стадии) имела место у всех пациентов. Для исследования отбирали пациентов с атеросклеротическими изменениями во BCA со стенозированием до 60%.

Критерии включения пациентов в исследование: соответствие I и II стадии дисциркуляторной энцефалопатии; отсутствие необходимости постоянной опеки со стороны окружающих в повседневной жизни. Пациенты с дисциркуляторной энцефалопатией I и II стадий различались главным образом количественными показателями когнитивных функций и не имели перенесенного ранее острого нарушения мозгового кровообращения. Критерии исключения: деменция выраженностю 1 балл и выше по клиническо-рейтинговой шкале деменции (Clinical Dementia Rating Scale [9]); наличие в анамнезе острых нарушений мозгового кровообращения (всем пациентам проводили МРТ-исследование головного мозга, в том числе с целью исключения «немых» ишемических изменений в веществе мозга, использовали режим диффузионно-взвешенных изображений с коэффициентом диффузионного взвешивания  $b = 1000$ ); черепно-мозговые травмы, тяжелая кардиальная и метаболическая (сахарный диабет 2-го типа) патология в стадии декомпенсации, хроническая почечная недостаточность 3–5 стадий; некомпенсированные нарушения функций щитовидной железы (гипотиреоз). Все испытуемые были правшами. Современные представления о методах исследования ХИМ, как и о дисциркуляторной энцефалопатии, подробно изложены в ряде работ [10–12].

Для психометрического обследования проводили тест вербальной памяти Лурии [13], адаптированный для больных с рассмотренным видом сосудистой патологии. Оценивали суммарное количество слов, которые запоминали пациенты при пяти повторениях 10 слов. После выполнения теста проводили серийный счет (вычитание из 100 по 7) и оценивали отсроченное воспроизведение слов. Тест беглости словесных ответов учитывал количество воспроизведения слов на буквы С, К и А. Обследуемый старался воспроизвести максимальное число слов (нарицательных и собственных имен существительных), начинающихся с перечисленных выше букв, в течение одной минуты для каждой из букв. Оценивали суммарное (среднее) число воспроизведенных слов, а также стабильность вербальной беглости по разности воспроизведенных слов на первую и последнюю букву. Больные выполняли также распознавание буквенных паттернов, основанное на n-back тесте Кирчнера (в сплошном набранном в случайном порядке без пробелов тексте испытуемый находил две одинаковые стоящие рядом буквы), характеризующем способность к распознаванию невербальных буквенных паттернов и концентрацию внимания [14].

Пациентам обоего пола (20 мужчинам и 35 женщинам) проводили фМРТ покоя головного мозга в последовательности T2\* для получения BOLD-сигнала на магнитно-резонансном томографе Magnetom Verio

(Siemens; Германия) с величиной магнитной индукции 3,0 Тесла. Обследуемым предлагали следующую инструкцию: максимально расслабиться, лежать спокойно с закрытыми глазами для исключения стимулирования зрительного анализатора и не думать ни о чем конкретном. Предварительную обработку МРТ-данных проводили в программе SPM12 (Functional Imaging Laboratory at University College London; Великобритания) в среде MATLAB (MathWorks; США). Для изучения коннективности использовали приложение CONN-18b (McGovern Institute for Brain Research, Massachusetts Institute of Technology; США) из набора инструментов программы SPM-12 [15].

Дуплексное сканирование выполняли всем пациентам. Оценивали линейную и объемную скорость систолического и диастолического кровотока в правой и левой ВСА. Цветовое дуплексное сканирование проводили на приборе Toshiba Viatio (Toshiba; Япония). Исследование характера, величины систолической линейной и объемной скорости кровотока и RI в артериях проводили по общепринятой методике с помощью линейного датчика с частотой 5,0–12,0 МГц. RI: отношение разности систолической и диастолической скоростей кровотока к систолической скорости кровотока.

С помощью фМРТ покоя исследовали коннективность нейросетей мозга у 55 больных в состоянии спокойного бодрствования. Проводили сравнение коннективности в двух группах больных, отличающихся по RI. Коннективность, существующая между двумя образованиями мозга, равна коэффициенту регрессии BOLD-сигналов в этих образованиях. Оценивали разность показателей коннективности в группах с низким и более высоким RI по стандартизированному коэффициенту регрессии с поправкой на множественность сравнений (FDR) [15]. Средние значения RI для обеих групп приведены в разделе «Результаты исследования». По RI и показателям психологических тестов эта выборка пациентов ( $n = 55$ ) не отличалась ( $p > 0,05$ ) от выборки, используемой для оценки RI ( $n = 156$ ).

При оценке коннективности использовали статистический пакет Statistica-12 (StatSoft; США) для дисперсионного анализа и других методов вариационной статистики, а также приложения SPM-12 и CONN-18b в среде MATLAB. Коннективность и групповые различия коннективности оценивали с поправкой на множественность сравнений с учетом ошибки ложноположительных результатов (FDR-false discovery rate). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Значения RI для правой и левой ВСА статистически не различались, они составили  $0,564 \pm 0,011$  и  $0,548 \pm 0,013$  соответственно. У мужчин и женщин различия по RI между правой и левой ВСА были статистически незначимыми (уровень значимости различий для мужчин —  $p = 0,96$ , а для женщин —  $p = 0,21$ ). RI правой и левой ВСА коррелируют

Таблица 1. Корреляция RI правой и левой ВСА с когнитивными функциями

	RI правой ВСА	RI левой ВСА
Распознавание невербальных буквенных паттернов	$-0,24; n = 84; p = 0,026$	
Стабильность вербальной беглости		$-0,22; n = 82; p = 0,049$
Непосредственное запоминание слов		$-0,26; n = 67; p = 0,035$
Отсроченное воспроизведение слов		$-0,23; n = 77; p = 0,044$

Примечание:  $n$  — число обследованных;  $p$  — уровень значимости, женщины; незаполненные ячейки соответствуют отсутствию значимой корреляции.

друг с другом, при этом коэффициент корреляции является значимым при очень высоком уровне значимости ( $r = 0,69$ ;  $n = 154$ ;  $p < 0,000001$ ), поэтому билатеральные различия практически не зависят от величины RI, которая может варьировать на разных стадиях заболевания.

Исследование сопряженности RI правой и левой ВСА с когнитивными функциями показал, что основная взаимосвязь наблюдается с характеристиками кровотока по левой ВСА (табл.1).

Все значения коэффициентов корреляции отрицательные, а это означает, что чем ниже RI, тем лучше когнитивные показатели (см. табл. 1). У мужчин значимая корреляция имела место для RI левой ВСА и отсроченного воспроизведения слов ( $-0,37; n = 48; p = 0,009$ ).

Характеристики RI правой ВСА были связаны с распознаванием невербальных буквенных паттернов, а RI левой ВСА — с характеристиками вербальной беглости, непосредственного и отсроченного воспроизведения слов.

Рис. 1 демонстрирует сопряженность RI левой ВСА с некоторыми когнитивными показателями в смешанной группе мужчин и женщин — беглостью словесных ответов и отсроченным воспроизведением слов. В обоих случаях более низкие, близкие к физиологической норме, значения RI соответствовали более сохранным когнитивным функциям.

Среднее значение показателя беглости словесных ответов для всех обследуемых пациентов составило  $12,9 \pm 0,31$  слов (рис. 1А). Средняя величина этого показателя для пациентов в группе с низкой беглостью словесных ответов (менее 13 слов ( $-1$ )) составила  $10,0 \pm 0,23$  слов ( $SD = 2,03, n = 76$ ). В группе с беглостью словесных ответов 13 и более слов ( $1$ ) средняя величина указанного показателя составила  $16,2 \pm 0,34$  слов ( $SD = 2,69, n = 62$ ).

Аналогичным образом, низкий и высокий показатели отсроченного воспроизведения слов — менее или более пяти слов, т. е. половины из максимально возможного показателя воспроизведения слов, равного 10 (рис. 1Б). В группе с низким показателем отсроченного воспроизведения слов ( $-1$ ) средняя величина составила  $3,0 \pm 0,19$  слов ( $SD = 1,18, n = 40$ ). В группе с высоким показателем отсроченного воспроизведения слов ( $1$ ) средняя величина составила  $7,3 \pm 0,44$  слов ( $SD = 1,19, n = 77$ ).

Таким образом, относительно сохранные когнитивные функции связаны с более низким RI левой ВСА с достаточно высоким уровнем значимости ( $p < 0,001$ ) (рис. 1Б).

Наибольший интерес вызывают значения RI при отсроченном воспроизведении слов, поскольку в этом случае можно говорить о том, что нарушения пластических процессов, связанные с низкой способностью к запоминанию слов, начинаются, когда RI превышает 0,55, т. е. тогда, когда наблюдаются низкие показатели отсроченного воспроизведения слов. Значения RI ниже 0,54 соответствуют относительно нормальному уровню отсроченного воспроизведения слов. Таким образом, граница между относительно нормальным и

измененным уровнями RI проходит в диапазоне 0,54–0,55. Интересно, что это совпадает со средним уровнем RI:  $0,54 \pm 0,013$ .

В связи с различной успешностью выполнения когнитивных функций в зависимости от RI левой ВСА возникает вопрос о состоянии нейросетей при этих условиях. Все испытуемые были разделены на две группы с RI ниже и выше среднего уровня (средние значения для этих групп составили  $0,42 \pm 0,007$  и  $0,61 \pm 0,010$  соответственно). Основное отличие нейросетей при физиологическом RI по сравнению с кровотоком при более жесткой сосудистой стенке (высокий RI) состояло в наличии более высоких показателей межполушарных связей на уровне базальных ганглиев, инсулярной коры и мозжечка (рис. 2А). При более высоком RI отмечены сравнительно более высокие показатели коннективности нейросети мозжечка и части клиновидной коры с передними областями, включающими лобный полюс и моторные области. Указанный эффект не был связан с возрастом, так как группа с более низким RI была по возрасту старше ( $68,8 \pm 1,5$  лет), а группа с более высоким RI — моложе ( $62,9 \pm 2,1$  лет). Различия считали значимыми при  $p = 0,025$ . При этом более высокие когнитивные показатели, в частности, показатели отсроченного воспроизведения слов, выявлены в старшей группе. Это могло быть связано как с особенностью выборки, так и с различной степенью злокачественности заболевания у пациентов разного возраста, наблюдавшейся и при других заболеваниях (при болезни Альцгеймера и пр.).

Статистические показатели для описанных связей представлены в табл. 2.

Полученные данные показывают, что выраженные межполушарные связи на уровне базальных ганглиев и коры, вероятно, являются фактором, связанным с сохранностью когнитивных функций.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

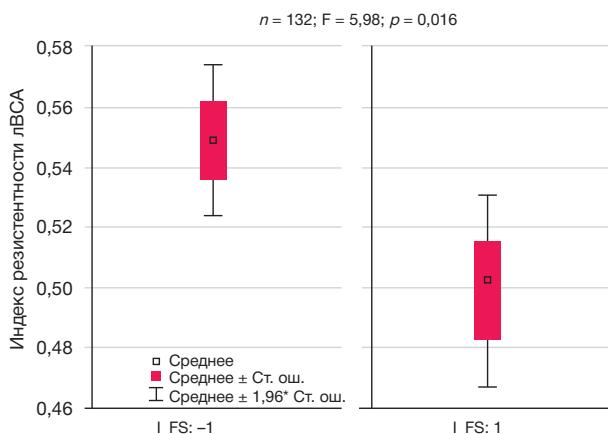
Средние значения RI у больных ХИМ, зарегистрированные в ходе настоящего исследования, были близки к значениям этого индекса у пожилых людей соответствующего возраста. Ряд авторов указывают, что RI = 0,7 является верхней границей нормы для лиц пожилого и старческого возраста [16]. По нашим данным, эта граница для левой ВСА у больных ХИМ проходит на уровне 0,55. Кровоток

по левой и правой ВСА, несмотря на систему Виллизиева круга, в большей мере связан с кровоснабжением ипсилатерального полушария нежели контрлатерального. В связи с этим недостаточность кровообращения (в частности, вызванная развитием атеросклероза) по левой или правой сонной артерии влияет на разные когнитивные функции или, как пишут некоторые авторы, на вербальный и невербальный интеллект [2]. По нашим данным, когнитивные процессы, связанные с вербальными функциями, коррелируют с RI левой ВСА, а связанные с невербальными функциями — с RI правой ВСА.

У пациентов с односторонними стенозирующими процессами и высоким RI ВСА нередко наблюдают незначительные когнитивные нарушения. При этом имеются сообщения о функциональной и структурной целостности сетей мозга в пораженном полушарии. В других случаях развитие когнитивного снижения практически всегда сопровождается изменениями в сетях мозга. Таким образом, существенным признаком, сопутствующим перестройкам нейросетей, являются когнитивные нарушения [4]. Важен факт тесной связи кровотока по левой и правой сонным артериям с кровоснабжением одноименного полушария. Это выражается в том, что снижение кровотока по левой ВСА сопровождается нарушениями когнитивных, главным образом вербальных, функций, а снижение кровотока в правой ВСА часто протекает бессимптомно и редко бывает связано с вербальными функциями. По нашим представлениям, нарушения в организации нейросетей и когнитивное снижение в условиях патологической гемодинамики и повышенного RI обусловлено неравномерным снижением функциональных возможностей различных структур головного мозга из-за их неодинаковой чувствительности к недостатку кислорода. Это происходит по двум причинам: из-за разной чувствительности коры и подкорковых образований к кислородному дефициту, а также из-за локальных и диффузных повреждений мозговых структур, присущих ХИМ. В исследованной выборке не были выявлены заметные на МРТ локальные очаги.

При этом церебральная саморегуляция как принцип работы мозга сохраняется, только функциональная система создается с использованием других нейронов. У больных со стенозом одной или обеих ВСА и повышенным RI можно наблюдать перестройку нейросетей покоя — вероятно, из-за тонких нарушений целостности белого вещества.

А



Б

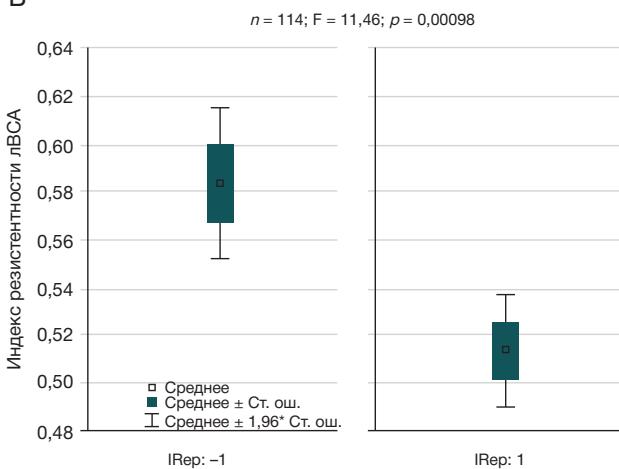
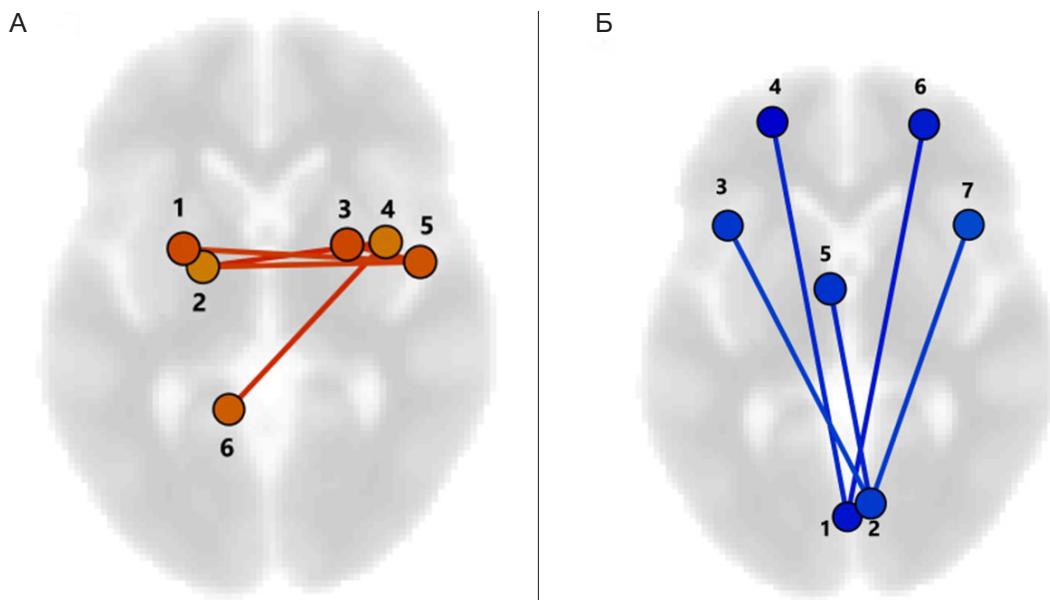


Рис. 1. RI левой ВСА (lVSA) при низких и высоких показателях когнитивных тестов. А. RI левой ВСА при низкой (-1) и высокой (1) беглости словесных ответов. Б. RI левой ВСА при низком (-1) и высоком (1) показателях отсроченного воспроизведения слов. I\_FS — беглость словесных ответов; IRep — отсроченное воспроизведение слов; N — число обследуемых; F — коэффициент Фишера;  $p$  — уровень значимости; ст. ош. — стандартная ошибка



**Рис. 2.** Различия показателей коннективности при низком (А) и высоком (Б) уровнях RI левой ВСА. А. Показатели коннективности, значимо преобладающие при низком RI левой ВСА по сравнению с высоким RI (1 — правое и левое; 1, 3 — Putamen l, r; 2 — Pallidum; 4 — Insular Cortex (IC); 5 — Planum Polare (PP); 6 — Cerebellum). Б. Показатели коннективности, значимо преобладающие при высоком RI левой ВСА по сравнению с низким RI (1 — NetWorks Cerebellar Posterior (NW Cereb Post); 2 — Supracalcarine Cortex (SCC); 4, 6 — Frontal Pole (FP) l, r; 3, 7 — Frontal Operculum (FO); 5 — Supplementary Motor Cortex (SMC))

В целом, нарушения гемодинамики в одном полушарии, сопровождающиеся когнитивными нарушениями, часто порождают изменения в нейросетях, затрагивающие оба полушария [2, 4]. Это совершенно понятно, потому что любые когнитивные функции реализуются при участии обоих полушарий, хотя вклад правого и левого полушария может существенно различаться. Поэтому особое значение приобретают межполушарные коммуникации, что подтверждается данными настоящего исследования. Этот факт отмечен и в других работах. В частности, было показано, что снижение межполушарной функциональной связности в сети по умолчанию и лобно-теменных сетях коррелирует с более низкими показателями вербальной беглости и отсроченного воспроизведения слов [17].

Выборка больных ХИМ, обследованных с применением фМРТ, была меньше выборки пациентов, обследованных с применением только дуплексного сканирования и психологического тестирования. Тем не менее, эта разница не накладывает серьезных ограничений на интерпретацию полученных результатов. Выборка

обследованных с применением фМРТ (55 больных ХИМ) репрезентативна: пациенты были отобраны случайным образом, они не различались по средним значениям RI и показателям психологического тестирования. Нет оснований полагать, что две указанные выборки могут отражать различные закономерности.

В целом, сопоставление гемодинамических показателей магистральных сосудов головы и характеристики BOLD-сигналов фМРТ перспективно для исследования патогенеза сосудистых заболеваний.

## ВЫВОДЫ

Индекс резистентности (RI) кровотока по левой ВСА сопряжен с сохранностью когнитивных функций у больных ХИМ. Более низкий RI левой ВСА (ниже 0,55–0,54) соответствует более успешному выполнению когнитивных вербальных функций. Вариация RI правой ВСА не была взаимосвязана с характеристиками когнитивных вербальных функций. RI по левой ВСА сопряжен с различиями в организации нейросетей: при низком,

**Таблица 2.** Значимые различия показателей коннективности при низком и высоком RI левой ВСА. А. Положительные значения различия. Б. Отрицательные значения различия

Показатели коннективности А	Значения Т	$p$ (некорр)	$p$ (FDR)
PP r-Putamen r	T(49) = 3,39	0,0007	0,0487
PP r-Putamen l	T(49) = 3,34	0,0008	0,0487
PP r-Pallidum l	T(49) = 3,30	0,0009	0,0487
IC r-Pallidum l	T(49) = 3,65	0,0003	0,0388
IC r-Cerebellum9 l	T(49) = 3,52	0,0005	0,0388
Показатели коннективности Б			
SCC r-SMC l	T(49) = -3,70	0,0003	0,0420
SCC r-FO r	T(49) = -3,39	0,0007	0,0420
SCC r-FO l	T(49) = -3,35	0,0008	0,0420
NW Cereb Post-FP r	T(49) = -3,86	0,0002	0,0266
NW Cereb Post-FP l	T(49) = -3,64	0,0003	0,0266

**Примечание:** Т — *t*-критерий Стьюдента;  $p$  (некорр) — уровень значимости без поправки на множественность сравнений;  $p$  (FDR) — уровень значимости с поправкой на множественность сравнений; FDR — false discovery rate; остальные сокращения приведены в примечании к рис. 2.

физиологически нормальном RI, сравнительно лучше выражены межполушарные коммуникации на уровне коры, базальных ганглиев и ствола мозга. При высоком RI выше показатели коннективности между лобными и

затылочными областями коры, а также с мозжечком. RI левой ВСА у больных ХИМ можно рассматривать как биомаркер когнитивного снижения и трансформации нейронных сетей.

## Литература

- Суслина З. А., Иллариошкин С. Н., Пирадов М. А. Неврология и нейронауки — прогноз развития. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2007; 1 (1): 5–9.
- Hideyuki I, Fumiaki O, Satoshi S, et. al. Cognitive outcome differences on the side of carotid artery stenting. *J Vasc Surg.* 2013; 57 (1): 125–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2012.07.043>.
- Rinjani A, Mesiano T, Andini PW, et al. Resistive index of internal carotid artery and common carotid artery in patients with cerebral small vascular disease. *J Hypertens.* 2021; 39: 16-e17. DOI: 10.1097/01.hjh.0000752596.61984.bf.
- Avirame K, Lesemann A, List J, Witte AV, Schreiber SJ, Flöel A. Cerebral autoregulation and brain networks in occlusive processes of the internal carotid artery. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015; 35 (2): 240–7. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.190.
- Greicius M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurol.* 2008; 21: 424–30.
- Marchi NA, Ramponi C, Hirotsu C, et al. Mean oxygen saturation during sleep is related to specific brain atrophy pattern. *Ann Neurol.* 2020 Jun; 87 (6): 921–30. DOI: 10.1002/ana.25728. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32220084.
- Ventura-Antunes L, Herculano-Houzel S. Energy supply per neuron is constrained by capillary density in the mouse brain. *BioRxiv* 2020.02.03.932434. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.02.03.932434>.
- Marshall RS, Krakauer JW, Matejovsky T, et al. Hemodynamic impairment as a stimulus for functional brain reorganization. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006; 26 (10): 1256–62. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600274.
- Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatric.* 1997; 9 Suppl 1: 173–6; discussion 177–8. DOI: 10.1017/s1041610297004870. PMID: 9447441.
- Танашян М. М., Максимова М. Ю., Домашенко М. А. Дисциркуляторная энцефалопатия. Путеводитель врачебных назначений. Терапевтический справочник. 2015; 2: 1–25.
- Баташева Т. Т., Артемова И. Ю., Вдовиченко Т. В. Хроническая ишемия мозга: механизмы развития и современное комплексное лечение. *Consilium medicum.* 2004; 3 (4). Available from: [http://old.consilium-medicum.com/media/refer/04\\_04/51.shtml](http://old.consilium-medicum.com/media/refer/04_04/51.shtml).
- Захаров В. В., Локшина А. Б. Когнитивные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии. *РМЖ.* 2009; №20: 1325–31.
- Лурия А. Р. Лекции по общей психологии. СПб.: Питер, 2006; 320 с.
- Фокин В. Ф., Шабалина А. А., Пономарева Н. В., Медведев Р. Б., Лагода О. В., Танашян М. М. Сопряженность показателей энергетического обмена и уровня гормона стресса кортизола с когнитивными характеристиками больных дисциркуляторной энцефалопатией. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2018; 4 (12): 47–51.
- Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect.* 2012; 2 (3): 125–41. DOI: 10.1089/brain.2012.0073.
- Staub D, Meyerhans A, Bundi B, Schmid HP, Frauchiger B. Prediction of cardiovascular morbidity and mortality: comparison of the internal carotid artery resistive index with the common carotid artery intima-media thickness. *Stroke.* 2006 Mar; 37 (3): 800–5. DOI: 10.1161/01.STR.0000202589.47401.c6. Epub 2006 Jan 26. PMID: 16439703.
- Wang Y, Risacher SL, West JD, McDonald BC, Magee TR, Farlow MR. Altered default mode network connectivity in older adults with cognitive complaints and amnestic mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2013; 35: 751–60.

## References

- Суслина ЗА, Иллариошкин СН, Пирадов МА. Неврология и нейронауки — прогноз развития. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2007; 1 (1): 5–9. Russian.
- Hideyuki I, Fumiaki O, Satoshi S, et. al. Cognitive outcome differences on the side of carotid artery stenting. *J Vasc Surg.* 2013; 57 (1): 125–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2012.07.043>.
- Rinjani A, Mesiano T, Andini PW, et al. Resistive index of internal carotid artery and common carotid artery in patients with cerebral small vascular disease. *J Hypertens.* 2021; 39: 16-e17. DOI: 10.1097/01.hjh.0000752596.61984.bf.
- Avirame K, Lesemann A, List J, Witte AV, Schreiber SJ, Flöel A. Cerebral autoregulation and brain networks in occlusive processes of the internal carotid artery. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015; 35 (2): 240–7. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.190.
- Greicius M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurol.* 2008; 21: 424–30.
- Marchi NA, Ramponi C, Hirotsu C, et al. Mean oxygen saturation during sleep is related to specific brain atrophy pattern. *Ann Neurol.* 2020 Jun; 87 (6): 921–30. DOI: 10.1002/ana.25728. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32220084.
- Ventura-Antunes L, Herculano-Houzel S. Energy supply per neuron is constrained by capillary density in the mouse brain. *BioRxiv* 2020.02.03.932434. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.02.03.932434>.
- Marshall RS, Krakauer JW, Matejovsky T, et al. Hemodynamic impairment as a stimulus for functional brain reorganization. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006; 26 (10): 1256–62. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600274.
- Morris JC. Clinical dementia rating: a reliable and valid diagnostic and staging measure for dementia of the Alzheimer type. *Int Psychogeriatric.* 1997; 9 Suppl 1: 173–6; discussion 177–8. DOI: 10.1017/s1041610297004870. PMID: 9447441.
- Tanashyan MM, Maksimova MJu, Domashenko MA. Discirkuljatornaja jencefalopatija. Putevoditel' vrachebnyh naznachenij. Terapevticheskiy spravochnik. 2015; 2: 1–25. Russian.
- Batasheva TT, Artemova IJu, Vdovichenko TV. Hronicheskaja ishemiya mozga: mehanizmy razvitiya i sovremennoe kompleksnoe lechenie. *Consilium medicum.* 2004; 3 (4). Available from: [http://old.consilium-medicum.com/media/refer/04\\_04/51.shtml](http://old.consilium-medicum.com/media/refer/04_04/51.shtml). Russian.
- Zaharov VV, Lokshina AB. Kognitivnye narushenija pri discirkuljatornoj jencefalopatii. *RMZh.* 2009; №20: 1325–31. Russian.
- Luriya AR. Lekcii po obshhej psihologii. SPb.: Piter, 2006; 320 s. Russian.
- Fokin VF, Shabalina AA, Ponomareva NV, Medvedev RB, Lagoda OV, Tanashyan MM. Soprjazhennost' pokazatelej jenergeticheskogo obmena i urovnya gormona stressa kortizola s kognitivnymi harakteristikami bol'nyh discirkuljatornoj jencefalopatij. *Annaly*

- klinicheskoy i eksperimental'noj nevrologii. 2018; 4 (12): 47–51. Russian.
- 15. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect.* 2012; 2 (3): 125–41. DOI: 10.1089/brain.2012.0073.
  - 16. Staub D, Meyerhans A, Bundi B, Schmid HP, Frauchiger B. Prediction of cardiovascular morbidity and mortality: comparison of the internal carotid artery resistive index with the common carotid artery intima-media thickness. *Stroke.* 2006 Mar; 37 (3): 800–5. DOI: 10.1161/01.STR.0000202589.47401.c6. Epub 2006 Jan 26. PMID: 16439703.
  - 17. Wang Y, Risacher SL, West JD, McDonald BC, Magee TR, Farlow MR. Altered default mode network connectivity in older adults with cognitive complaints and amnestic mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2013; 35: 751–60.

## НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АМИНОТИОЛЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ В СОЧЕТАНИИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

М. Ю. Максимова<sup>1</sup>✉, А. В. Иванов<sup>2</sup>, К. А. Никифорова<sup>2</sup>, Э. Д. Вирюс<sup>2</sup>, Е. Т. Суанова<sup>3</sup>, Ф. Р. Охтова<sup>3</sup>, М. А. Пирадов<sup>1</sup>, А. А. Кубатиев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научный центр неврологии, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

<sup>3</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

Установлено, что ишемический инсульт (ИИ) приводит к снижению ряда восстановленных форм низкомолекулярных аминотиолов (НМАТ). Целью исследования было оценить влияние сахарного диабета 2-го типа (Т2СД) на общее содержание, восстановленные формы и редокс статус НМАТ у пациентов с ИИ. Обследованы 175 пациентов с ИИ в бассейне внутренних сонных артерий (средний возраст 62 (55–69) года, поступившие в центр в первые 10–24 ч с момента возникновения неврологических нарушений). В основную группу вошли 68 пациентов (41,2% мужчин) с ИИ и Т2СД. Группу сравнения составили 107 пациентов (57% мужчин) с ИИ и стрессовой гипергликемией, контрольную группу — 31 пациент (54,8% мужчин) с хронической цереброваскулярной патологией (ЦВП) без СД. Во всех случаях пациентам при поступлении проводили исследование НМАТ в плазме крови методом жидкостной хроматографии. Установлено, что ИИ у пациентов с Т2СД ассоциируется с резким снижением уровня общего цистеина (оСис), общего глутатиона (оБгн), общего гомоцистеина (оГцис), восстановленного глутатиона (вГлн), редокс-статуса глутатиона (РС Глн), а также повышением редокс-статуса цистеина (РС Цис) и редокс-статуса гомоцистеина (РС Нсу Гцис). У пациентов с Т2СД, в отличие от пациентов с развитием стрессовой гипергликемии в остром периоде ИИ, отмечены более низкие показатели оЦис, оБгн и оГцис. Таким образом, уровень РС Глн, составляющий 4,06% и менее в первые сутки ИИ у пациентов с Т2СД, является предиктором неблагоприятного функционального прогноза (оценка по шкале mRS составляет 3 балла и более спустя 3 недели после ИИ).

**Ключевые слова:** ишемический инсульт, сахарный диабет 2-го типа, низкомолекулярные аминотиолы

**Вклад авторов:** М. Ю. Максимова — разработка концепции, обобщающий анализ полученных данных, написание статьи; А. В. Иванов — разработка концепции, анализ литературы, исследование низкомолекулярных аминотиолов; К. А. Никифорова — сбор и первичный анализ лабораторных показателей; Э. Д. Вирюс — обобщающий анализ полученных лабораторных данных; Е. Т. Суанова — статистическая обработка полученных данных; Ф. Р. Охтова — проведение клинического обследования пациентов; М. А. Пирадов — организация исследования; А. А. Кубатиев — организация исследования

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 3-1/16 от 16 марта 2016 г.), проведено в соответствии с основными принципами Хельсинкской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Марина Юрьевна Максимова  
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367, Россия; ncnm maximova@mail.ru

**Статья получена:** 25.10.2021 **Статья принята к печати:** 13.11.2021 **Опубликована онлайн:** 08.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.057

## PLASMA LOW MOLECULAR WEIGHT AMINOTHIOLS IN ISCHEMIC STROKE PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Maksimova MYu<sup>1</sup>✉, Ivanov AV<sup>2</sup>, Nikiforova KA<sup>2</sup>, Virus ED<sup>2</sup>, Suanova ET<sup>3</sup>, Ochtova FR<sup>3</sup>, Piradov MA<sup>1</sup>, Kubatiev AA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Center of Neurology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

It was found that ischemic stroke (IS) results in decreased levels of a number of reduced forms of low molecular weight aminothiols (LMWTs). The study was aimed to assess the impact of type 2 diabetes mellitus (T2D) on the total content, reduced forms and redox status of LMWTs in patients with IS. A total of 175 patients with IS in the internal carotid artery basin (the average age was 62 (55–69) years) were assessed, who were admitted to the Center within the first 10–24 h since the onset of neurological disorder. The index group included 68 patients with IS and T2D (males made up 41.2%). The comparison group consisted of 107 patients with IS and stress hyperglycemia (males made up 57%), and the control group included 31 non-diabetic patients with chronic cerebrovascular disease (CCVD) (males made up 54.8%). The admission plasma levels of LMWTs were assessed by liquid chromatography in all patients. It was found, that IS in patients with T2D was associated with the rapid decrease in total cysteine (tCys), total glutathione (tGSH), total homocysteine (tHcy), reduced glutathione (rGSH), and glutathione redox status (GSH RS), along with the increase in cysteine redox status (Cys RS) and homocysteine redox status (Hcy RS). In contrast to patients with stress hyperglycemia developing during the acute period of IS, patients with T2D had lower tCys, tGSH, and tHcy levels. Thus, GSH RS of 4.06% or lower in the first 24 hours after the IS in patients with T2D was a predictor of poor functional outcome (mRS score was 3 or more 3 weeks after IS).

**Keywords:** ischemic stroke, type 2 diabetes mellitus, low molecular weight aminothiols

**Author contribution:** Maksimova MYu — concept formulation, data synthesis, manuscript writing; Ivanov AV — concept formulation, literature analysis, assessment of low molecular weight aminothiols; Nikiforova KA — primary laboratory data acquisition; Virus ED — laboratory data synthesis; Suanova ET — statistical data processing; Ochtova FR — clinical assessment of patients; Piradov MA — study management; Kubatiev AA — study management.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol № 3-1/16 dated March 16, 2016), it was carried out in accordance with the basic principles outlined in the Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina Yu. Maksimova  
Volokolamskoe shosse, 80, Moscow, 125367, Russia; ncnm maximova@mail.ru

**Received:** 25.10.2021 **Accepted:** 13.11.2021 **Published online:** 08.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.057

Инсульт является важнейшей причиной заболеваемости, инвалидности и смертности населения многих стран. При сахарном диабете 2-го типа (Т2СД) риск развития ишемического инсульта (ИИ) увеличивается в 2–2,5 раза, риск смерти от инсульта в 3 раза [1, 2]. Гипергликемия в первые часы инсульта может явиться стрессовой реакцией организма на ишемию мозга [3]. Выраженность нейрогормональных и метаболических нарушений отражает тяжесть течения ИИ и влияет на прогноз заболевания [4].

Установлена высокая частота атеросклероза внутренних сонных артерий (ВСА) у пациентов с Т2СД по сравнению с пациентами без него. В связи с этим у лиц с Т2СД наиболее часто патогенетическим подтипов ИИ является атеротромботический инсульт [5].

Одним из ведущих факторов патогенеза ИИ является окислительный стресс. Накопление продуктов свободнорадикального окисления вызывает блок SH-групп ферментов и их инактивацию, гидроксилирование ДНК, ее фрагментацию и обусловленную этим дестабилизацию клеточных мембран [6, 7].

Низкомолекулярные аминотиолы (НМАТ) высокочувствительны к окислительному стрессу. В плазме крови преобладают их окисленные формы; отношение восстановленных форм к общему содержанию каждого тиола характеризует редокс-статус (РС). В проведенных экспериментальных и клинических исследованиях установлено снижение уровня восстановленных форм в остром периоде ИИ, что может свидетельствовать об активации окислительных процессов при недостаточности антиоксидантной защиты [8, 9].

У больных с Т2СД выявлено как увеличение уровня общего гомоцистеина (оГис), так и снижение уровня общего глутатиона (оГлн) у женщин [10]. В других работах при Т2СД было отмечено снижение редокс-статуса глутатиона (РС Глн) в плазме [11] и цельной крови [12]. При ишемической болезни сердца (ИБС) установлена обратная зависимость между гипергликемией и уровнем оГлн в плазме крови ( $r = -0,328$ ;  $p = 0,011$ ), кроме того, показано, что Т2СД является фактором, оказывающим дополнительное отрицательное влияние на уровень оГлн [13]. Возможно, что низкий уровень оГлн в плазме крови связан с повышением активности  $\gamma$ -глутамилцистеинтрансферазы при гипергликемии [10]. Было также показано, что в эритроцитах больных Т2СД наблюдается снижение синтеза Глн и, возможно, возрастает скорость его потребления [14].

Цель исследования — оценить влияние Т2СД на общее содержание (о), восстановленные формы (в) и РС НМАТ в плазме крови у пациентов с ИИ.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 175 пациентов с ИИ в бассейне ВСА (89 мужчин и 86 женщин в возрасте 46–84 лет (средний возраст 62 (55–69) года), поступившие в Научный центр неврологии (Москва, Россия) в первые 10–24 ч с момента возникновения неврологических нарушений. В основную группу вошли 68 пациентов (41,2% мужчин) с ИИ и Т2СД. Группу сравнения составили 107 пациентов (57% мужчин) с ИИ и стрессовой гипергликемией, контрольную группу — 31 пациент (54,8% мужчин) с хронической цереброваскулярной патологией (ЦВП) без СД (средний возраст 69 (60–75) лет).

Критерии включения: возраст от 45 лет до 85 лет; первичный ИИ; время поступления — первые 6–24 ч с

момента развития неврологической симптоматики; инфаркт в бассейне ВСА, подтвержденный данными нейровизуализации; Т2СД или стрессовая гипергликемия в момент поступления; информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: СД 1-го типа; острый инфаркт миокарда; декомпенсированная почечная, печеночная, дыхательная недостаточность; сердечная недостаточность III–IV ФК.

Всем пациентам проводили общеклиническое и неврологическое обследования.

Оценку тяжести неврологических нарушений при поступлении больных и в конце острого периода ИИ проводили при помощи шкалы инсульта Национальных институтов здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) [15]. Неврологические нарушения соответствуют легкой степени тяжести при  $NIHSS < 7$ ; средней степени тяжести при  $7 \leq NIHSS < 14$ ; тяжелому инсульту при  $14 \leq NIHSS$ . Повседневную деятельность и самообслуживание больных при поступлении и в 21-е сутки ИИ оценивали с помощью индекса Бартел (Bartel Index, BI) [16], функциональный статус — с использованием модифицированной шкалы Рэнкина (modified Rankin scale, mRs). Способности выполнять все обычные обязанности и участвовать в повседневной деятельности соответствовала оценка к 21 суткам 0–2 баллов по данной шкале, неблагоприятному функциональному прогнозу —  $\geq 3$  баллов [17].

Диагноз ИИ устанавливали на основании клинической картины и данных магнитно-резонансной томографии (Magneton Symphony и Magneton Avanto, 1,5 Т) в стандартных режимах (T2, T1, T2-FLAIR, T2\*). Исследование церебральных артерий проводили с помощью МР-ангиографии в режиме 3D-TOF. Дуплексное исследование артерий головного мозга выполняли на приборе Philips iU22 (Philips; Нидерланды).

Патогенетический подтип ИИ определяли в соответствии с международными критериями TOAST (Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment) [18].

Исследование фибриногена проводили на автоматическом коагулометре ACL 9000 (Instrumentation Laboratory; США).

Уровни глюкозы (гексокиназным методом), гликированного гемоглобина (HbA1c) (иммунотурбометрическим методом), общего холестерина, липопротеинов низкой плотности, мочевины и креатинина исследовали на биохимическом анализаторе Konelab 30i (Thermo Fisher Scientific; Финляндия) с использованием наборов реагентов (Randox; Великобритания).

Всем пациентам с ИИ проводили определение гликемии при поступлении. HbA1c исследовали при гликемии от 6,1 ммоль/л и более при поступлении. Уровень HbA1c отражает гликемию за последние три месяца. Диагноз Т2СД устанавливали на основании критериев Американской диабетической ассоциации [19].

Всем пациентам с ИИ осуществляли базисную терапию, включающую гипотензивные, антитромботические и гиполипидемические препараты. Сахароснижающую терапию проводили под контролем гликемии.

Содержание НМАТ определяли, как описано ранее [8]. Венозную кровь собирали в пробирки с цитратом натрия (0,38%) и центрифугировали при 3000 г в течение 3 мин. Плазму для анализа общего содержания НМАТ отбирали и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Для дериватизации 100 мкл плазмы смешивали с 10 мкл 50 мМ дитиотеритола

и 10 мкл внутреннего стандарта (пеницилламин 0,45 мМ). Растворы дитиотреотола и пеницилламина содержали 10 мМ ЭДТА-На. Смесь инкубировали при 37 °С в течение 15 мин. Затем вносили в пробу 5,5'-дитиобиснитробензойную кислоту (600 мкл, 20 мМ) в этаноле и инкубировали смесь при 4 °С в течение 30 мин. После центрифугирования в течение 5 мин при 15 000 г осушали супернатант под вакуумом при 60 °С в течение 2 ч. Перед анализом осадок ресuspendировали в 30 мМ NaOH.

Для определения восстановленных форм НМАТ к плазме (100 мкл) добавляли к 25 мкл раствора 5-сульфосалициловой кислоты (230 г/л) сразу после ее выделения, замораживали и хранили при -80 °С. Перед дериватизацией образцы центрифугировали в течение 5 мин при 15 000 г. Затем 40 мкл супернатанта смешивали с 40 мкл 20 мМ 5,5'-дитиобиснитробензойной кислоты и с 2,5 мкМ пеницилламина в 0,4 М Na-фосфатном буфере (рН 8,0). Затем добавляли 10 мкл 1 М NaOH, раствор перемешивали в течение 5 с и добавляли 12,5 мкл 1 М HCl с 20 мМ N-этилмалеимида для остановки реакции.

Для анализа использовали хроматографическую систему Waters ACQUITY (Waters, Милфорд; США), оснащенную УФ-детектором PDA (поглощение 330 нм; разрешение 10,8 нм; частота 5 с-1) и колонку Poroshell 120 SBC18 (2,8 мкм, 150 мкм — 2 мм) (Agilent; США). Температуру колонки и образцов поддерживали на уровне 50 и 10 °С соответственно. Объем ввода образца составлял 10 мкл, а скорость потока составляла 0,2 мл/мин. Элюент А — 0,1 М ацетат аммония с 0,12% (об./об.) HCOOH, элюент Б — ацетонитрил. Хроматографию проводили с элюированием Б с линейным градиентом от 2,5 до 10% в течение 5 мин. Регенерацию выполняли с использованием

70% Б в течение 1,5 мин, уравновешивание — с помощью 2,5% Б в течение 4 мин.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета IBM SPSS Statistics Version 20.0 (IBM Corp.; США). Для получения дискриминативных данных использовали модуль «описательные статистики». Количественные признаки описывали с помощью медианы, 25%- и 75%-го квартилей ( $Me (Q_1-Q_3\%)$ ), качественные данные представляли в виде абсолютных частот и процентов. При сравнении групп по количественному признаку использовали тесты Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни. Для обнаружения прогностических факторов использовали методы логистической регрессии. Отбор переменных проводили методом условного включения переменных. Для оценки качества модели логистической регрессии использовали ROC-анализ и вычисление статистических характеристик тестов (чувствительность, специфичность). Для оценки прогностической силы модели проводили оценку площади под кривой AUC (Area Under Curve). Для определения оптимального порога отсечения учитывали требование соблюдения баланса между чувствительностью и специфичностью. Для всех сравнений и тестов применяли двусторонний критический уровень значимости, равный 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные характеристики пациентов с ИИ и хронической ЦВП представлены в табл. 1. Группы пациентов не различались по возрасту, полу, показателям липидного и белкового обмена. Пациенты с ИИ до включения в исследование постоянно принимали гипотензивные препараты в 46 случаях (26,3%), антиагреганты — в 22

Таблица 1. Характеристика пациентов с ИИ и хронической цереброваскулярной патологией

Показатель	Пациенты с ИИ ( $n = 175$ )	Пациенты с хронической ЦВП без СД ( $n = 31$ )	$p$
Возраст, лет; $Me (Q_1-Q_3)$	62 (55–69)	63 (58–69)	0,583
Пол (мужчины/женщины) (%)	89/86 (50,9/49,1)	17/14 (54,8/45,2)	0,702
Подтип ИИ:			
Атеротромботический инсульт (АТИ), $n$ (%)	35 (20,0%)		
Кардиогенный эмболический инсульт (КЭИ), $n$ (%)	50 (28,6%)		
Лакунарный инсульт (ЛИ), $n$ (%)	90 (51,4%)		
Тяжесть инсульта при поступлении:			
NIHSS < 7 (легкая)	92 (52,6%)		
7 ≤ NIHSS < 14 (умеренная)	67 (38,3%)		
14 ≤ NIHSS (тяжелая)	16 (9,1%)		
NIHSS при поступлении; $Me (Q_1-Q_3)$	6 (3–11)		
NIHSS на 21-е сут.; $Me (Q_1-Q_3)$	3 (2–7)		
mRs при поступлении; $Me (Q_1-Q_3)$	3 (2–4)		
mRs на 21-е сут.; $Me (Q_1-Q_3)$	2 (1–3)		
Индекс Бартел при поступлении; $Me (Q_1-Q_3)$	70 (20–90)		
Индекс Бартел на 21-е сут.; $Me (Q_1-Q_3)$	85 (60–98)		
Хорошее восстановление (mRs 0–1), $n$ (%)	79 (45,1%)		
Глюкоза, ммоль/л (при поступлении); $Me (Q_1-Q_3)$	6,50 (6,22–7,72)	5,6 (5,3–6,0)	< 0,0001
Холестерин общий, ммоль/л (при поступлении); $Me (Q_1-Q_3)$	5,9 (5,0–6,9)	5,9 (4,9–6,6)	0,277
ХС ЛПНП, ммоль/л (при поступлении); $Me (Q_1-Q_3)$	2,33 (1,80–2,97)	2,2 (1,4–3,0)	0,433
Креатинин, мкмоль/л	91,0 (79,0–103,0)	86,0 (75,0–97,0)	0,059
Мочевина, ммоль/л (при поступлении); $Me (Q_1-Q_3)$	6,5 (5,9–6,9)	6,2 (5,6–6,8)	0,841
Фибриноген, г/л (при поступлении); $Me (Q_1-Q_3)$	3,40 (2,90–4,13)	3,58 (2,97–4,06)	0,119

**Таблица 2.** Сравнительный анализ плазменного уровня низкомолекулярных аминотиолов (мкМ) и их редокс-статуса (%) у пациентов с ИИ и в группе контроля (тест Манна–Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ ( <i>n</i> = 175); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	Пациенты с хронической ЦВП без СД ( <i>n</i> = 31); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	<i>p</i>
оЮис (мкМ)	332,3 (226,8–375,9)	267,1 (230,4–321,5)	0,720
оГлн (мкМ)	1,64 (1,02–2,52)	3,09 (2,10–3,66)	< 0,0001
оЮгис (мкМ)	13,54 (8,64–18,93)	13,01 (11,45–15,93)	0,932
вЮис (мкМ)	6,28 (4,98–7,19)	6,32 (5,57–8,36)	0,330
вЮгис (мкМ)	0,038 (0,024–0,058)	0,242 (0,177–0,374)	< 0,0001
вЮгис (мкМ)	0,16 (0,13–0,23)	0,14 (0,10–0,17)	0,018
РС Юис, %	2,03 (1,64–2,67)	2,49 (1,98–2,97)	0,066
РС Глн, %	2,04 (1,51–3,47)	8,36 (6,68–15,96)	< 0,0001
РС Гис, %	1,18 (0,90–1,91)	1,09 (0,83–1,33)	0,041

случаях (12,6%), антикоагулянты — в 11 (6,3%) и статины — в 8 случаях (4,6%). В группе с хронической ЦВП профилактическую терапию до включения пациентов в исследование не проводили.

Инсульт, обусловленный атеротромбозом ВСА, был диагностирован в 35 случаях (20%), кардиогенный эмболический инсульт — в 50 (28,6%), лакунарный инсульт,

обусловленный патологией мелких артерий, — в 90 случаях (51,4%).

При атеротромботическом инсульте имели место ступенеобразное развитие неврологических нарушений и возникновение одиночных больших инфарктов корково-подкорковой локализации вне областей смежного кровоснабжения.

**Таблица 3.** Характеристика пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД и пациентов с ИИ в сочетании со стрессовой гипергликемией (тест Манна–Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД ( <i>n</i> = 68)	Пациенты с ИИ и стрессовой гипергликемией ( <i>n</i> = 107)	<i>p</i>
Возраст, лет; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	68 (55–75)	62 (54–67)	0,046
Пол (мужчины/женщины), (%)	28/40 (41,2/58,8)	61/46 (57,0/43,0)	0,045
Подтип ИИ:			
Атеротромботический инсульт (АТИ), <i>n</i> (%)	4 (5,9%)	31 (29,0%)	< 0,0001
Кардиогенный эмболический инсульт (КЭИ), <i>n</i> (%)	34 (50,0%)	16 (15,0%)	< 0,0001
Лакунарный инсульт (ЛИ), <i>n</i> (%)	30 (44,1%)	60 (56,1%)	0,162
Тяжесть инсульта при поступлении:			
NIHSS < 7 (легкая)/	32 (47,1%)	60 (56,1%)	0,278
7 ≤ NIHSS < 14 (умеренная)/	30 (44,1%)	37 (34,6%)	0,264
14 ≤ NIHSS (тяжелая)	6 (8,8%)	10 (9,3%)	1,000
NIHSS при поступлении; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	7 (4–11)	6 (3–10)	0,238
NIHSS на 21-е сут.; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	3 (2–8)	3 (2–7)	0,390
mRs при поступлении; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	70 (28–81)	70 (20–90)	0,790
mRs на 21-е сут.; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	85 (60–100)	85 (60–95)	0,957
Индекс Бартел при поступлении; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	3 (2–4)	3 (2–4)	0,922
Индекс Бартел на 21-е сут.; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	2 (1–3)	2 (1–3)	0,762
Хорошее восстановление (mRs 0–1), <i>n</i> (%); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	30 (44,1%)	49 (45,8%)	0,877
Длительность Т2СД, лет; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	7 (5–10)	—	
Глюкоза, ммоль/л (при поступлении); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	6,50 (6,18–8,11)	6,40 (6,16–7,08)	0,083
HbA1c, %; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	7,8 (6,8–9,6)	5,5 (5,4–5,8)	< 0,0001
Холестерин общий, ммоль/л (при поступлении); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	5,50 (5,00–6,63)	6,00 (5,00–7,00)	0,353
ХС ЛПНП, ммоль/л (при поступлении); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	2,33 (2,16–2,94)	2,27 (1,72–2,98)	0,432
Креатинин, ммоль/л (при поступлении); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	94,0 (80,0–107,0)	88,0 (78,0–100,0)	0,075
Мочевина, ммоль/л (при поступлении); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	6,40 (5,25–6,93)	6,60 (6,10–6,90)	0,233
Фибриноген, г/л (при поступлении); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	3,61 (3,05–4,11)	3,39 (2,83–4,13)	0,267

**Таблица 4.** Сравнение плазменного уровня низкомолекулярных аминотиолов (мкМ) и их редокс-статуса (%) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД и у пациентов с ИИ в сочетании со стрессовой гипергликемией (тест Манна–Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД ( $n = 68$ ); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	Пациенты с ИИ и стрессовой гипергликемией ( $n = 107$ ); Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	$p$
оЦис (мкМ)	135,6 (126,7–150,5)	342,6 (307,0–390,0)	< 0,0001
оГлн (мкМ)	0,84 (0,55–1,1)	2,13 (1,32–2,71)	< 0,0001
оГцис (мкМ)	5,48 (4,75–6,5)	15,24 (12,97–20,61)	< 0,0001
вЦис (мкМ)	6,57 (4,44–7,72)	6,24 (5,03–7,14)	0,904
вГлн (мкМ)	0,038 (0,017–0,051)	0,036 (0,025–0,06)	0,223
вГцис (мкМ)	0,15 (0,12–0,19)	0,17 (0,13–0,24)	0,099
РС Цис, %	4,53 (2,85–5,69)	1,87 (1,46–2,27)	< 0,0001
РС Глн, %	4,47 (2,09–6,02)	1,96 (1,45–2,74)	< 0,0001
РС Гцис, %	2,61 (1,47–3,35)	1,08 (0,84–1,42)	< 0,0001

Причинами тромбоэмболии артерий мозга из сердца были эмбологенные формы ИБС (пароксизмальная форма фибрилляции предсердий в 29 случаях (58%), постоянная форма фибрилляции предсердий — в 17 случаях (34%), постинфарктный кардиосклероз — в 4 случаях (8%)). У 34 пациентов фибрилляция предсердий была диагностирована впервые в остром периоде ИИ. Клинически для кардиогенного эмболического инсульта было характерно внезапное появление стойкой неврологической симптоматики. По данным МРТ корково-подкорковые инфаркты локализовались преимущественно в бассейне средней мозговой артерии.

ИИ, обусловленный гипертоническими малыми глубинными инфарктами головного мозга, характеризовался постепенным нарастанием неврологических нарушений в виде лакунарных синдромов. Малые глубинные инфаркты локализовались в базальных ядрах, белом веществе полушарий большого мозга, внутренней капсуле. У 71 пациента (78,9%) с лакунарным инсультом выявлены артериальная гипертония 3-й степени, у 19 пациентов (21,1%) — артериальная гипертония 2-й степени.

Исходная оценка тяжести ИИ позволила выявить неврологические нарушения легкой степени (NIHSS < 7) в 92 случаях (52,6%), средней степени (7 ≤ NIHSS < 14) — в 67 случаях (38,3%), тяжелой степени (14 ≤ NIHSS) — в 16 случаях (9,1%) (см. табл. 1).

Уровень гликемии при поступлении среди пациентов с ИИ составил 6,50 (6,22–7,72) ммоль/л.

Проведенный анализ НМАТ показал, что в группе ИИ по сравнению с пациентами группы хронической ЦВП показатели оГлн, вГлн, РС Глн были значительно ниже ( $p < 0,0001$ ), а вГцис и РС Гцис — выше ( $p = 0,018$  и  $p = 0,041$ ) (табл. 2).

**Таблица 5.** Плазменный уровень низкомолекулярных аминотиолов (мкМ) и их редокс-статус (%) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД с учетом функционального восстановления (тест Манна–Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД, (mRS 0–2 на 21-е сут.), $n = 28$ ; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД (mRS 3 и более баллов на 21-е сут.); $n = 40$ ; Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> )	$p$
оЦис (мкМ)	132,8 (125,7–140,0)	139,2 (132,2–57)	0,090
оГлн (мкМ)	0,85 (0,74–1,02)	0,61 (0,35–1,16)	0,416
оГцис (мкМ)	5,87 (4,78–6,38)	5,33 (4,53–7,01)	0,823
вЦис (мкМ)	6,57 (4,18–8,53)	6,55 (4,72–7,72)	0,959
вГлн (мкМ)	0,042 (0,02–0,053)	0,026 (0,014–0,042)	0,129
вГцис (мкМ)	0,15 (0,12–0,17)	0,15 (0,12–0,23)	1,000
РС Цис, %	5,26 (3,20–6,10)	3,51 (2,06–5,04)	0,043
РС Глн, %	4,92 (3,40–6,43)	2,79 (1,97–4,63)	0,018
РС Гцис, %	2,7 (1,97–3,57)	2,17 (1,13–3,18)	0,158

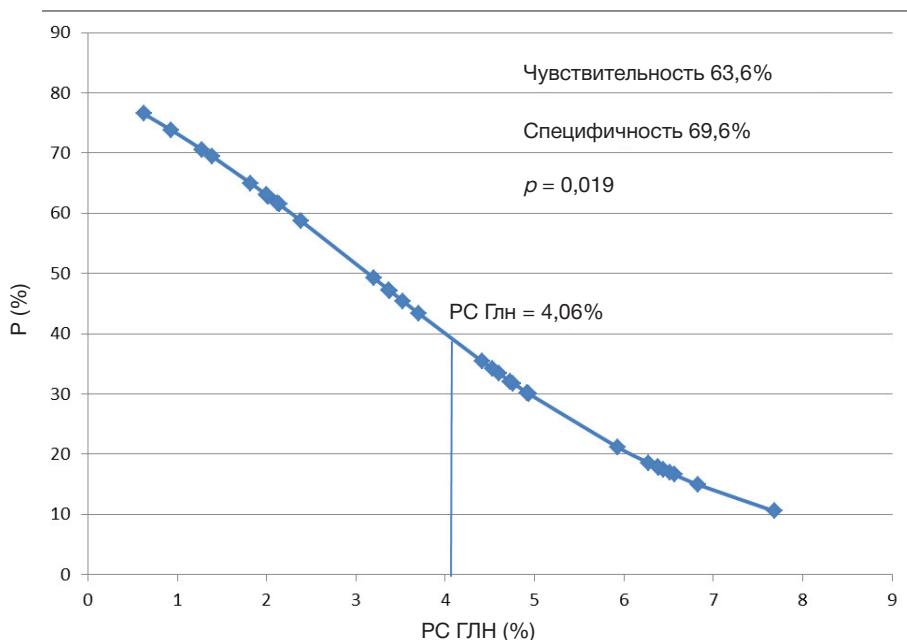


Рис. ROC кривая неблагоприятного функционального прогноза ( $mRS \geq 3$ ) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД при оценке редокс-статуса глутатиона

При разделении пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД в зависимости от степени функционального восстановления к 21 суткам анализ НМАТ показал, что в группе пациентов с легкими ограничениями повседневной деятельности ( $mRS = 0$  до 2 баллов) показатели РС Цис и РС Глн были значительно выше, по сравнению с пациентами с тяжелыми нарушениями функциональной активности (РС Цис — 5,26 против 3,51 мкМ,  $p = 0,043$ ; РС Глн — 4,92 против 2,79 мкМ,  $p = 0,018$ ) (табл. 5).

Для выявления маркеров неблагоприятного прогноза ( $mRS \geq 3$ ) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД использовали методы логистической регрессии. Прогностическая значимость РС Глн представлена на рис. ROC-анализ 68 пациентов с ИИ в бассейне ВСА в сочетании с Т2СД показал, что пороговый уровень РС Глн  $\leq 4,06\%$  в первые сутки ИИ является предиктором неблагоприятного прогноза ИИ ( $mRS \geq 3$  баллов через 21 день после ИИ). Чувствительность модели составила 63,6%, специфичность — 69,6%, площадь под ROC-кривой —  $0,74 \pm 0,09$ , что соответствует хорошему качеству для прогнозирования функционального восстановления при ИИ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хроническую гипергликемию при Т2СД рассматривают как один из неблагоприятных факторов риска развития ИИ. Глюкоза — химическое соединение, активно вступающее в реакции взаимодействия с белками и липидами с образованием конечных продуктов гликозилирования [20, 21]. Гипергликемия, хронический окислительный стресс, митохондриальная дисфункция при Т2СД приводят к дисфункции эндотелия, нарушению ангиогенеза, активации гемостаза, повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера [22]. Гипергликемия резко усиливает окислительные процессы путем снижения уровней витаминов Е, С и других антиоксидантов (мочевой кислоты) [11], а также является дополнительным фактором, стимулирующим и облегчающим образование активных форм кислорода [23].

Хроническую гипергликемию определяют по степени связывания гемоглобина с глюкозой и процентному содержанию HbA1c. Чем выше уровень HbA1, тем более высокие значения гликемии отмечали у пациента в

последние три месяца. В норме этот показатель не превышает 6,5%. Увеличение HbA1c на каждый 1% повышает риск развития инсульта на 17% [24]. В проведенном нами исследовании длительность Т2СД составила 7 лет, уровень HbA1c — 7,8 %.

При ИИ воздействие гипергликемии на головной мозг опосредовано как нарушением церебральной микроциркуляции, так и токсическим воздействием на ткань мозга. С гипергликемией связывают накопление лактата, образование свободных радикалов, развитие цитотоксического отека мозга, нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера [25, 26].

Гипергликемия при Т2СД и ИИ приводит к истощению антиоксидантной системы и нарушению всех видов тканевого обмена. Показателем окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках и тканях и индикатором антиоксидантного потенциала плазмы крови служит соотношение «тиолы / дисульфиды» или «SH / SS» [11, 27].

Глутатион — тиолсодержащий эндогенный трипептид, образованный цистеином, глутаминовой кислотой и глицином. Он синтезируется непрерывно, однако с относительно низкой скоростью [28]. Глутатион является также фактором, регулирующим метаболизм глюкозы у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями [13]. Полиморфизм глутатион-S-трансферазы, фермента глутатион-опосредованной детоксикации ксенобиотиков, способствует раннему развитию сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете [29].

При остро возникшем окислительном стрессе уровень общего глутатиона (Gsh) снижается, уровень окисленного глутатиона увеличивается (GSSG), в результате чего ускоряется цикл Gsh / GSSG [27].

Гипергликемия в остром периоде ИИ связана с неблагоприятным функциональным прогнозом [4], однако эффективность влияния сахароснижающей терапии с применением инсулина на тяжесть и исход инсульта остается недоказанной [1].

Полученные результаты показывают, что Т2СД у пациентов с ИИ ассоциируется с резким снижением оЦис, оГлн и оГис, вГлн и РС Глн, но при этом наблюдается повышение РС Цис и РС Гис в плазме крови.

Возможно, что хронический окислительный стресс приводит к истощению НМАТ в плазме крови. Необратимая утилизация Глн может происходить при высокой интенсивности окислительного стресса, когда Глн экспортируется из клеток, чтобы предотвратить значительный сдвиг в окислительно-восстановительном равновесии [28]. По-видимому, это основной механизм, объясняющий отсутствие связей между оГлн, оЦис и оГцис, а также оГлн и вГлн. Статистически значимых связей между уровнями глюкозы крови и НМАТ также не выявлено. Это свидетельствует о том, что изменения в метаболизме НМАТ при Т2СД опосредованы негликемическими механизмами.

Уровень РС Глн, равный 4,06% и менее в первые сутки ИИ, является предиктором неблагоприятного прогноза ИИ (mRS  $\geq 3$  через 3 недели после ИИ). В связи с этим поиск

подходов к коррекции метаболизма глутатиона у пациентов с Т2СД можно рассматривать как потенциальную задачу терапии в остром периоде ИИ.

## ВЫВОДЫ

Т2СД является фактором, оказывающим значительное влияние на метаболизм НМАТ у пациентов с ИИ. Несмотря на отсутствие связи между уровнями глюкозы и НМАТ, наличие Т2СД было ассоциировано со снижением общего содержания гомоцистеина, цистеина и глутатиона, а редокс-статус глутатиона, равный 4,06% и менее в первые сутки ИИ, был связан с неблагоприятным функциональным прогнозом. Коррекция метаболизма глутатиона при ИИ в сочетании с Т2СД может оказывать положительное влияние на течение ИИ.

## Литература

1. Hill MD. Stroke and diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol*. 2014;126:167–74. DOI: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00012-6.
2. Sarwar N, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gobin R, Seshasai SR, Forouhi NG, et al. Markers of dysglycaemia and risk of coronary heart disease in people without diabetes: Reykjavik prospective study and systematic review. *PLoS Med*. 2010; 7 (5): e1000278. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000278.
3. Barth E, Albuszies G, Baumgart K, Matejovic M, Wachter U, Vogt J, et al. Glucose metabolism and catecholamines. *Crit Care Med*. 2007; 35 (9 Suppl): S508–18. DOI: 10.1097/01.CCM.0000278047.06965.20.
4. Zhu B, Pan Y, Jing J, Meng X, Zhao X, Liu L, et al. Stress Hyperglycemia and Outcome of Non-diabetic Patients After Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol*. 2019; 10: 1003. DOI: 10.3389/fneur.2019.01003.
5. Tuttolomondo A, Pinto A, Salemi G, Di Raimondo D, Di Sciacca R, Fernandez P, et al. Diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke: differences, subtype distribution and outcome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2008; 18 (2): 152–7. DOI: 10.1016/j.numecd.2007.02.003.
6. Zhao H, Han Z, Ji X, Luo Y. Epigenetic regulation of oxidative stress in ischemic stroke. *Aging Dis*. 2016; 2016; 7 (3): 295–306. DOI: 10.14336/AD.2015.1009.
7. Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci*. 2017; 38 (7): 1167–86. DOI: 10.1007/s10072-017-2938-1.
8. Ivanov AV, Alexandrin VV, Paltyn AA, Nikiforova KA, Virus ED, Luzyanin BP, et al. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. *Redox Rep*. 2017; 22 (6): 460–6. DOI: 10.1080/13510002.2017.1311464.
9. Maksimova MY, Ivanov AV, Virus ED, Alexandrin VV, Nikiforova KA, Bulgakova PO, et al. Disturbance of thiol/disulfide aminothiols homeostasis in patients with acute ischemic stroke stroke: Preliminary findings. *Clin Neurol Neurosurg*. 2019; 183: 105393. DOI: 10.1016/j.clineuro.2019.105393.
10. Duman BS, Oztürk M, Yilmazeri S, Hatemi H. Thiols, malonaldehyde and total antioxidant status in the Turkish patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med*. 2003; 201 (3): 147–55. DOI: 10.1620/tjem.201.147.
11. Tessier D, Khalil A, Fülöp T. Effects of an oral glucose challenge on free radicals/antioxidants balance in an older population with type II diabetes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1999; 54 (11): M541–5. DOI: 10.1093/gerona/54.11.m541.
12. Forrester TE, Badaloo V, Bennett FI, Jackson AA. Excessive excretion of 5-oxoproline and decreased levels of blood glutathione in type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr*. 1990; 44 (11): 847–50. PMID: 2086214.
13. Karolczak K, Kubalczyk P, Głowacki R, Pietruszyński R, Watała C. An inverse relationship between plasma glutathione concentration and fasting glycemia in patients with coronary artery disease and concomitant type 2 diabetes: A pilot study. *Adv Clin Exp Med*. 2017; 26 (9): 1359–66. DOI: 10.17219/acem/65441.
14. Lutchmansingh FK, Hsu JW, Bennett FI, Badaloo AV, McFarlane-Anderson N, Gordon-Strachan GM, et al. Glutathione metabolism in type 2 diabetes and its relationship with microvascular complications and glycemia. *PLoS One*. 2018; 13 (6): e0198626. DOI: 10.1371/journal.pone.0198626.
15. Fussner J, Velasco C. Stroke Coordinator Boot Camp. Assessing Stroke — Scores and Scales — American Heart Association. Available from: <https://www.heart.org>.
16. Quinn TJ, Langhorne P, Stott DJ. Barthel index for stroke trials: development, properties, and application. *Stroke*. 2011; 42 (4): 1146–51. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.598540.
17. Harrison JK, McArthur KS, Quinn TJ. Assessment scales in stroke: clinimetric and clinical considerations. *Clin Interv Aging*. 2013; 8: 201–11. DOI: 10.2147/CIA.S32405.
18. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993; 24: 35–41. DOI: 10.1161/01.STR.24.1.35.
19. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2013; 36: S67–S74. PMID: 15618111.
20. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001; 414 (6865): 813–20. DOI: 10.1038/414813a.
21. Nishikawa T, Kukidome D, Sonoda K, Fujisawa K, Matsuhisa T, Motoshima H, et al. Impact of mitochondrial ROS production on diabetic vascular complications. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007; 77 Suppl 1: S41–5. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.01.031.
22. Smith CJ, Lawrence CB, Rodriguez-Grande B, Kovacs KJ, Pradillo JM, Denes A. The immune system in stroke: clinical challenges and their translation to experimental research. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2013; 8 (4): 867–87. DOI: 10.1007/s11481-013-9469-1.
23. Poulsen RC, Knowles HJ, Carr AJ, Hulley PA. Cell differentiation versus cell death: extracellular glucose is a key determinant of cell fate following oxidative stress exposure. *Cell Death Dis*. 2014; 5 (2): e1074. DOI: 10.1038/cddis.2014.52.
24. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000; 321 (7258): 405–12. DOI: 10.1136/bmj.321.7258.405.
25. Bruno A, Liebeskind D, Hao Q, Raychev R; UCLA Stroke Investigators. Diabetes mellitus, acute hyperglycemia, and ischemic stroke. *Curr Treat Options Neurol*. 2010; 12 (6): 492–

503. DOI: 10.1007/s11940-010-0093-6.
26. Venkat P, Chopp M, Chen J. Blood-Brain Barrier Disruption, Vascular Impairment, and Ischemia/Reperfusion Damage in Diabetic Stroke. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6 (6): e005819. DOI: 10.1161/JAHA.117.005819.
27. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002; 348: 93–112. DOI: 10.1016/s0076-6879(02)48630-2.
28. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004; 134 (3): 489–92. DOI: 10.1093/jn/134.3.489.
29. Etemad A, Vasudevan R, Aziz AF, Yusof AK, Khazaei S, Fawzi N, et al. Analysis of selected glutathione S-transferase gene polymorphisms in Malaysian type 2 diabetes mellitus patients with and without cardiovascular disease. *Genet Mol Res.* 2016; 15 (2). DOI: 10.4238/gmr.15025845.

## References

1. Hill MD. Stroke and diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol.* 2014;126:167–74. DOI: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00012-6.
2. Sarwar N, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gobin R, Seshasai SR, Forouhi NG, et al. Markers of dysglycaemia and risk of coronary heart disease in people without diabetes: Reykjavik prospective study and systematic review. *PLoS Med.* 2010; 7 (5): e1000278. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000278.
3. Barth E, Albuszies G, Baumgart K, Matejovic M, Wachter U, Vogt J, et al. Glucose metabolism and catecholamines. *Crit Care Med.* 2007; 35 (9 Suppl): S508–18. DOI: 10.1097/01.CCM.0000278047.06965.20.
4. Zhu B, Pan Y, Jing J, Meng X, Zhao X, Liu L, et al. Stress Hyperglycemia and Outcome of Non-diabetic Patients After Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2019; 10: 1003. DOI: 10.3389/fneur.2019.01003.
5. Tuttolomondo A, Pinto A, Salemi G, Di Raimondo D, Di Sciacca R, Fernandez P, et al. Diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke: differences, subtype distribution and outcome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008; 18 (2): 152–7. DOI: 10.1016/j.numecd.2007.02.003.
6. Zhao H, Han Z, Ji X, Luo Y. Epigenetic regulation of oxidative stress in ischemic stroke. *Aging Dis.* 2016; 2016; 7 (3): 295–306. DOI: 10.14336/AD.2015.1009.
7. Khoshnام SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci.* 2017; 38 (7): 1167–86. DOI: 10.1007/s10072-017-2938-1.
8. Ivanov AV, Alexandrin VV, Paltsyn AA, Nikiforova KA, Virus ED, Luzyanin BP, et al. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. *Redox Rep.* 2017; 22 (6): 460–6. DOI: 10.1080/13510002.2017.1311464.
9. Maksimova MY, Ivanov AV, Virus ED, Alexandrin VV, Nikiforova KA, Bulgakova PO, et al. Disturbance of thiol/disulfide aminothiols homeostasis in patients with acute ischemic stroke stroke: Preliminary findings. *Clin Neurol Neurosurg.* 2019; 183: 105393. DOI: 10.1016/j.clineuro.2019.105393.
10. Duman BS, Ozturk M, Yilmazeri S, Hatemi H. Thiols, malonaldehyde and total antioxidant status in the Turkish patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 2003; 201 (3): 147–55. DOI: 10.1620/tjem.201.147.
11. Tessier D, Khalil A, Fülpö T. Effects of an oral glucose challenge on free radicals/antioxidants balance in an older population with type II diabetes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1999; 54 (11): M541–5. DOI: 10.1093/gerona/54.11.m541.
12. Forrester TE, Badaloo V, Bennett FI, Jackson AA. Excessive excretion of 5-oxoproline and decreased levels of blood glutathione in type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr.* 1990; 44 (11): 847–50. PMID: 2086214.
13. Karolczak K, Kubalczyk P, Głowacki R, Pietruszyński R, Watała C. An inverse relationship between plasma glutathione concentration and fasting glycemia in patients with coronary artery disease and concomitant type 2 diabetes: A pilot study. *Adv Clin Exp Med.* 2017; 26 (9): 1359–66. DOI: 10.17219/acem/65441.
14. Lutchmansingh FK, Hsu JW, Bennett FI, Badaloo AV, McFarlane-Anderson N, Gordon-Strachan GM, et al. Glutathione metabolism in type 2 diabetes and its relationship with microvascular complications and glycemia. *PLoS One.* 2018; 13 (6): e0198626. DOI: 10.1371/journal.pone.0198626.
15. Fussner J, Velasco C. Stroke Coordinator Boot Camp. Assessing Stroke — Scores and Scales — American Heart Association. Available from: <https://www.heart.org>.
16. Quinn TJ, Langhorne P, Stott DJ. Barthel index for stroke trials: development, properties, and application. *Stroke.* 2011; 42 (4): 1146–51. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.598540.
17. Harrison JK, McArthur KS, Quinn TJ. Assessment scales in stroke: clinimetric and clinical considerations. *Clin Interv Aging.* 2013; 8: 201–11. DOI: 10.2147/CIA.S32405.
18. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24: 35–41. DOI: 10.1161/01.STR.24.1.35.
19. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2013; 36: S67–S74. PMID: 15618111.
20. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414 (6865): 813–20. DOI: 10.1038/414813a.
21. Nishikawa T, Kukidome D, Sonoda K, Fujisawa K, Matsuhisa T, Motoshima H, et al. Impact of mitochondrial ROS production on diabetic vascular complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007; 77 Suppl 1: S41–5. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.01.031.
22. Smith CJ, Lawrence CB, Rodriguez-Grande B, Kovacs KJ, Pradillo JM, Denes A. The immune system in stroke: clinical challenges and their translation to experimental research. *J Neuroimmun Pharmacol.* 2013; 8 (4): 867–87. DOI: 10.1007/s11481-013-9469-1.
23. Poulsen RC, Knowles HJ, Carr AJ, Hulley PA. Cell differentiation versus cell death: extracellular glucose is a key determinant of cell fate following oxidative stress exposure. *Cell Death Dis.* 2014; 5 (2): e1074. DOI: 10.1038/cddis.2014.52.
24. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ.* 2000; 321 (7258): 405–12. DOI: 10.1136/bmjj.321.7258.405.
25. Bruno A, Liebeskind D, Hao Q, Raychev R; UCLA Stroke Investigators. Diabetes mellitus, acute hyperglycemia, and ischemic stroke. *Curr Treat Options Neurol.* 2010; 12 (6): 492–503. DOI: 10.1007/s11940-010-0093-6.
26. Venkat P, Chopp M, Chen J. Blood-Brain Barrier Disruption, Vascular Impairment, and Ischemia/Reperfusion Damage in Diabetic Stroke. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6 (6): e005819. DOI: 10.1161/JAHA.117.005819.
27. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002; 348: 93–112. DOI: 10.1016/s0076-6879(02)48630-2.
28. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004; 134 (3): 489–92. DOI: 10.1093/jn/134.3.489.
29. Etemad A, Vasudevan R, Aziz AF, Yusof AK, Khazaei S, Fawzi N, et al. Analysis of selected glutathione S-transferase gene polymorphisms in Malaysian type 2 diabetes mellitus patients with and without cardiovascular disease. *Genet Mol Res.* 2016; 15 (2). DOI: 10.4238/gmr.15025845.

## ВЛИЯНИЕ ТРЕНИРОВОК В ВИРТУАЛЬНОЙ РЕАЛЬНОСТИ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПОСТУРАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПОЖИЛЫХ

А. Е. Хижникова , А. С. Клочков, А. А. Фукс, А. М. Котов-Смоленский, Н. А. Супонева, М. А. Пирадов

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Нарушение равновесия в пожилом возрасте является острой проблемой в современной медицине и часто приводит к серьезным последствиям, снижающим качество жизни. К основным причинам такого нарушения относят замедление скорости реакции и вестибуло-атактический синдром. Для коррекции нарушений равновесия у данной категории больных наибольший интерес представляет технология виртуальной реальности, в частности с комбинированной тренировкой скорости реакции и равновесия. Целью исследования было изучить влияние комбинированных тренировок в виртуальной среде на постуральные и психофизиологические показатели у пожилых пациентов с хронической ишемией головного мозга (ХИГМ). В исследование было включено 24 пациента с диагнозом ХИГМ (медиана возраста составила 66 лет). Все пациенты проходили тренировку в виртуальной реальности. До и после тренировки пациентам проводили психофизиологическое и стабилометрическое тестирование, а также клиническую оценку. Выявлено, что у пациентов значительно улучшается функция равновесия по шкале баланса Берг до 50 [45; 54], после 53 [52; 55] ( $p < 0,05$ ), а также изменяется стратегия поддержания равновесия по результатам стабилометрии, что подтверждено уменьшением коэффициента Ромберга после реабилитации: до 266 [199,5; 478,5], после 221 [149,25; 404] ( $p < 0,05$ ). Среди психофизиологических показателей наиболее значимые изменения наблюдали в улучшении простой слухо-моторной реакции: до 210 [174,25; 245,5], после 180,5 [170,5; 208] ( $p < 0,05$ ). Таким образом, комбинированная тренировка скорости реакции и равновесия в виртуальной среде является эффективным методом реабилитации пациентов пожилого возраста с нарушением функции равновесия.

**Ключевые слова:** нейрореабилитация, виртуальная реальность, постуральные нарушения, время реакции

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента РФ МК-118.2020.7.

 **Для корреспонденции:** Анастасия Евгеньевна Хижникова  
ул. Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367, Россия; nastushkapal@gmail.com

**Статья получена:** 26.10.2021 **Статья принята к печати:** 24.11.2021 **Опубликована онлайн:** 09.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.058

## EFFECTS OF VIRTUAL REALITY EXERGAME ON PSYCHOPHYSIOLOGICAL AND POSTURAL DISORDERS IN ELDERLY PATIENTS

Khizhnikova AE , Klochkov AS, Fuks AA, Kotov-Smolenskiy AM, Suponeva NA, Piradov MA

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Balance impairment at advanced age is a serious medical problem that often has significant implications and affects the quality of the patient's life. Among the underlying causes are overall slowness of motor response and vestibular syndrome. Virtual reality exergames, including reaction and balance training, hold promise for managing balance dysfunction. The aim of this study was to investigate the effects of a combination rehabilitation program containing elements of virtual reality exergame on the postural and psychophysiological parameters of elderly patients with small vascular disease. The study was conducted in 24 patients with small vascular disease (median age: 66 years). All patients underwent a virtual reality rehabilitation program. Psychophysiological, postural and clinical evaluations were performed at baseline and after the program was completed. Balance function measured on the Berg scale improved significantly and was 53 [52; 55] after the training program vs 50 [45; 54] at baseline ( $p < 0,05$ ). The strategy of balance control also changed: the Romberg ratio was 266 [199,5; 478,5] before rehabilitation and 221 [149,25; 404] after the program was completed ( $p < 0,05$ ). The most pronounced changes in the measured psychophysiological parameters occurred in the simple audiometer reaction, which improved from 210 [174,25; 245,5] at baseline to 180,5 [170,5; 208] after rehabilitation ( $p < 0,05$ ). Thus, the combination balance and reaction virtual reality training is an effective rehabilitation method for advanced-age patients with balance impairment.

**Keywords:** neurorehabilitation, virtual reality, balance impairment, reaction time

**Funding:** the study was supported by the Presidential Grant MK-118.2020.7.

 **Correspondence should be addressed:** Anastasia E. Khizhnikova  
Volokolamskoe shosse, 80, Moscow, 125367, Russia; nastushkapal@gmail.com

**Received:** 26.10.2021 **Accepted:** 24.11.2021 **Published online:** 09.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.058

Нарушение двигательной функции и равновесия является главной причиной повышения риска падения в пожилом возрасте. Более трети пожилых людей старше 60 лет имеют нарушения походки. Если в возрасте 60–69 лет распространенность такого расстройства составляет около 10,7%, то в возрасте более 80 лет — уже 61,7%. У трех четвертей пациентов в основе нарушения походки и равновесия лежат причины, связанные с нервной системой [1]. К ведущим неврологическим причинам двигательной дисфункции можно отнести сенсорную атаксию различного генеза, паркинсонизм, повреждения головного мозга, а

также цереброваскулярные заболевания, среди которых наиболее распространена хроническая ишемия головного мозга (ХИГМ) [2]. Наиболее частыми проявлениями ХИГМ принято считать: нарушение походки (до 85% случаев при ХИГМ II ст.); пирамидные нарушения, акинетико-риgidный синдром, снижение координационных способностей (в том числе сохранение равновесия) и др. [3].

Одним из факторов, влияющих на ухудшение функции поддержания равновесия в пожилом возрасте, является снижение скорости реакции на различные внешние стимулы. Пожилые люди хуже адаптируются к

резкому изменению положения тела, для них характерны чрезмерный мышечный ответ и повышенная жесткость суставов, не дающие достаточно эффективной амортизации [4]. При попытке резко изменить позу (поднять стопу) в ответ на визуальный стимул пациенты пожилого возраста демонстрируют замедленную реакцию, чаще при подготовке к шагу ошибочно смещают массу тела, причем временные различия снижаются, если из анализа исключить подготовительный компонент. Соответственно, замедленная реакция связана не только с общим замедлением, но и с неправильной предварительной подготовкой к движению [5]. Помимо увеличения времени реакции, на снижение устойчивости у пожилых людей оказывает влияние увеличение времени торможения. В экспериментальных условиях при серии движений «назад-вперед» пожилые участники продемонстрировали увеличение скорости движения вперед (второго движения) для компенсации общего замедления. Кроме того значительно изменялась стратегия управления движением, что вело к замедлению торможения. Соответственно, попытка адаптации к общей замедленности может приводить к увеличению неустойчивости [6].

Для профилактики и снижения риска падений у пожилых пациентов необходимо проведение реабилитационных мероприятий. Технологический прогресс последних двух десятилетий привнес в рутинную реабилитацию немало высокотехнологичных реабилитационных методов. Многие из них уже обладают существенной доказательной базой: роботизированные технологии, экзоскелетные системы, нейроинтерфейсы, неинвазивные методы стимуляции головного мозга и др. [7–12]. В условиях избыточности технологий особенно важным становится персонифицированный подход к выбору методов реабилитации, оценки эффективности реабилитационных мероприятий, а также разработки предикторов эффективности как при использовании конкретного метода, так и всего процесса в целом [13]. В рамках такого подхода особый интерес представляют методики, позволяющие определять потенциальную эффективность определенного комплекса реабилитационных мероприятий для конкретного пациента. Таким образом, целью настоящего исследования было определить влияние комбинированной тренировки равновесия и скорости реакции на постуральные и психофизиологические показатели.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 24 пациента с диагнозом ХИГМ: 5 мужчин и 19 женщин. Медиана возраста составила 66 лет (61; 72).

Критерии включения в исследование: пациенты мужского и женского пола в возрасте 60–80 лет; диагноз ХИГМ. Критерии исключения: грубое нарушение зрения, не позволяющее различать изображения на экране прибора; выраженные когнитивные нарушения, затрудняющие выполнение инструкций, значение по Монреальской шкале оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment — MoCA) менее 20 баллов; грубая сенсорная или моторная афазия; наличие других заболеваний, приводящих к нарушению статического и динамического равновесия.

Курс реабилитации проводили на системе виртуальной реальности Rehabunculus («Интеллект и Инновации»; Россия) на базе бесконтактного сенсора Kinect (Microsoft; США.).

Продолжительность курса составила 10 дней, по 5 дней в неделю, длительность одной тренировочной сессии — 30 мин. Курс тренировок включал ряд упражнений, направленных на развитие функции поддержания статического и динамического равновесия и скорости реакции, такие как «Дартс», «Перешагивание через планку» для левой и правой ноги, «Уклонение», «Вышибалы», «Футбол» для левой и правой ног, «Пятнашки» [14].

Оценку психофизиологических параметров проводили на УПФТ-1/30 «Психофизиолог» («Медиком МТД»; Россия).

В батарею тестов были включены следующие.

1. *Тест простой зрительно-моторной реакции* (ПЗМР). В ответ на зрительный стимул (загоревшийся светодиодный индикатор на корпусе пульта) необходимо было как можно быстрее нажать рабочей рукой кнопку «да» или «нет».

2. *Тест сложной зрительно-моторной реакции* (СЗМР). В данном тесте от пациента требовалось как можно быстрее нажать одну из кнопок в ответ на аналогичный зрительный стимул (красный — «нет», зеленый — «да»).

3. *Тест простой зрительно-моторной реакции на движение стрелки* (ПЗМР-ДС). В данном тесте от пациента требовалось как можно быстрее нажать рабочей рукой кнопку «да» или «нет» в ответ на начало движения стрелки на «циферблате» модуля психомоторных тестов.

4. *Тест простой слухо-моторной реакции* (ПСМР). Тестирование проводили без наушников, громкий звуковой стимул шел из корпуса прибора, пациенту необходимо было как можно быстрее нажать рабочей рукой кнопку «да» или «нет» в ответ на стимул.

5. *Тест сложной зрительно-моторной реакции на световую комбинацию* (СЗМР-СК). От пациента требовалось как можно быстрее нажать рабочей рукой кнопку «да» или «нет» в ответ на определенную трехцветную комбинацию загоревшихся лампочек на корпусе модуля психомоторных тестов (крайняя левая лампочка зеленая, крайняя правая — красная).

6. *Тест функциональной подвижности нервных процессов* (ФПНП). Тест ФПНП подразумевал нажатие кнопки «да» на красный стимул, «нет» — на зеленый и пропуск желтого стимула быстро мигающей средней лампочки на корпусе модуля психомоторных тестов.

7. *Тест реакции на движущийся объект* (РДО). При выполнении этого теста от пациента требовалось нажать рабочей рукой кнопки «да» или «нет» для остановки движущейся в произвольную сторону стрелки напротив загоревшейся лампочки на «циферблате».

Общая длительность психофизиологического тестирования составляла 30 мин. Перед каждым тестом пациента инструктировали и получали от него вербальное подтверждение понимания требований. Пациент располагал пальцы обеих рук в удобном положении над кнопками прибора. Стимулы подавали неритмично для исключения приспособления.

Для оценки функции статического и динамического равновесия пациентов до и после курса тренировок применяли стабилометрический анализ на комплексе «Стабилан-01-2» (ЗАО ОКБ «РИТМ»; Россия), анализировали по шкале баланса Берг [15].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерии Манна–Уитни (при сравнении независимых выборок), Уилкоксона (при сравнении зависимых выборок), коэффициента корреляции Спирмена, на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ Statistica v. 7.0 (StatSoft; США). Данные

представляли в виде медианы и квартилей (25, 75%) медианы. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Влияние тренировок в виртуальной реальности на функцию равновесия у пожилых пациентов

При анализе изменений по шкале баланса Берг были получены следующие результаты: медиана показателя

Таблица 1. Стабилометрические показатели для тестов Ромберга и устойчивости

Показатель	Определение показателя
Тест Ромберга	
Коэффициент Ромберга (KoefRomb)	Отношение площадей доверительного эллипса в пробе с открытыми глазами к пробе с закрытыми глазами. Применяется для количественного определения степени использования пациентом зрения для контроля баланса в положении стоя
Длина в зависимости от площади (LFS_c)	Отношение длины статокинезиограммы к ее площади с закрытыми глазами. Отражает длину пути за единицу площади
VFY_o	Корреляционная зависимость между положением центра давления в сагиттальной плоскости относительно межлодыжечной линии и скоростью перемещения центра давления с открытыми глазами. Показывает расстояние от экспериментальной кривой регрессии между координатой центра давления в сагиттальной плоскости и вариацией скорости перемещения центра давления
Средняя скорость перемещения центра давления (V_o)	Определяет среднеамплитудное значение скорости перемещения центра давления пациента за время обследования
Индекс скорости (IV_o)	Среднеамплитудное значение скорости перемещения центра давления
Нормированная по времени длина кривой статокинезиограммы по оси Y (LY_o)	Определяет длину пути центра давления относительно оси Y при проведении обследования
Нормированная по времени длина кривой статокинезиограммы по оси X (LX_o)	Определяет длину пути центра давления относительно оси Y при проведении обследования
Качество функции равновесия (KФР_o)	Рассчитывается в виде процентного отношения площади, ограниченной функцией распределения длин векторов скоростей, и константы, равной площади прямоугольника, ограниченного осями координат, горизонтальной асимптотой функции кривой распределения длин скоростей и вертикальной границей. Оценивает, насколько минимальна скорость движения центра давления
Площадь векторограммы (НПВ_o)	Суммарная площадь векторограммы, отнесенная ко времени записи сигнала. Чем больше скорости перемещения центра давления и резче повороты вектора скорости, тем выше данный показатель
Средняя линейная скорость (ЛСС_o)	Среднее значение линейной скорости в процессе исследования
Оценка движения (OD_o)	Отношение длины статокинезиограммы к среднему разбросу, отнесенное ко времени исследования
Коэффициент резкого изменения направления движения вектора (КРИНД_c)	Представляет собой процент резких поворотов вектора скорости центра давления (более 45 градусов) относительно общего количества векторов
Средняя угловая скорость (УСС_c)	Средняя скорость изменения направления векторов скорости движения центра давления
Средняя амплитуда вариации угловой скорости (АВУС_c)	Среднее абсолютное значение изменений угловой скорости в точках локальных пиков
Коэффициент асимметрии угловой скорости (КАУС_c)	Характеризует среднее направление вращения вектора скорости перемещения центра давления
Накопленный угол смещения векторов (НУС_c)	Значение угла поворота вектора за период исследования
Тест устойчивость	
Площадь зоны перемещений (SZone)	Площадь квадрата со сторонами, равными сумме величин отклонений вперед-назад и вправо-влево
Смещение по фронтали (MO)	Смещение центра давления во фронтальной плоскости
Средний разброс отклонения центра давления (R)	Средний радиус отклонения центра давления. Данный показатель определяет средний суммарный разброс колебаний центра давления
Средняя скорость перемещения центра давления (V)	Определяет среднеамплитудное значение скорости перемещения центра давления пациента за время обследования.
Скорость изменения площади статокинезиограммы (SV)	Характеризует среднеамплитудную скорость изменения площади статокинезиограммы
Индекс скорости (IV)	Среднеамплитудное значение скорости перемещения центра давления
Коэффициент асимметрии относительно смещения (фронталь) (KAssM(x))	Определяет, насколько и в какую сторону смещается гистограмма относительно значения независимой величины (середины интервала гистограммы, на который приходится наибольшее количество значений)
Средняя линейная скорость (ЛСС)	Среднее значение линейной скорости в процессе исследования
Накопленный угол смещения векторов (НУС_c)	Значение угла поворота вектора за период исследования

увеличилась на 3 балла ( $p < 0,05$ ) и составила до реабилитации 50 [45; 54] после реабилитации 53 [52; 55] балла. При этом начальный показатель по шкале баланса Берг отрицательно коррелировал с изменением этого же показателя (коэффициент корреляции равен  $-0,823$  при  $p = 0,000005$ ).

Для анализа стабилометрии использовали стандартные показатели с расшифровкой для каждого из них (табл. 1).

При анализе теста Ромберга были получены следующие результаты. После тренировок происходили значимое

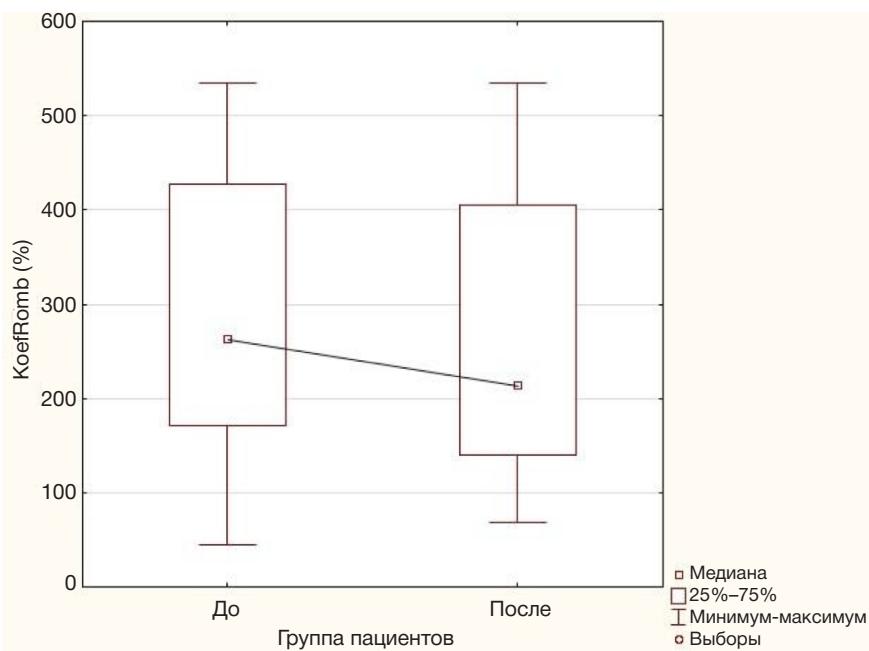


Рис. 1. Изменение коэффициента Ромберга до реабилитации 266 [199,5; 478,5], после реабилитации 221 [149,25; 404] ( $p < 0,05$ )

( $p < 0,05$ ) уменьшение коэффициента Ромберга (KoefRomb) (рис. 1), увеличение показателя длины в зависимости от площади с закрытыми глазами (LFS\_c) и корреляционной зависимости между положением ЦД в сагиттальной плоскости относительно межлодыжечной линии и скоростью перемещения ЦД с открытыми глазами (VFY\_o).

Среди стабилометрических показателей при проведении теста с открытыми глазами было получено значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение средней скорости перемещения центра давления ( $V_o$ ), увеличение индекса скорости ( $IV_o$ ), увеличение нормированной по времени длины кривой статокинезиограммы по оси У ( $LY_o$ ), уменьшение качества функции равновесия (КФР\_o), увеличение нормированной площади векторограммы (НПВ\_o), увеличение средней линейной скорости (ЛСС\_o), особенно в сагиттальной плоскости (ЛСС\_o\_sag), тенденция к увеличению оценки

движения (OD\_o) ( $p = 0,055$ ), увеличению нормированной по времени длины кривой статокинезиограммы по оси X ( $LX_o$ ) ( $p = 0,058$ ).

Среди стабилометрических показателей при проведении теста с закрытыми глазами было получено значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение оценки движения (OD\_c), увеличение комплексного коэффициента (LFS\_c), увеличение коэффициента резкого изменения направления движения вектора (КРИНД\_c), увеличение средней угловой скорости (УСС\_c), увеличение средней амплитуды вариации угловой скорости (АВУС\_c), увеличение коэффициента асимметрии угловой скорости (КАУС\_c), увеличение накапленного угла смещения векторов (НУС\_c).

При анализе теста на устойчивость получено значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение площади зоны перемещений (SZone) (рис. 2), увеличение смещения по фронтали (MO) ( $p < 0,01$ ),

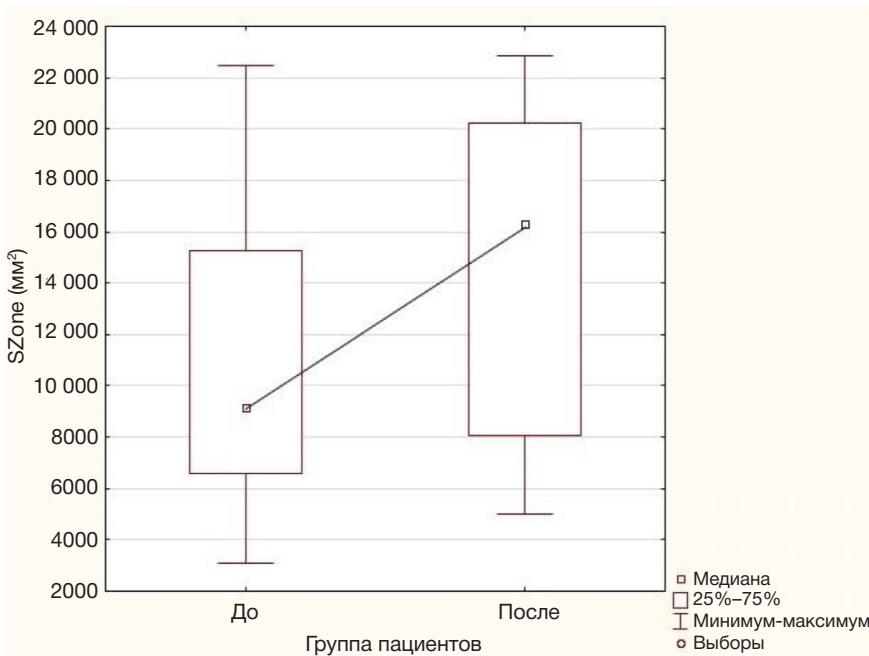


Рис. 2. Изменение площади зоны перемещений до реабилитации 9153 [7251,5; 14805], после реабилитации 16289 [9006,5; 19830] ( $p < 0,05$ )

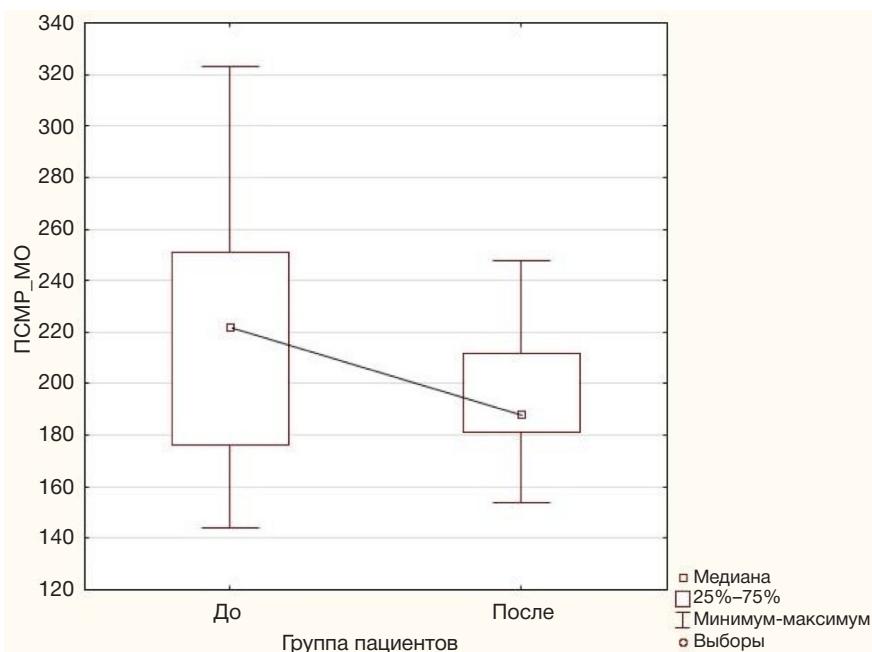


Рис. 3. Изменение среднего времени ПСМР до реабилитации 210 [174,25; 245,5], после реабилитации 180,5 [170,5; 208] ( $p < 0,05$ )

увеличение среднего разброса отклонения центра давления (R), увеличение средней скорости перемещения центра давления (V), увеличение скорости изменения площади статокинезиограммы (SV), увеличение индекса скорости (IV), уменьшение коэффициента асимметрии относительно смещения (фронталь) (KAassM(x)), увеличение средней линейной скорости (ЛСС), увеличение накапленного угла смещения векторов (НУС\_c).

#### Влияние тренировок в виртуальной реальности на психофизиологические показатели у пожилых пациентов

Тестирование простой зрительно-моторной реакции показало тенденцию ( $p = 0,052$ ) к уменьшению среднего времени реакции (ПЗМР\_MO) и тенденцию ( $p = 0,061$ ) к уменьшению среднеквадратичного отклонения времени реакции (ПЗМР\_SD). Статистический анализ показал тенденцию ( $p = 0,069$ ) к увеличению интегрального показателя надежности (ПЗМР\_ИПН) на фоне тренировок.

При тестировании сложной зрительно-моторной реакции выявлено значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение уровня сенсомоторных реакций (СЗМР\_УАЦНС) и оценки уровня сенсомоторных реакций (СЗМР\_P), и увеличение амплитуды моды времени реакции, отражающей процент максимальных значений скорости реакции (СЗМР\_AMODA).

Изменения простой зрительно-моторной реакции на движение стрелки после реабилитации показало тенденцию ( $p = 0,053$ ) к увеличению интегрального показателя надежности (ПЗМРДС\_ИПН).

Наиболее значимые изменения обнаружены в показателях простой слухо-моторной реакции ( $p < 0,05$ ):

увеличился интегральный показатель надежности (ПСМР\_ИПН), уменьшилось среднее время реакции (ПСМР\_MO) (рис. 3), медиана (ПСМР\_Me).

При тестировании реакции на движущийся объект произошли значимое ( $p < 0,01$ ) увеличение числа (РДО\_ЧОР) и процента опережений (РДО\_ПОР), уменьшение числа (РДО\_ЧП) и процента пропусков (РДО\_ППР) (табл. 2).

Тестирования функциональной подвижности нервных процессов и сложной зрительно-моторной реакции на световую комбинацию не выявили значимых изменений на фоне тренировок.

По результатам корреляционного анализа обнаружено, что начальные показатели числа запаздываний РДО и процента запаздываний РДО положительно коррелируют с изменениями КАУС ( $r = 0,53$ ;  $p < 0,05$ ) и НУС ( $r = 0,57$ ;  $p < 0,05$ ) в тесте Ромберга с закрытыми глазами. Изменение коэффициента асимметрии угловой скорости и накопления угловой скорости показывает, что пациентам с изначально худшими показателями реакции на движущийся объект требовалось чаще и в большей степени корректировать положение ЦМ для поддержания равновесия.

Изменение показателя по шкале баланса Берг значимо ( $p < 0,05$ ) коррелировало с начальным интегральным показателем надежности ПСМР (ПСМР\_ИПН), уровнем активации ЦНС (ПСМР\_КАЦНС), оценкой уровня активации ЦНС (ПСМР\_ОУАЦНС), номером квадрата классификации (ПСМР\_НКК), средним временем ПСМР (ПСМР\_MO), уровнем быстродействия (ПСМР\_Убыстр), оценкой быстродействия (ПСМР\_ОБ), средним квадратичным отклонением скорости (ПСМР\_SKO), медианой времени ПСМР (ПСМР\_Me), модой времени ПСМР (ПСМР\_Mo), максимальным временем ПСМР (ПСМР\_MaxB) (табл. 3).

Таблица 2. Результаты тестирования РДО

Показатель	Результаты до	Результаты после	$p$
РДО_ЧОР (шт.)	7,5 [4,75; 9,25]	9 [7,75; 11,25]	0,003
РДО_ПОР (%)	25 [16; 30,75]	30 [26; 37,75]	0,002
РДО_ЧП	2 [1; 5]	1 [0; 2]	0,007
РДО_ППР	7 [3; 17]	3 [0; 7]	0,005

Таблица 3. Корреляция начальных показателей теста ПСМР с изменением по шкале баланса Берг

Показатель	ПСМР_ИПН (%)	ПСМР_КАЦНС	ПСМР_ОУАЦНС (отн.ед.)	ПСМР_НКК
Изменение по шкале Берг	-0,72323	-0,731143	-0,694082	-0,694082
	ПСМР_МО (мс)	ПСМР_Убыстр	ПСМР_ОБ (отн.ед.)	ПСМР_СКО (мс)
Изменение по шкале Берг	0,659752	-0,731143	-0,731143	0,529675
	ПСМР_Ме (мс)	ПСМР_Мо (мс)	ПСМР_MaxB (мс)	
Изменение по шкале Берг	0,662874	0,507568	0,554416	

Примечание: уровень значимости корреляций  $p < 0,05$ .

Наблюдаемые корреляционные связи, вероятно, связаны с тем, что наибольшее изменение по шкале баланса Берг показывали пациенты с худшими начальными показателями равновесия, и эти же пациенты демонстрировали худшее начальное состояние ЦНС по результатам ПСМР.

Корреляционной связи изменений психофизиологических показателей с динамикой изменений равновесия на фоне тренировок по данным теста Ромберга и теста устойчивости выявлено не было.

Изменение показателя по шкале баланса Берг значимо ( $p < 0,05$ ) коррелировало с изменением интегрального показателя надежности ПСМР ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ), изменением среднего времени реакции ( $r = -0,73$ ,  $p < 0,05$ ) и изменением медианы ПСМР ( $r = -0,69$ ;  $p < 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ результатов стабилометрии позволил сделать следующие выводы: по данным изменения коэффициента Ромберга пациенты стали меньше ориентироваться на зрение при поддержании равновесия и начали использовать в качестве основной стратегии поддержания равновесия проприоцептивное чувство. Данные изменения можно объяснить использованием биологической обратной связи в виртуальном пространстве, что требовало от пациентов сопоставления проприоцептивной информации с текущим положением ЦД, отображаемым на экране. Отображение на экране во время тренировок трехмерного аватара с видом от третьего лица не только позволяло использовать в качестве источника обратной связи вид горизонта виртуального пространства, но и способствовало тренировке проприоцептивной чувствительности.

Увеличение плотности статокинезиограммы (LFS\_c) указывает на большую концентрацию положений ЦМ на меньшей площади, что говорит об улучшении функции поддержания равновесия. Изменение значения показателя корреляционной зависимости между положением ЦД в сагиттальной плоскости относительно межлодыжечной линии и скоростью перемещения ЦД (VFY) с отрицательных значений на положительные связано с изменением стратегии поддержания баланса. Положительные значения этого показателя указывают на уменьшение напряженности трехглавой мышцы голени и на смещение ЦД вперед, что соответствует более физиологичной стратегии.

Увеличение скоростных показателей теста Ромберга связано с уменьшением ригидности пациентов и переходом от компенсаторной стратегии поддержания равновесия к более физиологичной по сравнению с состоянием до тренировок. Отказ от компенсаторной стратегии поддержания равновесия являлся необходимой мерой для обеспечения достаточной степени свободы

перемещения ЦМ с целью улучшения устойчивости. Изменения стабилометрических показателей теста на устойчивость указывают на улучшение двигательного контроля после курса тренировок. Пациенты стали значимо легче перемещать ЦД по большей площади и с большей скоростью [16, 17].

Увеличение итогового показателя по шкале баланса Берг говорит об общем улучшении статического и динамического, а также функционального баланса после терапии. Пациенты, изначально имевшие худшие результаты, продемонстрировали наибольшее изменение в процессе тренировок.

Таким образом, десятидневный курс тренировок положительно повлиял на функцию равновесия у пациентов с ХИГМ, что соотносится с данными предыдущих исследований [18–20] и подтверждает предположение об эффективности ВР для тренировки функции равновесия [21].

Результаты психофизиологического тестирования показали, что тренировки в системе ВР ведут к уменьшению среднего времени ПСМР и ПЗМР, а также увеличению интегрального показателя надежности тестирования. Интегральный показатель надежности (ИПН) позволяет в процентном отношении оценить число допущенных ошибок во время каждого ответа. ИПН рассчитывают как среднее коэффициентов надежности (КН1) каждого ответа. При исследовании сложных сенсомоторных реакций не было получено результатов в отношении времени реакции, но было уменьшено число ошибок разного рода и получены данные об улучшении функционального состояния ЦНС. Сложные реакции, рассматриваемые в нашем исследовании, относились к реакциям как распознавания, так и выбора. Не все типы тестов показали достоверные изменения после курсов тренировок: тестирования функциональной подвижности нервных процессов и сложной зрительно-моторной реакции на световую комбинацию не показали значимых изменений результатов. Это, вероятно, связано с тем, что данные тесты были наиболее сложными из всей батареи и требовали значительного вовлечения когнитивных резервов. Увеличение скорости реакции согласуется с литературными данными [22–24], однако мнения расходятся: ряд исследователей получили ухудшение показателей времени реакции [25], другие не отметили влияния тренировок на скорость реакции [26]. Насколько нам известно, ни одна исследовательская группа не анализировала взаимосвязь тренировок в системе ВР с надежностью тестирования, ошибочными реакциями и аналогичными показателями. Вероятно, это обусловлено особенностями прибора, на котором проводили тестирование.

Пациенты, продемонстрировавшие большее улучшение показателя по шкале Берг (т. е. пациенты в изначально

худшем состоянии), показали большее улучшение интегрального показателя надежности ПСМР, средней скорости и медианы ПСМР. Это свидетельствует об эффективности реабилитационной программы как в отношении баланса, так и в отношении когнитивной составляющей, а также демонстрирует некоторую предиктивную силу теста ПСМР. Интегральный показатель надежности и средняя скорость ПСМР позволяют выявить пациентов в худшем начальном состоянии, для которых ВР-реабилитация будет высокоэффективна.

Как известно, поддержание баланса зависит от афферентивной интеграции зрительной, вестибулярной и проприоцептивной систем. Слуховой системе не приписывают подобную вспомогательную роль, несмотря на ее способность обеспечивать пространственные ориентиры с чрезвычайной скоростью и точностью [27]. Тем не менее ряд авторов предполагают, что слуховые стимулы могут играть возрастающую роль, если одна из задействованных систем нарушена [28]. Наличие корреляционной связи изменений скорости слухомоторной реакции и динамики функции равновесия на фоне тренировок может быть обусловлено повышением роли аудиальной афферентации в рамках изменения компенсаторной стратегии.

На данном этапе не было получено однозначных данных о наличии единственного предиктора моторного восстановления, однако как один из возможных вариантов может быть рассмотрен тест ПСМР. Вероятно, отсутствие единого предиктора связано с разнородностью механизмов нарушения равновесия в группе пациентов. Помимо когнитивных нарушений к ухудшению баланса могут вести саркопения, моторные дефициты, проприоцептивные нарушения и др.

Для детализации требуется дальнейшее исследование большего числа пациентов и формирования групп с однородной причиной нарушения равновесия. Большой объем выборки и анализ вестибулярной функции с учетом физиологических особенностей испытуемых позволят

выделить различные паттерны нарушений равновесия и разработать инструмент определения мишени реабилитационного воздействия при тренировках равновесия.

## ВЫВОДЫ

На основании предварительных данных проведенного исследования можно сделать следующие выводы: 1) нарушения равновесия у пожилых пациентов могут быть обусловлены как нарушением процессов активации и ингибиции ЦНС, так и постуральными и двигательными нарушениями; 2) комбинированная тренировка равновесия и скорости реакции в виртуальной среде является эффективным методом реабилитации пожилых пациентов, способствующим развитию как статического, так и динамического равновесия; тренировки способствуют также переходу от компенсаторной стратегии поддержания равновесия к более физиологичной с точки зрения биомеханики; 3) тренировки равновесия и устойчивости с применением технологий виртуальной реальности позволяют улучшить не только навык поддержания равновесия, но и процессы активации ЦНС, в то же время стимулируя пациентов к использованию дополнительных афферентных источников для поддержания равновесия; 4) для пациентов с выраженными нарушениями равновесия, проходящих курс тренировок с обратной связью в виртуальной среде, характерно более значительное увеличение точности и скорости реагирования на зрительный и слуховой стимул. Таким образом, комбинированная тренировка равновесия и скорости реакции в виртуальной среде может стать эффективным методом реабилитации, однако для выявления достоверных психофизиологических и стабилометрических предикторов требуется продолжение исследования с разделением пациентов на группы в зависимости от причины и степени нарушения равновесия.

## Литература

1. Ткачева О. Н. Нарушения походки в пожилом и старческом возрасте: Методические рекомендации. М.: Изд-во Прометей, 2019; 48 с.
2. Mahlknecht P, Kiechl S, Bloem BR, Willeit J, Scherfler C, Gasperi A et al. Prevalence and Burden of Gait Disorders in Elderly Men and Women Aged 60–97 Years: A Population-Based Study. *PLoS ONE*. 2013; 8 (7): 1–7.
3. Антипенко Е. А. Хроническая ишемия головного мозга (клинико-экспериментальное исследование). М., 2015.
4. Sanders O, Hsiao HY, Savin DN, Creath RA, Rogers MW. Aging changes in protective balance and startle responses to sudden drop perturbations. *Journal of neurophysiology*. 2019; 122 (1): 39–50.
5. Verrel J, Lisofsky N, Kühn S, Lindenberger U. Normal aging increases postural preparation errors: Evidence from a two-choice response task with balance constraints. *Gait and Posture*. 2016; 44: 143–148.
6. Kasahara S, Saito H. The effect of aging on termination of voluntary movement while standing: A study on community-dwelling older adults. *Human Movement Science*. 2019; 64 (August 2018): 347–354.
7. Ахмадеева Л. Р., Уразбахтина Ю. О., Камалова К. Р., Шаймухаметова Ф. Х., Ахмадеева Э. Н., Батаев Х. М. и др. Транскринальная магнитная стимуляция в неврологии и нейрореабилитации. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2019; 21 (12): 55–59.
8. Черникова Л. А. Роботизированные системы в нейрореабилитации. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2009; 3 (3): 30–36.
9. Fasoli SE. Rehabilitation technologies to promote upper limb recovery after stroke. Elsevier Ltd., 2016; 510 p.
10. Hatem SM, Saussez G, Della Faille M, Prist V, Zhang X, Dispa D et al. Rehabilitation of motor function after stroke: A multiple systematic review focused on techniques to stimulate upper extremity recovery. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2016; (10): 1–22.
11. Oña ED, Cano-de la Cuerda., Sánchez-Herrera P, Balaguer C, Jardón AA. review of Robotics in Neurorehabilitation: Towards an automated process for upper limb. *Journal of Healthcare Engineering*. 2018; 2018: 1–19.
12. Paolo M, Salvo FDe, Pecchini MC, Sfaldaroli A, Cadri S, Caserio M, et al. Exoskeleton in the neurorehabilitation process: Neuropsychological effects in patients affected by spinal cord injury and stroke. *Digital Medicine*. 2018; 4 (4): 76–85.
13. Donath L, Rössler R, Faude O. Effects of Virtual Reality Training (Exergaming) Compared to Alternative Exercise Training and Passive Control on Standing Balance and Functional Mobility in Healthy Community-Dwelling Seniors: A Meta-Analytical Review. *Sports Medicine*. 2016; 46 (9): 1293–309.
14. Хижникова А. Е., Клочков А. С., Котов-Смоленский А. М., Фукс А. А., Супонева Н. А., Пирацов М. А. Влияние когнитивно-моторных тренировок в виртуальной среде на

- психофизиологические параметры и функцию равновесия в пожилом возрасте. Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2020; 2 (4): 292–302.
15. Супонева Н. А., Юсупова Д. Г., Зимин А. А., Зайцев А. Б., Яцко К. А., Мельченко Д. А. и др. Валидация шкалы баланса Берг в России. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2021; 13 (3): 12–18.
  16. Сафонова Ю. А., Емельянов В. Д. Анализ стабилометрических показателей у людей старше 65 лет. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. 2017; 9 (1): 89–95.
  17. Скворцов Д. В. Стабилометрическое исследование: краткое руководство. М.: Мера-ТСП, 2010; 176 с.
  18. Laatar R, Kachouri H, Borji R, Rebai H, Sahli S. Combined physical-cognitive training enhances postural performances during daily life tasks in older adults. *Experimental Gerontology*. 2018; 107: 91–97.
  19. Lacroix A, Kressig RW, Muehlbauer T, Gschwind YJ, Pfenninger B, Bruegger O, et al. Effects of a supervised versus an unsupervised combined balance and strength training program on balance and muscle power in healthy older adults: A randomized controlled trial. *Gerontology*. 2016; 62 (3): 275–88.
  20. van het Reve E, de Bruin ED. De Strength-balance supplemented with computerized cognitive training to improve dual task gait and divided attention in older adults: A multicenter randomized-controlled trial. *BMC Geriatrics*. 2014; 14 (1): 1–15.
  21. Kamińska MS, Miller A, Rotter I, Szylińska A, Grochans E. The effectiveness of virtual reality training in reducing the risk of falls among elderly people. *Clinical Interventions in Aging*. 2018; 13: 2329–38.
  22. Fu AS, Gao KL, Tung AK, Tsang WW, Kwan MM. Effectiveness of Exergaming Training in Reducing Risk and Incidence of Falls in Frail Older Adults with a History of Falls. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2015; 96 (12): 2096–102.
  23. Gschwind YJ, Schoene D, Lord SR, Ejupi A, Valenzuela T, Aal K, et al. The effect of sensor-based exercise at home on functional performance associated with fall risk in older people - A comparison of two exergame interventions. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2015; 12 (1): 1–9.
  24. Neri SGR, Cardoso JR, Cruz L, Lima RM, de Oliveira RJ, Iversen MD, et al. Do virtual reality games improve mobility skills and balance measurements in community-dwelling older adults? Systematic review and meta-analysis. *Clinical Rehabilitation*. 201; 31 (10): 1292–304.
  25. Gschwind YJ, Eichberg S, Ejupi A, de Rosario H, Kroll M, Marston HR, et al. ICT-based system to predict and prevent falls (iStopFalls): Results from an international multicenter randomized controlled trial. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2015; 12 (1): 1–11.
  26. Bootsma NJM, Skinner TL, Lal R, Glindemann D, Lagasca C, Peeters GMEEG. The relationship between physical activity, and physical performance and psycho-cognitive functioning in older adults living in residential aged care facilities. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2018; 21 (2): 173–8.
  27. Palm HG, Strobel J, Achatz G, von Luebken F, Friemert B. The role and interaction of visual and auditory afferents in postural stability. *Gait Posture*. 2009; 30 (3): 328–33.
  28. Stevens MN, Barbour DL, Gronski MP, Hullar TE. Auditory contributions to maintaining balance. *J Vestib Res*. 2016; 26 (5–6): 433–8.

## References

1. Tkacheva ON. Narushenija pohodki v pozhilom i starcheskom vozraste: Metodicheskie rekomendacii. M.: Izd-vo Prometej, 2019; 48 c.
2. Mahlknecht P, Kiechl S, Bloem BR, Willeit J, Scherfler C, Gasperi A et al. Prevalence and Burden of Gait Disorders in Elderly Men and Women Aged 60–97 Years: A Population-Based Study. *PLoS ONE*. 2013; 8 (7): 1–7.
3. Antipenko EA. Hronicheskaja ishemija golovnogo mozga (kliniko-jeksperimental'noe issledovanie). M., 2015.
4. Sanders O, Hsiao HY, Savin DN, Creath RA, Rogers MW. Aging changes in protective balance and startle responses to sudden drop perturbations. *Journal of neurophysiology*. 2019; 122 (1): 39–50.
5. Verrel J, Lisofsky N, Kühn S, Lindenberger U. Normal aging increases postural preparation errors: Evidence from a two-choice response task with balance constraints. *Gait and Posture*. 2016; 44: 143–148.
6. Kasahara S, Saito H. The effect of aging on termination of voluntary movement while standing: A study on community-dwelling older adults. *Human Movement Science*. 2019; 64 (August 2018): 347–354.
7. Ahmedeeva LR, Urazbahtina YuO, Kamalova KR, Shajmuhametova FH, Ahmedeeva YelN, Bataev HM, i dr. Transkranial'naja magnitnaja stimulacija v nevrologii i nejroreabilitacii. Mediko-farmacevticheskij zhurnal «Pul's». 2019; 21 (12): 55–59.
8. Chernikova LA. Robotizirovannye sistemy v nejroreabilitacii. Annaly klinicheskoj i jeksperimental'noj nevrologii. 2009; 3 (3): 30–36.
9. Fasoli SE. Rehabilitation technologies to promote upper limb recovery after stroke. Elsevier Ltd., 2016; 510 p.
10. Hatem SM, Saussez G, Della Faille M, Prist V, Zhang X, Dispa D et al. Rehabilitation of motor function after stroke: A multiple systematic review focused on techniques to stimulate upper extremity recovery. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2016; (10): 1–22.
11. Oña ED, Cano-de la Cuerda., Sánchez-Herrera P, Balaguer C, Jardón AA. review of Robotics in Neurorehabilitation: Towards an automated process for upper limb. *Journal of Healthcare Engineering*. 2018; 2018: 1–19.
12. Paolo M, Salvo FDe, Peccini MC, Sfaldaroli A, Cadii S, Caserio M, et al. Exoskeleton in the neurorehabilitation process: Neuropsychological effects in patients affected by spinal cord injury and stroke. *Digital Medicine*. 2018; 4 (4): 76–85.
13. Donath L, Rössler R, Faude O. Effects of Virtual Reality Training (Exergaming) Compared to Alternative Exercise Training and Passive Control on Standing Balance and Functional Mobility in Healthy Community-Dwelling Seniors: A Meta-Analytical Review. *Sports Medicine*. 2016; 46 (9): 1293–309.
14. Khizhnikova AE, Klochkov AS, Kotov-Smolenskii AM, Fuks AA, Suponova NA, Piradov MA. The effect of virtual reality based cognitive-motor training on psychophysiological parameters and balance function in the elderly. *Physical and Rehabilitation Medicine* Medical Rehabilitation. 2020; 2 (4): 292–302.
15. Suponova NA, Yusupova DG, Zimin AA, Zaitsev AB, Yatsko KA, Melchenko DA, et al. Validation of a Russian version of the Berg Balance Scale. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2021; 13 (3): 12–18.
16. Safonova YuA, Emelyanov VD. Analiz stabilometricheskikh pokazatelej u ljudej starshe 65 let. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I. I. Mechnikova*. 2017; 9 (1): 89–95.
17. Skvortsov DV. Stabilometricheskoe issledovanie: kratkoe rukovodstvo. M.: Mera-TSP, 2010; 176 c.
18. Laatar R, Kachouri H, Borji R, Rebai H, Sahli S. Combined physical-cognitive training enhances postural performances during daily life tasks in older adults. *Experimental Gerontology*. 2018; 107: 91–97.
19. Lacroix A, Kressig RW, Muehlbauer T, Gschwind YJ, Pfenninger B, Bruegger O, et al. Effects of a supervised versus an unsupervised combined balance and strength training program on balance and muscle power in healthy older adults: A randomized controlled trial. *Gerontology*. 2016; 62 (3): 275–88.
20. van het Reve E, de Bruin ED. De Strength-balance supplemented with computerized cognitive training to improve dual task gait and divided attention in older adults: A multicenter randomized-controlled trial. *BMC Geriatrics*. 2014; 14 (1): 1–15.
21. Kamińska MS, Miller A, Rotter I, Szylińska A, Grochans E. The effectiveness of virtual reality training in reducing the risk of falls

- among elderly people. *Clinical Interventions in Aging*. 2018; 13: 2329–38.
22. Fu AS, Gao KL, Tung AK, Tsang WW, Kwan MM. Effectiveness of Exergaming Training in Reducing Risk and Incidence of Falls in Frail Older Adults with a History of Falls. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2015; 96 (12): 2096–102.
  23. Gschwind YJ, Schoene D, Lord SR, Ejupi A, Valenzuela T, Aal K, et al. The effect of sensor-based exercise at home on functional performance associated with fall risk in older people - A comparison of two exergame interventions. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2015; 12 (1): 1–9.
  24. Neri SGR, Cardoso JR, Cruz L, Lima RM, de Oliveira RJ, Iversen MD, et al. Do virtual reality games improve mobility skills and balance measurements in community-dwelling older adults? Systematic review and meta-analysis. *Clinical Rehabilitation*. 201; 31 (10): 1292–304.
  25. Gschwind YJ, Eichberg S, Ejupi A, de Rosario H, Kroll M, Marston HR, et al. ICT-based system to predict and prevent falls (iStopFalls): Results from an international multicenter randomized controlled trial. *European Review of Aging and Physical Activity*. 2015; 12 (1): 1–11.
  26. Bootsma NJM, Skinner TL, Lal R., Glindemann D, Lagasca C, Peeters GMEEG. The relationship between physical activity, and physical performance and psycho-cognitive functioning in older adults living in residential aged care facilities. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2018; 21 (2): 173–8.
  27. Palm HG, Strobel J, Achatz G, von Luebken F, Friemert B. The role and interaction of visual and auditory afferents in postural stability. *Gait Posture*. 2009; 30 (3): 328–33.
  28. Stevens MN, Barbour DL, Gronski MP, Hullar TE. Auditory contributions to maintaining balance. *J Vestib Res*. 2016; 26 (5–6): 433–8.

## УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЛУЖДАЮЩИХ НЕРВОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

А. О. Чечеткин , А. Н. Москаленко, Е. Ю. Федотова, С. Н. Иллариошкин

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Болезнь Паркинсона (БП) является мультисистемным заболеванием, при котором нейродегенеративные изменения с накоплением  $\alpha$ -синуклеина затрагивают волокна блуждающих нервов (БлН). Целью данной работы было провести ультразвуковое исследование (УЗИ) площади поперечного сечения (ППС) БлН у пациентов с БП. В исследование вошли 32 больных БП (15 мужчин и 17 женщин; средний возраст  $58 \pm 10$  лет) и 32 человека контрольной группы, сопоставимые по полу и возрасту. Всем исследуемым проводили ультразвуковую оценку ППС БлН датчиком высокого разрешения. ППС левого БлН у пациентов с БП была меньше по сравнению с лицами контрольной группы ( $1,78 \pm 0,52$  мм $^2$  против  $2,11 \pm 0,41$  мм $^2$ ;  $p = 0,007$ ), для правого БлН аналогичное различие получено на уровне тенденции. ROC-анализ показал, что пороговая величина ППС для левого БлН менее 2,10 мм $^2$  имеет низкий показатель чувствительности (59%) для диагностики атрофии нерва при БП. ППС правого БлН была достоверно выше, чем левого БлН для пациентов обеих групп ( $p < 0,001$ ). При анализе группы больных БП не выявлено зависимости ППС БлН от возраста, продолжительности и стадии заболевания, количества баллов при оценке по моторной (UPDRS III) и немоторной (NMSQ) шкалам. При этом у пациентов с акинетико-риgidной формой ППС левого БлН была значимо меньше по сравнению с пациентами со смешанной формой БП ( $p < 0,05$ ). Выявлена умеренная обратная корреляция ППС левого БлН с площадью гиперэхогенности черной субстанции с обеих сторон ( $p < 0,04$ ) и на уровне тенденции — для правого БлН. УЗИ пациентов с БП показало атрофические изменения БлН при данном заболевании, а также взаимосвязь ППС БлН с клинической формой БП и ультразвуковыми изменениями черной субстанции головного мозга.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, блуждающий нерв, ультразвук, площадь поперечного сечения

**Вклад авторов:** А. О. Чечеткин — разработка дизайна исследования, сбор ультразвуковых данных, анализ и интерпретация данных, написание рукописи; А. Н. Москаленко — сбор клинических данных, анализ и интерпретация данных; Е. Ю. Федотова, С. Н. Иллариошкин — разработка дизайна исследования, редактирование рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 2-6/20 от 18 марта 2020 г.)

 **Для корреспонденции:** Андрей Олегович Чечеткин  
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367, Россия; andreychechetkin@gmail.com

**Статья получена:** 25.10.2021 **Статья принята к печати:** 11.11.2021 **Опубликована онлайн:** 24.11.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.054

## ULTRASOUND IMAGING OF VAGUS NERVES IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Chechetkin AO , Moskalenko AN, Fedotova EYu, Illarioshkin SN

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative multisystem disorder characterized by pathologic  $\alpha$ -synuclein aggregation affecting, among other things, vagal fibers. The aim of this study was to investigate the cross-sectional area (CSA) of the vagus nerve (VN) in patients with PD using ultrasound imaging. The study was conducted in 32 patients with PD (15 men and 17 women; mean age  $58 \pm 10$  years) and 32 healthy controls comparable with the main group in terms of sex and age. All study participants underwent ultrasound examination of the VN using a high-resolution transducer. Left VN CSA was significantly smaller in patients with PD than in the control group ( $1.78 \pm 0.52$  mm $^2$  vs  $2.11 \pm 0.41$  mm $^2$ ;  $p = 0.007$ ). A similar result was obtained for right VN CSA at the trend level. ROC analysis demonstrated that the threshold CSA value of  $< 2.10$  mm $^2$  for the left VN has low diagnostic sensitivity (59%) for VN atrophy in patients with PD. Right VN CSA was significantly larger than left VN CSA in both groups ( $p < 0.001$ ). The analysis of the PD group did not reveal any associations between VN CSA and age, duration and stage of the disease, motor (UPDRS III) and non-motor (NMSQ) scores. Patients with akinetic-rigid form of PD had smaller left VN CSA than patients with the mixed form of the disease ( $p < 0.05$ ). A moderate inverse correlation was established between left VN CSA and the area of substantia nigra hyperechogenicity on both sides ( $p < 0.04$ ); for the right VN a similar correlation was established at the trend level. High-resolution ultrasound of patients with PD demonstrated atrophy of the VN and the association of VN CSA with the clinical form of the disease and the ultrasound features of the substantia nigra.

**Keywords:** Parkinson's disease, vagus nerve, ultrasound, cross-sectional area.

**Author contribution:** Chechetkin AO — study design, acquisition of ultrasound imaging data, data interpretation, manuscript preparation; Moskalenko AN — clinical data acquisition, analysis and interpretation; Fedotova EYu, Illarioshkin SN — study design, manuscript editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (Protocol No. 2-6/20 dated March 18, 2020)

 **Correspondence should be addressed:** Andrey O. Chechetkin  
Volokolamskoe shosse, 80, Moscow, 125367, Russia; andreychechetkin@gmail.com

**Received:** 25.10.2021 **Accepted:** 11.11.2021 **Published online:** 24.11.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.054

Болезнь Паркинсона (БП) является вторым по распространенности нейродегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера. Число новых случаев во всем мире варьирует от 5 до 35 и более на 100 000 человек в год [1]. При БП вегетативная дисфункция может за много лет предшествовать возникновению основных двигательных симптомов заболевания. В продромальном периоде БП часто присутствует дисфункция желудочно-кишечного тракта и проявляется в виде запоров, гастропареза или тошноты [2].

Существует предположение, что при БП патологический процесс с накоплением белка  $\alpha$ -синуклеина в ЦНС может начаться в нервной системе желудочно-кишечного тракта и распространяться рострокраниально через волокна блуждающего нерва (БлН) [3]. По данным патоморфологических исследований, в дорсальном двигательном ядре БлН потеря нейронов может доходить до 50% [4]. Агрегаты  $\alpha$ -синуклеина выявляются в некоторых ядрах БлН уже на ранних стадиях БП [5]. Характерно, что субдиафрагмальная vagotomия связана с

уменьшением риска последующего развития БП [6, 7]. В моделях на животных  $\alpha$ -синуклеин, полученный из лизата головного мозга людей с БП, а также рекомбинантные формы  $\alpha$ -синуклеина после инъекции в стенку кишечника транспортируются через БлН в ЦНС [8]. Патологический  $\alpha$ -синуклеин был также обнаружен в корешках языкоглоточного и блуждающих нервов, в шейном и глоточном отделах БлН у пациентов с БП [9, 10]. С помощью ПЭТ с  $^{11}\text{C}$ -донепезилом было продемонстрировано снижение плотности ацетилхолинэстеразы желудочно-кишечного тракта у пациентов с БП [11, 12]. Считается, что это отражает парасимпатическую денервацию, в основном происходящую от БлН. Таким образом, точная оценка дегенерации БлН может служить дополнительным инструментом для диагностики БП. Однако до сих пор неизвестно, связан ли нейродегенеративный процесс при БП с измеримой атрофией БлН *in vivo*.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) с использованием высокочастотных датчиков является методом выбора для визуализации периферических и черепных нервов; его наиболее часто используют в диагностике повреждений периферических нервов и при полинейропатиях. Так, атрофия БлН легкой и средней степени была обнаружена при УЗИ у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом и диабетической невропатией [13–15]. При ультразвуковом исследовании БлН у больных с БП площадь поперечного сканирования (ППС) обоих БлН была меньше у пациентов с БП, чем в группе контроля, что подтверждало предположение о текущем атрофическом процессе нервов [16]. В настоящее время идет активное обсуждение вопроса, имеет ли УЗИ высокого разрешения потенциал в качестве метода оценки атрофии БлН как возможного биомаркера БП. Данные литературы по этому вопросу весьма ограничены и противоречивы [4, 16–23].

Целью нашей работы было с помощью УЗИ оценить БлН у пациентов с БП, сопоставить с клинической картиной заболевания и величиной гиперэхогенного сигнала в области черной субстанции ножек среднего мозга.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Характеристика обследуемых пациентов

Научно-исследовательскую работу проводили в Научном центре неврологии с марта 2020 г. по март 2021 г. В исследование вошли 32 пациента с БП (15 мужчин и 17 женщин). Средний возраст больных основной группы составил  $58 \pm 10$  лет. Клинические характеристики больных с БП представлены в табл. 1. Продолжительность заболевания составила от 1 года до 26 лет. Преобладала смешанная (акинетико-риgidно-дрожательная) форма нарушения (78%). Степень выраженности симптоматики определяли по шкале Хен и Яра (Hoehn & Yahr). Оценку

тяжести состояния и двигательных функций проводили с учетом суммы баллов по унифицированной рейтинговой шкале БП (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS), часть III. Немоторные симптомы оценивали с использованием опросника немоторных симптомов БП (Non-motor Symptoms Questionnaire, NMSQ). Сахарный диабет 2-го типа (компенсированный на фоне лечения) имели четверо больных без клинических проявлений полинейропатии. Критериями включения пациентов в работу были: наличие у больного любой формы БП с выраженностю симптоматики по Hoehn & Yahr 1–3 стадии. Критерии исключения: наличие тяжелой формы сахарного диабета и клинических проявлений полинейропатии; отсутствие височных акустических окон для проведения транскраниальной ультразвуковой оценки структур головного мозга.

Группу контроля составили 32 человека, сопоставимые с основной группой по полу (16 мужчин и 16 женщин) и возрасту ( $59 \pm 6$  лет), не имеющие в анамнезе сахарного диабета, нарушения толерантности к глюкозе, неврологических, в том числе нейродегенеративных, заболеваний.

### Ультразвуковое исследование

Ультразвуковое исследование БлН у пациентов обеих групп проводили на приборе iU 22 (Philips; Нидерланды) линейным высокочастотным датчиком L17-5 в поперечной плоскости сканирования. С помощью ручной трассировки определяли площадь поперечного сечения (ППС) внутри гиперэхогенного ободка эпиневрия БлН с двух сторон на уровне дистальной части общей сонной артерии непосредственно проксимальнее бифуркации (рис. 1). Во время обследования прикладывали минимальное давление датчиком, чтобы не допустить сдавления нерва. При необходимости активировали режим цветового допплеровского картирования, чтобы случайно не принять небольшой сосуд в этой гиперваскуляризованной области за БлН. ППС определяли с точностью до  $0,1 \text{ mm}^2$ . Для статистического анализа использовали среднее значение по сумме трех измерений ППС БлН с каждой стороны.

Транскраниальное УЗИ черной субстанции больным с БП выполняли на том же приборе фазированным секторным датчиком S5-1 по общепринятой методике, описанной ранее [24]. Исследование проводили через транстемпоральный доступ (височное ультразвуковое окно) с двух сторон в продольной плоскости сканирования. Получали изображение ножек среднего мозга, которые визуализируются в виде гипоэхогенной структуры, по форме, напоминающей бабочку, окруженную гиперэхогенными базальными цистернами. После этого изображение «замораживали» и увеличивали в 2–3 раза. В случае обнаружения сигнала повышенной эхогенности

Таблица 1. Клиническая характеристика больных с БП

Характеристика заболевания	Больные с БП
Длительность ( $M_e [Q_1; Q_3]$ )	3 [2; 8] года
Форма	Акинетико-риgidная — 7 (22%) смешанная — 25 (78%)
Стадия заболевания по Hoehn & Yahr	1 — 8 (25%) 2 — 10 (31%) 3 — 14 (44%)
Тяжесть состояния по UPDRS-III	$37,0 \pm 16,1$ балла
Тяжесть немоторных симптомов по NMSQ	$8,2 \pm 3,8$ балла

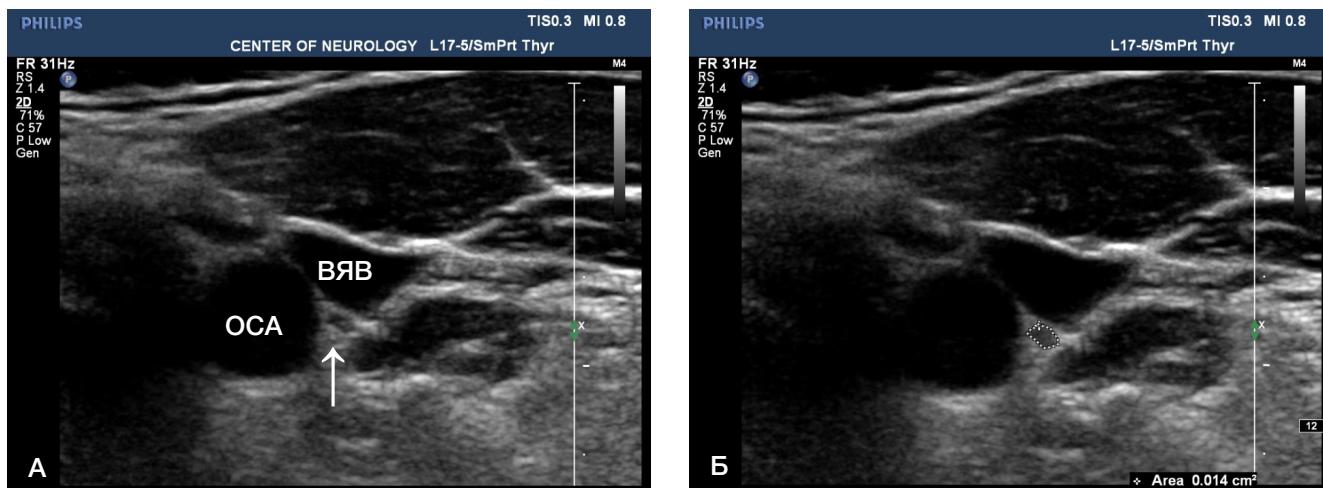


Рис. 1. Ультразвуковое изображение блуждающего нерва (поперечная плоскость сканирования). А. Левый блуждающий нерв (указан белой стрелкой) расположен между общей сонной артерией (ОСА) и внутренней яремной веной (ВЯВ). Б. Это же изображение с трассировкой блуждающего нерва по внутреннему контуру гиперэхогенного эпиневрия. Area (площадь поперечного сечения) = 0,014 см<sup>2</sup> или 1,4 мм<sup>2</sup>

в области анатомического расположения черной субстанции (гиперэхогенность черной субстанции, или ГЧС) эту область обводили вручную курсором с последующим автоматическим расчетом площади (см<sup>2</sup>).

#### Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием программы StatTech v. 2.3.0 («Статтех»; Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывали с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>). Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполняли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполняли с помощью U-критерия Манна–Уитни. Направление и тесноту корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применяли метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определяли по

наивысшему значению индекса Юдена. Статистическая значимость была установлена на уровне *p* < 0,05.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнение размеров БлН с двух сторон в группе больных с БП и лиц контрольной группы показало, что ППС правого БлН была достоверно выше, чем левого БлН в обеих группах (*p* < 0,001) (табл. 2).

В группе больных БП не выявлено статистически значимых различий при сравнении ППС правого БлН с ППС левого БлН в зависимости от пола (*p* = 0,16 и *p* = 0,19 соответственно), хотя отмечена тенденция к уменьшению рассматриваемой величины у женщин для обеих сторон (табл. 2). Для лиц контрольной группы ППС БлН слева у женщин была меньше, чем у мужчин (*p* = 0,03), а для аналогичного показателя правого БлН таких различий не наблюдали (*p* = 0,08) (табл. 2).

Анализ результатов ультразвукового измерения ППС БлН у больных с БП и в контрольной группе (табл. 2) показал, что ППС левого БлН у больных с БП была ниже чем у лиц контрольной группы (*p* = 0,007), в то время как статистически значимых различий для правого БлН получить не удалось (*p* = 0,13), хотя была отмечена тенденция к уменьшению площади нерва в группе БП. У мужчин в группе больных с БП слева ППС БлН была ниже, чем у мужчин группы контроля, в то время как для правого БлН достоверной разницы в величине ППС выявлено не было (*p* = 0,09). У женщин разницы в величине ППС правого и левого БлН не выявлено (*p* = 0,61 и *p* = 0,39 соответственно).

Таблица 2. Показатели ППС блуждающих нервов у больных с БП и лиц контрольной группы

Группа пациентов	ППС правого БлН (мм <sup>2</sup> )	ППС левого БлН (мм <sup>2</sup> )
БП ( <i>n</i> = 32)	2,03 ± 0,50	1,78 ± 0,52 *
мужчины ( <i>n</i> = 15)	2,20 ± 0,44	2,03 ± 0,46 *
женщины ( <i>n</i> = 17)	2,04 ± 0,46	1,87 ± 0,52
Контроль ( <i>n</i> = 32)	2,21 ± 0,39	2,11 ± 0,41
мужчины ( <i>n</i> = 16)	2,33 ± 0,37	2,26 ± 0,37
женщины ( <i>n</i> = 16)	2,09 ± 0,38	1,96 ± 0,39

Примечание: ППС БлН — площадь поперечного сечения блуждающего нерва; БП — болезнь Паркинсона; \* — *p* < 0,05 при сравнении с аналогичным показателем контрольной группы.

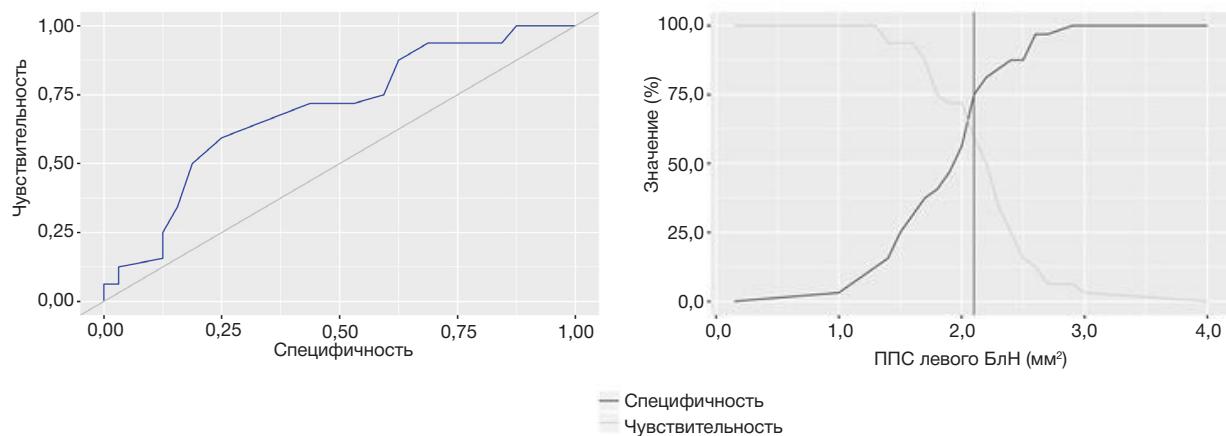


Рис. 2. Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений ППС левого БлН. ППС — площадь поперечного сечения; БлН — буждающий нерв

В связи с выявленными различиями ППС левого БлН между группой БП и контрольной группой мы провели ROC-анализ для выявления порогового значения ППС левого БлН с определением чувствительности и специфичности (рис. 2). Пороговое значение показателя «ППС левого БлН» в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило  $2,10 \text{ mm}^2$  с чувствительностью и специфичностью модели, равными 59,4 и 75,0% соответственно.

При анализе группы больных с БП не выявлено зависимости ППС БлН от возраста, продолжительности и стадии заболевания, количества баллов по моторной (UPDRS-III) и немоторной (NMSQ) шкалам ( $p > 0,05$ ). При анализе группы БП в зависимости от формы заболевания были установлены различия для ППС левого БлН: его величина была меньше при акинетико-риgidной форме ( $p = 0,043$ ), в то время как для ППС правого БлН отмечена лишь тенденция к его снижению ( $p = 0,064$ ) (табл. 3).

При транскраниальном УЗИ ГЧС была выявлена у 27 (84%) пациентов. Площадь гиперэхогенного сигнала с правой стороны составила  $0,23 (0,15; 0,26) \text{ cm}^2$ , с левой стороны —  $0,22 (0,15; 0,27) \text{ cm}^2$ . Анализ взаимосвязи ППС БлН с двух сторон и площади ГЧС с двух сторон показал умеренную обратную корреляционную зависимость ППС левого БлН с величиной площади ГЧС как с левой стороны ( $R = -0,38; p = 0,03$ ), так и с правой стороны ( $R = -0,36; p = 0,04$ ) (рис. 3). Аналогичная взаимосвязь для ППС правого БлН выявлена на уровне тенденции: корреляция для площади ГЧС справа:  $R = -0,352, p = 0,05$ ; слева:  $R = -0,28, p = 0,12$ .

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашем исследовании ППС правого БлН была достоверно больше, чем левого как в группе БП, так и в группе контроля. Эта же закономерность отмечена у мужчин и женщин в обеих группах. Схожие данные были получены в работах, где представлены референтные значения ППС

БлН у здоровых лиц в популяции [25] и практически во всех работах, посвященных ультразвуковой оценке БлН при БП [4, 17–20, 22]. Это соответствует разнице между правым и левым БлН, определяемой при морфологическом исследовании [26]. Правый БлН содержит приблизительно на 20% больше нервных волокон, чем левый [27]. Эта асимметрия, вероятно, может быть обусловлена разной иннервацией непарных органов брюшной полости [28]. Правый БлН преимущественно иннервирует части тонкой кишки, толстой кишки, а также переднее сплетение желудка, левый БлН заканчивается в переднем сплетении желудка с дальнейшими ответвлениями в желудок, печень и верхнюю часть двенадцатиперстной кишки.

Что касается гендерных различий, то в нашем исследовании ППС БлН была меньше у женщин, причем как у больных с БП, так и у здоровых испытуемых ( $p < 0,001$ ). Такие же данные были получены и в самом крупном исследовании [4], в котором УЗИ БлН было проведено 63 больным с БП и 56 лицам контрольной группы. Однако по другим данным, ППС БлН была больше у женщин, чем у мужчин [19].

По нашим результатам, ППС левого БлН у больных БП была ниже, чем у лиц группы сравнения ( $p < 0,05$ ), в то время как достоверных различий для правого БлН получено не было, хотя отмечена тенденция к уменьшению площади нерва в группе БП. Анализ литературы (нами найдено восемь исследований, посвященных ультразвуковой оценке БлН при БП) дает противоречивые данные, несмотря на то, что при обследовании использовались высокочастотные датчики высокого разрешения (частота линейных датчиков от 12 до 19 МГц) (табл. 4). В четырех исследованиях была выявлена значительная атрофия как левого, так и правого БлН у пациентов с БП [16, 19, 20, 23]. Напротив, в других четырех работах сообщалось об отсутствии различий между пациентами с БП и здоровыми лицами в контрольных группах [4, 18, 21, 22]. Однако в работе, где исходно не было найдено различий в ППС БлН между больными БП и контрольной группой [4], при введении поправки на пол

Таблица 3. Зависимость площади БлН от формы заболевания у больных с БП

Показатели	Форма заболевания	
	Акинетико-риgidная форма	Смешанная форма
ППС правого БлН ( $\text{mm}^2$ )	$1,70 \pm 0,47$	$2,13 \pm 0,48$
ППС левого БлН ( $\text{mm}^2$ )	$1,46 \pm 0,35^*$	$1,87 \pm 0,53$

Примечание: \* — различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

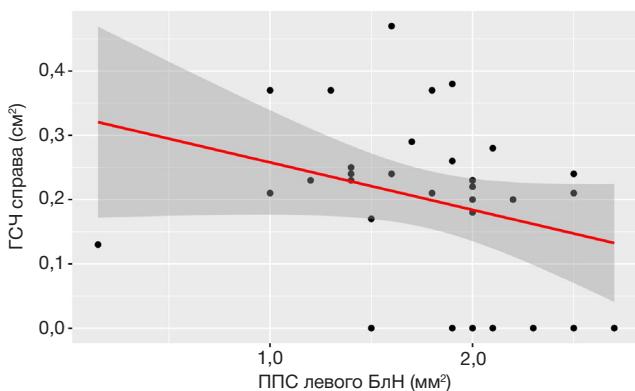
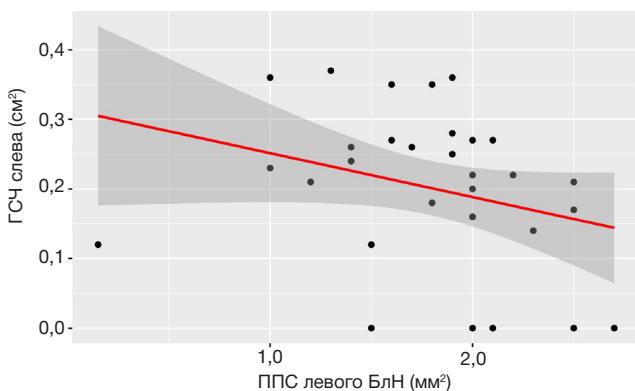


Рис. 3. График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя ППС левого БлН с площадью ГЧС справа (A) и слева (Б). ППС — площадь поперечного сечения; БлН — блуждающий нерв; ГЧС — гиперэхогенность черной субстанции (величина площади)

оказалось, что в группе БП у женщин площадь нерва была значительно меньше для правого БлН ( $p = 0,041$ ), а не для левого. В нашей работе наоборот, только у мужчин в группе БП площадь БлН слева была достоверно ниже, чем у мужчин группы контроля, в то время как для правого БлН достоверной разницы в величине ППС выявлено не было.

Среднее значение ППС БлН в нашей работе было снижено у больных БП примерно на 8% справа и на 15% слева по сравнению с контролем. В других исследованиях, в которых сообщалось о статистически значимом снижении площади БлН, этот разброс колебался в пределах 10–30% [16, 17, 19, 20, 23]. Мы провели ROC-анализ для выявления порогового значения ППС для левого БлН, который, по нашим данным, был достоверно ниже в группе БП. Величина  $< 2,10 \text{ mm}^2$  прогнозируется как показатель, указывающий на признаки атрофии БлН у больных с БП с чувствительностью 59% и специфичностью 75%. На 60 здоровых добровольцах показано, что ППС БлН составила справа  $3,0 \pm 0,7$  ( $1,7$ – $4,3$ )  $\text{mm}^2$  и слева  $2,3 \pm 0,6$  ( $1,1$ – $3,5$ )  $\text{mm}^2$  [25]. Зная, что нормальная величина ППС БлН колеблется от 1 до 4  $\text{mm}^2$ , и учитывая низкую чувствительность данного показателя, мы считаем, что полученная нами пороговая величина не может быть использована в клинической практике для такой небольшой по калибру анатомической структуры. Следует отметить, что в анализируемых нами работах авторы использовали разные уровни для измерения площади нерва, что могло повлиять на результаты в



связи с определенной анатомической вариабельностью толщины нерва на протяжении участка, идущего на шее. Так, одни исследователи проводили измерение на уровне дистального конца общей сонной артерии (как и мы в своей работе) [16, 21], другие — на уровне щитовидного хряща [4, 19], некоторые вообще не указывали уровень измерения [18]. Однако только данное различие в методологии, вероятно, не может полностью объяснить тот факт, что в некоторых исследованиях была обнаружена значительная атрофия БлН у пациентов с БП, тогда как в других этого не наблюдалось. Противоречивость результатов разных работ можно объяснить и тем, что разница в измерении ППС БлН при УЗИ невелика, зависит от технических характеристик прибора, частоты датчика и опыта врача.

В нашем исследовании не получено взаимосвязи с большинством клинических характеристик заболевания. Практически во всех анализируемых нами аналогичных работах не было обнаружено связи между ППС БлН и возрастом пациентов, стадией по Hoehn & Yahr, продолжительностью заболевания, суммой баллов по шкале UPDRS-III, когнитивной оценкой, желудочно-кишечными и другими немоторными симптомами [4, 17, 18, 20–23]. Отсутствие корреляций может быть объяснено прогрессирующей дегенерацией дорсального двигательного ядра БлН уже на ранних клинических стадиях заболевания [29]. Однако есть публикации, указывающие на взаимосвязь калибра БлН с клиническими проявлениями БП. Так, сообщалось, что ППС левого БлН

Таблица 4. Результаты УЗИ по оценке БлН у пациентов с БП

Ссылка на первый источник	Число пациентов БП / контроль	Число мужчин и женщин в группе БП	Частота датчика	УЗИ ППС БлН, ( $\text{mm}^2$ ) БП / контроль		Значимые различия БП с контролем
				Правый БлН	Левый БлН	
[16, 17]	19 / 21	6 / 13	12 МГц	1,58 / 2,35	1,45 / 1,91	да
[18]	32 / 15	20 / 12	15 МГц	2,9 ± 0,7 / 2,7 ± 0,7	2,6 ± 0,7 / 2,4 ± 0,7	нет
[19]	20 / 61	13 / 7	15 МГц	0,64 ± 0,17 / 1,04 ± 0,20	0,69 ± 0,18 / 0,87 ± 0,15	да
[20]	35 / 35	19 / 16	15 МГц	2,1 ± 0,4 / 2,3 ± 0,5	1,5 ± 0,4 / 1,8 ± 0,4	да
[21]	20 / 20	10 / 10	12 МГц	1,17 / 1,13 <sup>#</sup>		нет
[22] *	31 / 51	16 / 15	нет данных	2,54 / 2,24	2,10 / 1,90	нет
[23]	20 / 20	12 / 8	19 МГц	2,37 ± 0,91 / 6,0 ± 1,33	1,87 ± 1,35 / 5,6 ± 1,26	да
[4]	63 / 56	43 / 20	12 МГц	2,23 / 2,37	1,89 / 1,97	нет / да <sup>¥</sup>
Наши данные	32 / 32	14 / 16	17 МГц	2,03 ± 0,50 / 2,21 ± 0,39	1,78 ± 0,52 / 2,11 ± 0,41	да

Примечание: БП — болезнь Паркинсона; УЗИ — ультразвуковое исследование; ППС — площадь поперечного сечения; БлН — блуждающий нерв; \* статья находится в препринте и не рецензирована; <sup>#</sup> — средний диаметр (мм); <sup>¥</sup> — уменьшение ППС правого БлН в группе с БП с поправкой на пол.

коррелировала с тяжестью симптомов по шкале UPDRS-III ( $r = 0,58$ ;  $p = 0,007$ ), в отличие от ППС правого БлН ( $p = 0,53$ ) [19]. Кроме того, ППС правого БлН коррелировало с брадикинезией, оцененной с помощью UPDRS-III ( $r = 0,53$ ;  $p = 0,003$ ) [18]. Свои находки авторы объясняют тем, что подтипы БП с превалирующей брадикинезией, по-видимому, связаны с более широко распространенной патологией телец Леви в ЦНС. Наши данные подтверждают это, поскольку величина калибра нерва была связана с формой заболевания: ППС левого БлН оказалась меньше при акинетико-риgidной форме ( $p = 0,05$ ), в то время как для правого БлН была отмечена только тенденция к его снижению ( $p = 0,06$ ).

Что касается немоторных проявлений БП, то имеется единственное сообщение о значительной обратной корреляции между ППС правого и левого БлН с тяжестью вегетативных симптомов по опроснику немоторных симптомов NMSQ ( $r = -0,46$ ;  $p = 0,003$ ) у больных БП [19]. Кроме того, ППС правого, но не левого БлН прямо коррелировала с парасимпатической областью вариабельности сердечного ритма ( $r = 0,58$ ;  $p = 0,001$ ), в то время как ППС левого БлН коррелировала с тяжестью симптомов по шкале UPDRS-III ( $r = 0,58$ ;  $p = 0,007$ ). Одним из возможных объяснений этого несоответствия результатам других работ является тщательный отбор пациентов в данной работе — в ней были исключены все сопутствующие заболевания, которые могут быть связаны с невропатией БлН.

В нашей работе была изучена взаимосвязь ППС БлН с таким биомаркером БП, как ГЧС в ножках среднего мозга, который оценивали при проведении транскраниального УЗИ. Проведенный анализ показал умеренную обратную корреляцию ППС левого БлН с величиной площади ГЧС с обеих сторон ( $p < 0,04$ ). На уровне тенденции была отмечена аналогичная корреляция для правого БлН. Полученные данные, по-видимому, отражают общий нейродегенеративный процесс, происходящий в БлН и дофаминергических нейронах черной субстанции при БП. Ранее проведенные нами исследования показали, что величина площади ГЧС, так же, как и величина ППС БлН в настоящей работе, не коррелирует ни длительностью, ни с тяжестью заболевания. Такая стабильность маркеров позволяет предполагать, что данные изменения могут иметь место уже на самых ранних стадиях заболевания [23, 30].

## ВЫВОДЫ

УЗИ пациентов с БП показало атрофические изменения БлН при данном заболевании, а также взаимосвязь ППС БлН с клинической формой БП и ультразвуковыми изменениями черной субстанции головного мозга. Однако небольшая чувствительность метода оценки БлН для диагностики случаев БП не позволяет на настоящий момент предлагать ультразвук в качестве диагностического метода в широкой клинической практике, а величина ППС не может быть убедительным маркером поражения БлН.

## Литература

1. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 3 (1): 1–21. DOI: 10.1038/nrdp.2017.13.
2. Klingelhoefer L, Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease—the gutbrain axis and environmental factors. *Nat Rev Neurol.* 2015; 11: 625–36. DOI: 10.1038/nrneurol.2015.197.
3. Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. Parkinson's disease: a dualhit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2007; 33: 599–614. DOI: 10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x.
4. Horsager J, Walter U, Fedorova TD, Andersen KB, Skjærbaek C, Knudsen K, et al. Vagus Nerve Cross-Sectional Area in Patients With Parkinson's Disease-An Ultrasound Case-Control Study. *Front Neurol.* 2021; 12: 681413. DOI: 10.3389/neur.2021.681413.
5. Del Tredici K, Braak H. Review: Sporadic Parkinson's disease: development and distribution of  $\alpha$ -synuclein pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2016; 42: 33–50. DOI: 10.1111/nan.12298.
6. Svensson E, Horváth-Puhó E, Thomsen RW, Djurhuus JC, Pedersen L, Borghammer P, et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2015; 78: 522–29. DOI: 10.1002/ana.24448.
7. Liu B, Fang F, Pedersen NL, Tillander A, Ludvigsson JF, Ekbom A, et al. Vagotomy and Parkinson disease: a Swedish register-based matchedcohort study. *Neurology.* 2017; 88: 1996–2002. DOI: 10.1212/WNL.00000000000003961.
8. Holmqvist S, Chutna O, Bousset L, Aldrin-Kirk P, Li W, Björklund T, et al. Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathol.* 2014; 128: 805–20. DOI: 10.1007/s00401-014-1343-6.
9. Mu L, Sobotka S, Chen J, Su H, Sanders I, Adler C, et al. Alphasynuclein pathology and axonal degeneration of the peripheral motor nerves innervating pharyngeal muscles in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2013; 72; 119–29. DOI: 10.1097/NEN.0b013e3182 801cde.
10. Nakamura K, Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Kakita A, et al.  $\alpha$ -Synuclein pathology in the cranial and spinal nerves in Lewy body disease. *Neuropathology.* 2016; 36: 262–69. DOI: 10.1111/neup.12269.
11. Gjerloff T, Fedorova T, Knudsen K, Munk O, Nahimi A, Jacobsen S, et al. Imaging acetylcholinesterase density in peripheral organs in Parkinson's disease with  $^{11}\text{C}$ -donepezil PET. *Brain.* 2015; 138 (Pt 3): 653–63. DOI: 10.1093/brain/awu369.
12. Fedorova T, Seidelin L, Knudsen K, Schacht A, Geday J, Pavese N, et al. Decreased intestinal acetylcholinesterase in early Parkinson disease: An  $(11)\text{C}$ -donepezil PET study. *Neurology.* 2017. 88: 775–81. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003633.
13. Grimm A, Décard B, Athanasopoulou I, Schweikert K, Sinnreich M, Axer H. Nerve ultrasound for differentiation between amyotrophic lateral sclerosis and multifocal motor neuropathy. *J Neurol.* 2015; 262: 870–80. DOI: 10.1007/s00415-015-7648-0.
14. Hong M, Baek J, Kim D, Ha E, Choi W, Choi Y, et al. Spinal accessory nerve: ultrasound findings and correlations with neck lymph node levels. *Ultraschall Med.* 2016; 37: 487–91. DOI: 10.1055/s-0034-1385673.
15. Tawfik E, Walker F, Cartwright M, El-Hilaly R. Diagnostic ultrasound of the vagus nerve in patients with diabetes. *J Neuroimaging.* 2017; 27: 589–93. DOI: 10.1111/jon.12452.
16. Tsukita K, Taguchi T, Sakamaki-Tsukita H, Tanaka K, Suenaga T. Vagus nerve atrophy in Parkinson's disease detected by ultrasonography. *Journal of the Neurological Sciences.* 2017; 365, 129. DOI: 10.1016/j.jns.2017.08.391.
17. Tsukita K, Taguchi T, Sakamaki-Tsukita H, Tanaka K, Suenaga T. The vagus nerve becomes smaller in patients with Parkinson's disease: a preliminary cross-sectional study using ultrasonography. *Parkinsonism Relat Disord.* 2018; 55: 148–49. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2018.06.002.
18. Fedtke N, Witte O, Prell T. Ultrasonography of the vagus nerve in Parkinson's disease. *Front Neurol.* 2018; 9: 525. DOI: 10.3389/neur.2018.00525.

19. Walter U, Tsiberidou P, Kersten M, Storch A, Lohle M. Atrophy of the vagus nerve in Parkinson's Disease revealed by high-resolution ultrasonography. *Front Neurol.* 2018; 9: 805. DOI: 10.3389/fneur.2018.00805.
20. Pelz J, Belau E, Fricke C, Classen J, Weise D. Axonal degeneration of the vagus nerve in Parkinson's disease-a high-resolution ultrasound study. *Front Neurol.* 2018; 9: 951. DOI: 10.3389/fneur.2018.00951.
21. Laucius O, Balnyte R, Petrikonis K, Matijosaitis V, Juceviciute N, Vanagas T, et al. Ultrasonography of the vagus nerve in the diagnosis of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2020; 2020: 2627471. DOI: 10.1155/2020/2627471.
22. Sijben L, Mess W, Walter U, Janssen A, Kuijf M, Oosterloo M. The cross-sectional area of the vagus nerve is not reduced in Parkinson's Disease patients. *medRxiv [Preprint].* 2020. DOI: 10.1101/2020.10.19.20214973.
23. Sartucci F, Bocci T, Santin M, Bongioanni P, Orlandi G. High-resolution ultrasound changes of the vagus nerve in idiopathic Parkinson's disease (IPD): a possible additional index of disease. *Neurol Sci.* 2021. DOI: 10.1007/s10072-021-05183-5.
24. Fedotova EYu, Chechetkin AO, Shadrina MI, Slominsky PA, Ivanova-Smolenskaya IA, Illarioshkin SN. Transcranial sonography in Parkinson's disease. *Zh Nevrol Psichiatr Im SS Korsakova.* 2011; 1: 49–55.
25. Pelz J, Belau E, Henn P, Hammer N, Classen J, Weise D. Sonographic evaluation of the vagus nerves: protocol, reference values, and side-to-side differences. *Muscle Nerve.* 2018; 57 (5): 766–71. DOI: 10.1002/mus.25993.
26. Verlinden T, Rijkers K, Hoogland G, Herrler A. Morphology of the human cervical vagus nerve: implications for vagus nerve stimulation treatment. *Acta Neurol Scand.* 2016; 133: 173–82. DOI: 10.1111/ane.12462.
27. Hoffman H, Schnitzlein H. The numbers of nerve fibers in the vagus nerve of man. *Anat Rec.* 1961; 139: 429–35. DOI: 10.1002/ar.1091390312.
28. Cheng Z, Powley T, Schwaber J, Doyle F. Projections of the dorsal motor nucleus of the vagus to cardiac ganglia of rat atria: an anterograde tracing study. *J Comp Neurol.* 1999; 410: 320–41.
29. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos R, Steur J, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2003; 24: 197–211. DOI: 10.1016/S0197-4580(02)00065-9.
30. Fedotova EYu, Chechetkin AO, Abramycheva NYu, Chigaleychik LA, Bazyan BKh, Ponomareva TA, et al. Identification of people at the latent stage of Parkinson's disease (the PARKINLAR study): first results and an optimization of the algorithm. *Zh Nevrol Psichiatr Im S S Korsakova.* 2015; 115 (6): 4–11. DOI: 10.17116/jnevro2015115614-11.

## References

1. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 3 (1): 1–21. DOI: 10.1038/nrdp.2017.13.
2. Klingelhoefer L, Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease—the gutbrain axis and environmental factors. *Nat Rev Neurol.* 2015; 11: 625–36. DOI: 10.1038/nrneurol.2015.197.
3. Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H. Parkinson's disease: a dualhit hypothesis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2007; 33: 599–614. DOI: 10.1111/j.1365-2990.2007.00874.x.
4. Horsager J, Walter U, Fedorova TD, Andersen KB, Skjærbaek C, Knudsen K, et al. Vagus Nerve Cross-Sectional Area in Patients With Parkinson's Disease-An Ultrasound Case-Control Study. *Front Neurol.* 2021; 12: 681413. DOI: 10.3389/fneur.2021.681413.
5. Del Tredici K, Braak H. Review: Sporadic Parkinson's disease: development and distribution of  $\alpha$ -synuclein pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2016; 42: 33–50. DOI: 10.1111/nan.12298.
6. Svensson E, Horváth-Puhó E, Thomsen RW, Djurhuus JC, Pedersen L, Borghammer P, et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2015; 78: 522–29. DOI: 10.1002/ana.24448.
7. Liu B, Fang F, Pedersen NL, Tillander A, Ludvigsson JF, Ekbom A, et al. Vagotomy and Parkinson disease: a Swedish register-based matchedcohort study. *Neurology.* 2017; 88: 1996–2002. DOI: 10.1212/WNL.00000000000 003961.
8. Holmqvist S, Chutna O, Bousset L, Aldrin-Kirk P, Li W, Björklund T, et al. Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathol.* 2014; 128: 805–20. DOI: 10.1007/s00401-014-1343-6.
9. Mu L, Sobotka S, Chen J, Su H, Sanders I, Adler C, et al. Alphasynuclein pathology and axonal degeneration of the peripheral motor nerves innervating pharyngeal muscles in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2013; 72: 119–29. DOI: 10.1097/NEN.0b013e3182 801cde.
10. Nakamura K, Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Kakita A, et al.  $\alpha$ -Synuclein pathology in the cranial and spinal nerves in Lewy body disease. *Neuropathology.* 2016; 36: 262–69. DOI: 10.1111/neup.12269.
11. Gjerloff T, Fedorova T, Knudsen K, Munk O, Nahimi A, Jacobsen S, et al. Imaging acetylcholinesterase density in peripheral organs in Parkinson's disease with  $^{11}\text{C}$ -donepezil PET. *Brain.* 2015; 138 (Pt 3): 653–63. DOI: 10.1093/brain/awu369.
12. Fedorova T, Seidelin L, Knudsen K, Schacht A, Geday J, Pavese N, et al. Decreased intestinal acetylcholinesterase in early Parkinson disease: An  $(11)\text{C}$ -donepezil PET study. *Neurology.* 2017; 88: 775–81. DOI: 10.1212/WNL.00000000000 03633.
13. Grimm A, Décard B, Athanasiopoulou I, Schweikert K, Sinnreich M, Axer H. Nerve ultrasound for differentiation between amyotrophic lateral sclerosis and multifocal motor neuropathy. *J Neurol.* 2015; 262: 870–80. DOI: 10.1007/s00415-015-7648-0.
14. Hong M, Baek J, Kim D, Ha E, Choi W, Choi Y, et al. Spinal accessory nerve: ultrasound findings and correlations with neck lymph node levels. *Ultraschall Med.* 2016; 37: 487–91. DOI: 10.1055/s-0034-1385673.
15. Tawfik E, Walker F, Cartwright M, El-Hilaly R. Diagnostic ultrasound of the vagus nerve in patients with diabetes. *J Neuroimaging.* 2017; 27: 589–93. DOI: 10.1111/jon.12452.
16. Tsukita K, Taguchi T, Sakamaki-Tsukita H, Tanaka K, Suenaga T. Vagus nerve atrophy in Parkinson's disease detected by ultrasonography. *Journal of the Neurological Sciences.* 2017; 365, 129. DOI: 10.1016/j.jns.2017.08.391.
17. Tsukita K, Taguchi T, Sakamaki-Tsukita H, Tanaka K, Suenaga T. The vagus nerve becomes smaller in patients with Parkinson's disease: a preliminary cross-sectional study using ultrasonography. *Parkinsonism Relat Disord.* 2018; 55: 148–49. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2018.06.002.
18. Fedtke N, Witte O, Prell T. Ultrasonography of the vagus nerve in Parkinson's disease. *Front Neurol.* 2018; 9: 525. DOI: 10.3389/fneur.2018.00525.
19. Walter U, Tsiberidou P, Kersten M, Storch A, Lohle M. Atrophy of the vagus nerve in Parkinson's Disease revealed by high-resolution ultrasonography. *Front Neurol.* 2018; 9: 805. DOI: 10.3389/fneur.2018.00805.
20. Pelz J, Belau E, Fricke C, Classen J, Weise D. Axonal degeneration of the vagus nerve in Parkinson's disease-a high-resolution ultrasound study. *Front Neurol.* 2018; 9: 951. DOI: 10.3389/fneur.2018.00951.
21. Laucius O, Balnyte R, Petrikonis K, Matijosaitis V, Juceviciute N, Vanagas T, et al. Ultrasonography of the vagus nerve in the diagnosis of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2020; 2020: 2627471. DOI: 10.1155/2020/2627471.
22. Sijben L, Mess W, Walter U, Janssen A, Kuijf M, Oosterloo M. The cross-sectional area of the vagus nerve is not reduced in Parkinson's Disease patients. *medRxiv [Preprint].* 2020. DOI: 10.1101/2020.10.19.20214973.
23. Sartucci F, Bocci T, Santin M, Bongioanni P, Orlandi G. High-resolution ultrasound changes of the vagus nerve in idiopathic

- Parkinson's disease (IPD): a possible additional index of disease. *Neurol Sci.* 2021. DOI: 10.1007/s10072-021-05183-5.
24. Fedotova EYu, Chechetkin AO, Shadrina MI, Slominsky PA, Ivanova-Smolenskaya IA, Illarioshkin SN. Transcranial sonography in Parkinson's disease. *Zh Nevrol Psichiatr Im SS Korsakova.* 2011; 1: 49–55.
  25. Pelz J, Belau E, Henn P, Hammer N, Classen J, Weise D. Sonographic evaluation of the vagus nerves: protocol, reference values, and side-to-side differences. *Muscle Nerve.* 2018; 57 (5): 766–71. DOI: 10.1002/mus.25993.
  26. Verlinden T, Rijkers K, Hoogland G, Herrler A. Morphology of the human cervical vagus nerve: implications for vagus nerve stimulation treatment. *Acta Neurol Scand.* 2016; 133: 173–82. DOI: 10.1111/ane.12462.
  27. Hoffman H, Schnitzlein H. The numbers of nerve fibers in the vagus nerve of man. *Anat Rec.* 1961; 139: 429–35. DOI: 10.1002/ar.1091390312.
  28. Cheng Z, Powley T, Schwaber J, Doyle F. Projections of the dorsal motor nucleus of the vagus to cardiac ganglia of rat atria: an anterograde tracing study. *J Comp Neurol.* 1999; 410: 320–41.
  29. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos R, Steur J, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2003; 24: 197–211. DOI: 10.1016/S0197-4580(02)00065-9.
  30. Fedotova EYu, Chechetkin AO, Abramycsheva NYu, Chigaleychik LA, Bazilyan BKh, Ponomareva TA, et al. Identification of people at the latent stage of Parkinson's disease (the PARKINLAR study): first results and an optimization of the algorithm. *Zh Nevrol Psichiatr Im S S Korsakova.* 2015; 115 (6): 4–11. DOI: 10.17116/jneuro2015115614-11.

## ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА HIS-PHE-ARG-TRP-PRO-GLY-PRO НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

А. О. Ворвуль<sup>1</sup>✉, И. И. Бобынцев<sup>1</sup>, О. А. Медведева<sup>1</sup>, Ю. Э. Азарова<sup>1</sup>, А. Е. Бельых<sup>1</sup>, Л. А. Андреева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

<sup>2</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

Изучение влияния регуляторных пептидов на развитие стресс-индуцированных сдвигов в организме имеет важное фундаментальное и прикладное значение. В настоящее время в медицине используют целый ряд нейротропных препаратов пептидной природы, оказывающих влияние на развитие стрессорной реакции, а также ведут исследование новых перспективных молекул. Целью работы было изучить эффекты синтетического аналога адренокортикотропного гормона (АКТГ) АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5, 50 и 500 мкг/кг на процессы свободнорадикального окисления у крыс Вистар в условиях двухнедельного хронического иммобилизационного стресса (ХИС). Уровни 8-оксо-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG) и супероксиддисмутазы 3 (СОД3) в сыворотке крови оценивали с применением иммуноферментного анализа, а уровни продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), оценивали флуориметрическим методом. ХИС приводил к значимому повышению уровня 8-OHdG на 18,4% ( $p = 0,01$ ) и снижению СОД3 на 14,3% ( $p = 0,01$ ), но не влиял на уровень ТБК-РП. Применение АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5 и 50 мкг/кг значимо снижало содержание 8-OHdG на 19,8% ( $p = 0,03$ ) и 30% ( $p = 0,001$ ) соответственно. Таким образом, установлено, что ХИС приводит к развитию окислительного стресса у животных. Введение АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5 и 50 мкг/кг оказывает ингибирующее влияние на стресс-индуцированные процессы свободнорадикального окисления.

**Ключевые слова:** регуляторные пептиды, His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro, АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro, свободнорадикальное окисление, окислительный стресс, хронический иммобилизационный стресс

**Вклад авторов:** А. О. Ворвуль — выполнение экспериментов, количественная оценка маркеров окислительного стресса, сбор и статистическая обработка данных, написание рукописи; И. И. Бобынцев — концепция и дизайн исследования, написание рукописи; О. А. Медведева — концепция и дизайн исследования; Ю. Э. Азарова — количественная оценка маркеров окислительного стресса; А. Е. Бельых — написание рукописи; Л. А. Андреева — концепция и дизайн исследования, синтез пептида.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (протокол № 3 от 16 ноября 2020 г.). Все эксперименты соответствовали руководящим принципам ARRIVE и были проведены в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза о охране животных, используемых в научных целях.

✉ Для корреспонденции: Антон Олегович Ворвуль  
ул. К. Маркса, д. 3 г. Курск, 305041, Россия; vorvul1996@mail.ru

Статья получена: 28.10.2021 Статья принята к печати: 14.11.2021 Опубликована онлайн: 28.11.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.056

## EFFECTS OF HIS-PHE-ARG-TRP-PRO-GLY-PRO PEPTIDE ON FREE-RADICAL OXIDATION PROCESSES IN CONDITIONS OF CHRONIC RESTRAINT STRESS

Vorvul AO<sup>1</sup>✉, Bobyntsev II<sup>1</sup>, Medvedeva OA<sup>1</sup>, Azarova YuE<sup>1</sup>, Belykh AE<sup>1</sup>, Andreeva LA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kursk State Medical University, Kursk, Russia

<sup>2</sup> Institute of Molecular Genetics, RAS, Moscow, Russia

Studying the effects of regulatory peptides on the stress-induced shifts in the bodily processes is of great fundamental and applied significance. Currently, a wide range of peptide neurotropic drugs, affecting the stress response development, are used in medicine, and new promising molecules are being studied. The study was aimed to assess the effects of the adrenocorticotropic hormone (ACTH) synthetic analog, ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro, administered at a dose of 5, 50 and 500 µg/kg, on the free-radical oxidation processes in Wistar rats, subjected to chronic restraint stress (CRS) during two weeks. Serum levels of 8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and superoxide dismutase 3 (SOD3) were assessed by enzyme immunoassay, and the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were assessed by fluorimetric method. CRS lead to the significant increase in the 8-OHdG levels by 18.4% ( $p = 0.01$ ) and the decrease in the SOD3 levels by 14.3% ( $p = 0.01$ ), however, it had no effect on the levels of TBARS. ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro, administered at a dose of 5 and 50 µg/kg, significantly decreased the levels of 8-OHdG by 19.8% ( $p = 0.03$ ) and 30% ( $p = 0.001$ ), respectively. Thus, it was found that CRS resulted in oxidative stress in animals. ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro administration at a dose of 5 and 50 µg/kg inhibits the stress-induced free-radical oxidation processes.

**Keywords:** regulatory peptides, His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro, ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro, free-radical oxidation, oxidative stress, chronic restraint stress

**Author contribution:** Vorvul AO — performing experiments, quantification of oxidative stress markers, data acquisition and statistical processing, manuscript writing; Bobyntsev II — study concept and design, manuscript writing; Medvedeva OA — study concept and design; Azarova YuE — quantification of oxidative stress markers; Belykh AE — manuscript writing; Andreeva LA — study concept and design, peptide synthesis.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Kursk State Medical University (protocol № 3 dated November 16, 2020). All the experiments were in line with the ARRIVE guidelines and were performed in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes.

✉ Correspondence should be addressed: Антон О. Ворвуль  
Карла Маркса, 3, Курск, 305041, Россия; vorvul1996@mail.ru

Received: 28.10.2021 Accepted: 14.11.2021 Published online: 28.11.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.056

Активация свободнорадикального окисления является одним из основных механизмов повреждения клетки при стрессорном воздействии на организм [1, 2], что обуславливает актуальность поиска эффективных подходов к цитопротекции при стрессе.

Одним из перспективных направлений в решении обозначенной выше проблемы может быть использование пептидных молекул [3, 4]. Преимуществом применения препаратов на основе регуляторных пептидов является отсутствие у них токсичности и аллергенности при

наличии широкого спектра физиологического и фармакологического действия [5]. К числу таких молекул принадлежат регуляторные пептиды из группы N-концевых аналогов адренокортикотропного гормона (АКТГ). Известно, что препарат семакс, действующей субстанцией которого является синтетический пептид АКТГ(4-7)-Pro-Gly-Pro, у стрессированных крыс оказывает корректирующее действие на гистоархитектонику и процессы свободнорадикального окисления в печени, а также на уровень сывороточных трансаминаз [6]. Кроме того, в условиях ишемии мозга семакс оказывает нейропротективное действие за счет повышения уровня экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) [7].

Структурно и функционально родственным семаксу пептидом является His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro (АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro). Последовательность His-Phe-Arg-Trp, соответствующая участку АКТГ(6-9), является активным центром АКТГ, который взаимодействует со всеми типами меланокортиковых рецепторов (MCR), кроме MC2R [8]. При этом присоединение трипептида Pro-Gly-Pro к C-концу этой молекулы повышает ее устойчивость к действию карбоксипептидаз на фоне сохранения нейротропных эффектов. Подобно семаксу, АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro обладает широким спектром нейротропных эффектов, в т. ч. и на моделях со стрессорной нагрузкой, и в сопоставимых дозах способен проявлять более выраженную активность [9].

В связи с этим целью исследования было изучить влияние пептида АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro на процессы свободнорадикального окисления у крыс в условиях хронического иммобилизационного стресса (ХИС).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Животные

В опыте были использованы 55 крыс-самцов Вистар массой 280–300 г. В помещении, где содержали животных, поддерживали температуру воздуха  $22 \pm 2$  °C, влажность  $60 \pm 5\%$  и 12-часовой режим (свет с 8:00 до 20:00). Животные были обеспечены кормом и водой *ad libitum*. Крыс разделили на пять групп по 11 особей в каждой: 1 — интактные животные (введение физиологического раствора (ФР) без стрессирования), 2 — контрольная группа (ХИС + ФР), 3 — ХИС + АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro 5 мкг/кг, 4 — ХИС + АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro 50 мкг/кг, 5 — ХИС + АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro 500 мкг/кг.

### Хронический иммобилизационный стресс

ХИС моделировали путем помещения крыс в тесные прозрачные пластиковые боксы с отверстиями для вентиляции, размер которых подбирали индивидуально под каждое животное. Животных подвергали стрессу в течение 2 ч (с 11:00 до 13:00 ч) на протяжении 14 дней (рис. 1) [10].

### Пептид

В исследовании использовали N-концевой аналог АКТГ, АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro (His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro), синтезированный в Институте молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт» РАН, который растворяли в ФР и вводили внутрибрюшно в дозах 5, 50 и 500 мкг/кг ежедневно за 12–15 мин. до начала каждого стрессорного

воздействия в объеме из расчета 1 мл на 1 кг массы тела. Интактные и контрольные животные ежедневно получали эквивалентные объемы ФР. Использованные в эксперименте дозы пептида и протокол введения были выбраны в соответствии с имеющимися литературными данными об их эффективности [9, 11].

### Получение сыворотки крови

Через 24 ч после заключительного стрессорного воздействия проводили эвтаназию животных путем забора крови из правого желудочка сердца после двусторонней паракоронарной торакотомии под эфирным наркозом с помощью вакуумной системы S-Monovette с прокоагулянтом (SARSTEDT; Германия). Проводили забор 7,0–7,5 мл крови, положение иглы вакуумной системы оценивали визуально. Собранные кровь центрифугировали при 1500 г в течение 15 мин. Полученную сыворотку аликовтировали по 200 мкл в индивидуальные чистые микропробирки и замораживали при  $-20$  °C, затем хранили при  $-80$  °C для дальнейшего исследования. Перед анализом аликовты размораживали при комнатной температуре в течение 4 ч.

### Оценка интенсивности свободнорадикальных процессов и выраженности стресс-реакции

В качестве маркера окислительного повреждения клеточной ДНК был выбран метаболит нуклеиновых кислот 8-оксо-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG), который исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора DNA/RNA Oxidative Damage (High Sensitivity) ELISA Kit (589320, Cayman Chemical; США). Кроме того, определяли концентрацию экстрацеллюлярной супероксиддисмутазы (СОД3) методом ИФА с использованием набора ELISA Kit For Superoxide Dismutase 3, Extracellular (SEA117Ra, Cloud-Clone Corp.; США) и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), флуориметрическим методом с помощью набора TBARS (TCA Method) Assay Kit (700870, Cayman Chemical; США).

Для оценки выраженности стресс-реакции определяли содержание кортикостерона в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием набора Corticosterone ELISA kit (ADI-900-097, Enzo Life Sciences; США).

Все исследования проводили в соответствии с протоколами производителей. Абсорбцию и флуоресценцию регистрировали и анализировали с помощью многофункционального планшетного анализатора Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific; США) и программного обеспечения SkanIt (Thermo Fisher Scientific; США).

### Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием языка программирования R v.4.1.0 [12] в интегрированной среде разработки RStudio Desktop v. 1.4.1717 (RStudio, PBC; США; <https://www.rstudio.com>). Для подтверждения гипотезы о нормальности распределения применяли критерий Шапиро–Уилка, а для подтверждения гипотезы о равенстве дисперсий — критерий Левене. В случае подтверждения гипотезы для сравнения двух групп использовали *t*-критерий Стьюдента с поправкой Уэлча, а для четырех групп — однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с апостериорным тестом Ньюмана–Кейлса. При отклонении применяли

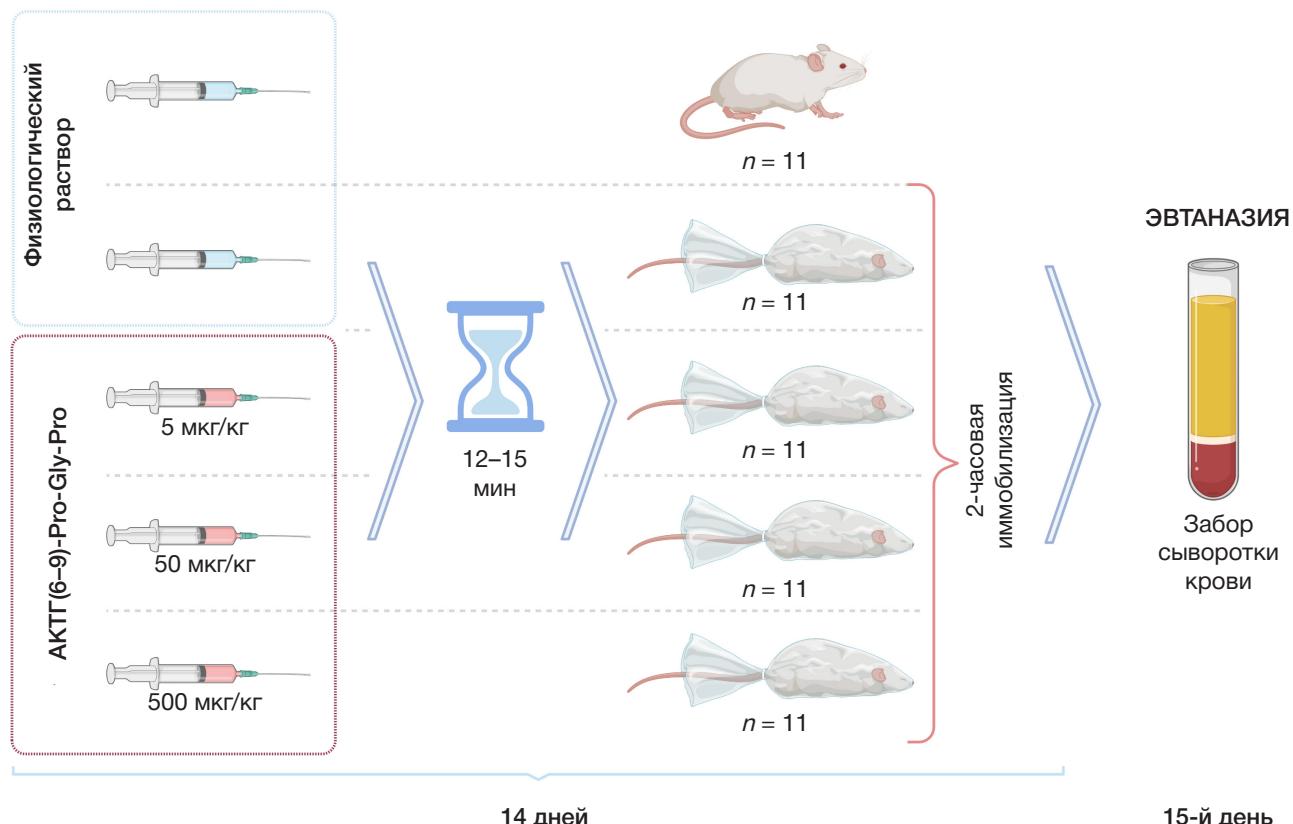


Рис. 1. Дизайн исследования

У-критерий Манна–Уитни для двух групп, а критерий Краскела–Уоллиса с апостериорным тестом Данна — для четырех групп. Для снижения эффекта множественных сравнений использовали поправку Бенжамини–Хохберга. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования установлено, что ХИС приводит к развитию окислительного стресса (рис. 2). Так, на фоне ХИС отмечалось значимое повышение уровня 8-OHdG на 18,4% ( $p = 0,01$ ) на фоне значимого снижения содержания СОД3 на 14,3% ( $p = 0,01$ ). При этом концентрация ТБК-РП не изменялась ( $p = 0,43$ ).

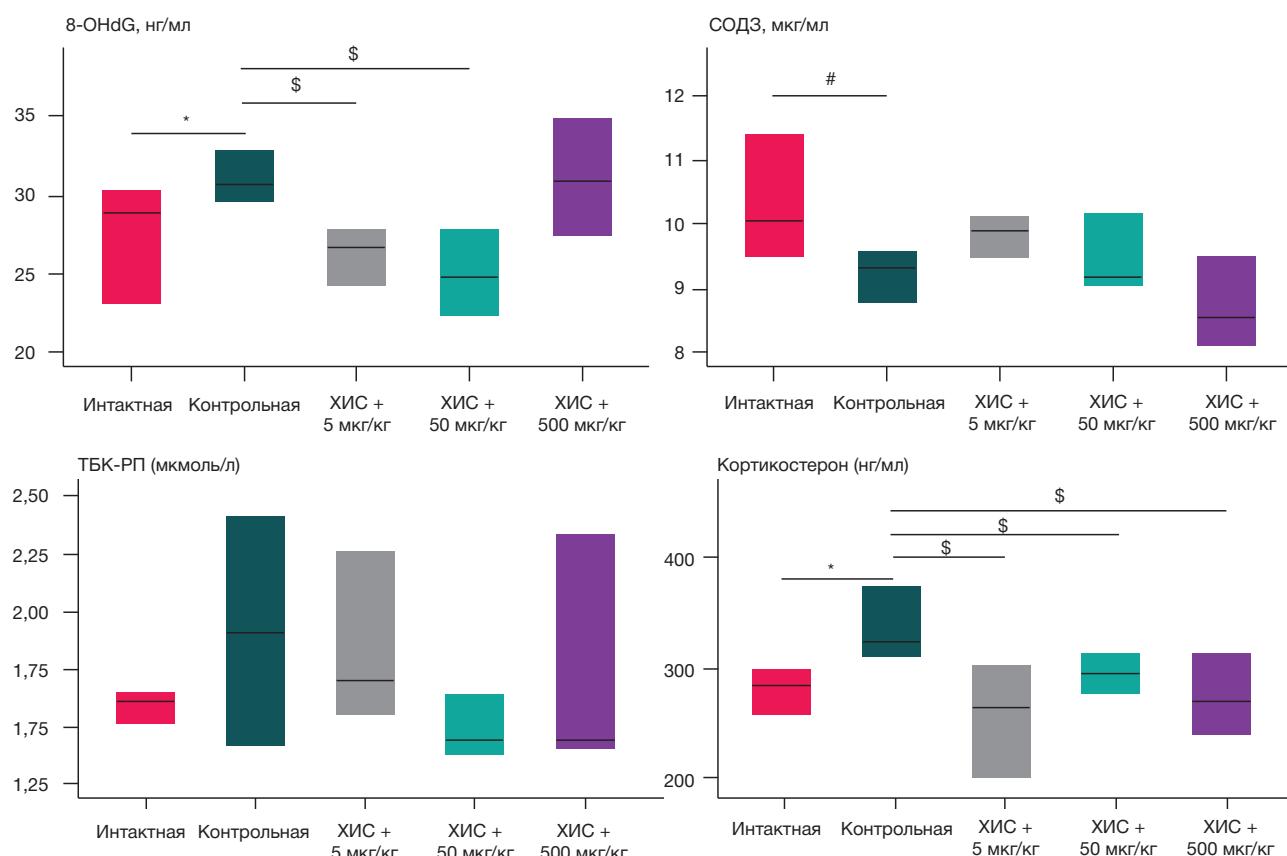
При этом показано, что АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro корректирует вызванный ХИС окислительный стресс. Отмечены достоверные различия уровней 8-OHdG в сыворотке ( $p = 0,0004$ ) между контрольными стрессированными животными и теми, кому вводили пептид. Однако значимые различия уровня СОД3 ( $p = 0,2$ ) не обнаружены.

Апостериорный анализ установил, что при введении АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5 и 50 мкг/кг содержание 8-OHdG в сыворотке крови значимо снижалось на 19,8% ( $p = 0,03$ ) и 30% ( $p = 0,001$ ) соответственно. При этом пептид, вводимый в максимальной дозе 500 мкг/кг, не влиял на уровень 8-OHdG ( $p = 0,72$ ).

На основании полученных данных также установлено, что при моделировании ХИС имело место значимое повышение уровня кортикостерона на 27% ( $p = 0,009$ ). Применение АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro приводило к значимым изменениям уровня гормона ( $p = 0,003$ ). Проведенный апостериорный анализ показал, что АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5, 50 и 500 мкг/кг приводил к значимому снижению содержания кортикостерона на 34,9% ( $p = 0,004$ ), 16,4% ( $p = 0,04$ ) и 28,6% ( $p = 0,01$ ) соответственно.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе настоящего исследования было изучено влияние пептида АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro на процессы свободнорадикального окисления у крыс в условиях ХИС. Выбор маркеров свободнорадикального окисления, использованных в исследовании, связан с их диагностическим и патофизиологическим значением. Так, 8-OHdG является надежным биомаркером генерализованного и клеточного окислительного стресса, выступающим в качестве важного индикатора окислительного повреждения мозга при остром ишемическом инсульте, атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, а также психических расстройств, таких как шизофрения и т. д. [13]. Другим выбранным маркером окислительного стресса является малоновый диальдегид (МДА) — продукт перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот и индикатор опосредованного активными формами кислорода повреждения клеточных мембран, уровня которого измеряют посредством оценки ТБК-РП [14]. СОД является антиоксидантом первой линии, инициирующим активацию процессов защиты от активных форм кислорода [15]. Описаны три изоформы СОД, однако преобладающим антиоксидантным ферментом в сыворотке является внеклеточная СОД3, а ее роль не ограничивается только удалением радикалов, но включает влияние на иммунные реакции и передачу клеточного сигнала [16]. В связи с этим для оценки изменений концентрации СОД3 в условиях ХИС и на фоне введения пептида в качестве надежного и специфичного метода исследования, позволяющего точно идентифицировать именно данную изоформу фермента, использовали ИФА.



**Рис. 2.** Влияние пептида АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro на интенсивность свободнорадикальных процессов и выраженность стресс-реакции в условиях ХИС.  
 \* —  $p < 0,05$ , уровень статистической значимости различий в сравнении с контрольной нестressedированной группой (по  $t$ -критерию Стьюдента с поправкой Уэлча); # —  $p < 0,05$ , уровень статистической значимости различий в сравнении с контрольной группой (по U-критерию Манна–Уитни); \$ —  $p < 0,05$ , уровень статистической значимости различий в сравнении с контрольной stressedированной группой (по one-way ANOVA с апостериорным тестом Ньюмана–Кейлса); полужирная черта — медиана; ящик — межквартильный размах.

В ходе исследования было показано, что ХИС привел к значимому увеличению содержания продуктов свободнорадикального окисления ДНК/РНК в сыворотке экспериментальных животных. Подобные результаты были получены в аналогичной модели хронического стресса на мышах C57BL/6J [17]. Кроме того, ХИС привел к снижению содержания СОД3. Следует отметить, что активация свободнорадикального окисления и снижение концентрации СОД3 происходили на фоне повышенного содержания в крови кортикостерона. Известно, что повышенный уровень кортикостерона сопровождается снижением активности ферментов антиоксидантной системы [18]. Таким образом, использованная в исследовании модель хронического стресса вызывала активацию процессов свободнорадикального окисления.

Было установлено, что ХИС не вызвал достоверных изменений уровня ТБК-РП. При этом в литературе имеются противоречивые данные о содержании этого маркера в сыворотке крови при продолжительном стрессорном воздействии. Так, в ряде исследований хронический стресс вызывал значимое повышение концентрации сывороточных ТБК-РП [19, 20]. Однако отмеченные изменения происходили на фоне хронического непредсказуемого стресса, характеризующегося раздражителями различной силы, в то время как нами была использована модель с монотонным стрессорным воздействием. В то же время имеются работы, в которых уровень сывороточных ТБК-РП в сходных с нашими экспериментальными условиях существенно не изменялся, несмотря на значимое повышение концентрации МДА в органах и тканях [18, 21]. Также важно отметить, что,

несмотря на быстроту и простоту, флуориметрические и спектрофотометрические методы определения ТБК-РП не всегда надежны в гетерогенных системах в силу способности альдегидов, отличных от МДА, генерировать производные, поглощающие свет в том же диапазоне длин волн [14]. В то же время отсутствие значимых сдвигов ТБК-РП в сыворотке крови в условиях хронического стресса также может быть связано с повышением к окончанию эксперимента активности антиоксидантных механизмов, не изученных в нашей работе. Поэтому для более полного выяснения механизмов установленных нами изменений в процессах свободнорадикального окисления необходимо в дальнейшем выполнить определение ряда дополнительных маркеров в сыворотке крови.

АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5 и 50 мкг/кг снизил интенсивность процессов свободнорадикального окисления, что отразилось в значимом снижении уровня 8-OHdG. В связи с этим следует отметить, что имеющий близкие с АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro структурные и функциональные свойства АКТГ(4-7)-Pro-Gly-Pro (семакс) в сопоставимых дозах оказывает цитопротективное действие на нейроны головного мозга в условиях ишемии, в частности, за счет повышения в них экспрессии BDNF [6, 22, 23]. Учитывая, что инсульт сопровождается активацией окислительного стресса [24, 25], установленная нами коррекция процессов свободнорадикального окисления при применении АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro также может иметь определенное значение в цитопротекции.

Кроме того, механизмы цитопротективных эффектов пептида могут быть связаны с модуляцией активности

генов NF-кБ и активацией редокс-чувствительного NRF2-сигнального пути, которые были установлены при исследовании защитного действия АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro на клетки SH-SY5Y в условиях цитотоксичности, вызванной пероксидом водорода [26].

Кроме того, известно, что гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось, которая регулирует выработку и высвобождение кортизола, может увеличивать окислительный стресс за счет модуляции генерации активных форм кислорода и митохондриального кальциевого гомеостаза. При этом уровень кортизола имеет положительную корреляцию с концентрацией 8-OHdG в плазме крови [27]. Учитывая имеющуюся у АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro нейротропную активность [9], можно предположить, что его противострессорные эффекты также могут быть связаны с модуляцией стресс-реакции уже на уровне центральной нервной системы, что подтверждается установленном в настоящем исследовании одновременным снижением уровней кортизола и 8-OHdG.

Различие в эффектах АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в зависимости от введенной дозы, в частности, отсутствие активности в максимальной использованной дозе (500 мкг/кг), характерно для регуляторных пептидов [5, 9]. Так, для меланокортиков показано, что передача сигнала с MCR осуществляется за счет взаимодействия

с аденилаткиназой и активации цАМФ-сигнального пути [28]. Однако пути передачи сигнала могут зависеть от концентрации лиганда и передаваться с включением других систем вторичных мессенджеров, что может отражаться на направленности и выраженности эффектов. Например, сигнал с MC3R может передаваться по фосфоинозитольному пути [29], а с сигналом с MC5R — с участием Jak/STAT [30].

## ВЫВОДЫ

Проведенное исследование показало, что хронический (14-дневный) иммобилизационный стресс приводит к активации процессов свободнорадикального окисления у животных. Введение АКТГ(6-9)-Pro-Gly-Pro в дозах 5 и 50 мкг/кг снижало выраженнуюность стресс-реакции и оказывало ингибирующее влияние на стресс-индукционные процессы свободнорадикального окисления. Результаты настоящей работы и данные других исследований эффектов N-концевых аналогов АКТГ свидетельствуют о необходимости продолжения изучения механизмов их влияния на состояние стресс-индукционного свободнорадикального окисления с использованием комплексной оценки более широкого спектра маркеров про- и антиоксидантных систем.

## Литература

1. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annu Rev Biochem.* 2017; 86: 715–48. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037. PubMed PMID: 28441057.
2. Sies H. Oxidative stress: concept and some practical aspects. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9 (9): 852. DOI: 10.3390/antiox9090852. PubMed PMID: 32927924.
3. Хавинсон В. Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина.* 2020; 98 (3): 165–77. DOI: <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177>.
4. Perlakowska R. Whether short peptides are good candidates for future neuroprotective therapeutics? *Peptides.* 2021; 140: 170528. DOI: 10.1016/j.peptides.2021.170528. PMID: 33716091.
5. Koroleva SV, Myasoedov NF. Semax as a universal drug for therapy and research. *Biol Bull.* 2018; (45): 589–600. DOI: 10.1134/S1062359018060055.
6. Бобынцев И. И., Крюков А. А., Шепелева О. М., Иванов А. В. Влияние пептида АКТГ4-7-ПГП на перекисное окисление липидов в печени крыс и активность сывороточных трансаминаз в условиях иммобилизационного стресса. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2015; 78 (8): 18–21. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2015-78-8-18-21>.
7. Дмитриева В. Г., Дергунова Л. В., Поварова О. В., Скворцова В. И., Лимбурская С. А., Мысоедов Н. Ф. Действие семакса и его С-концевого трипептида PGP на экспрессию генов факторов роста и их рецепторов в условиях экспериментальной ишемии мозга крыс. *Доклады Академии Наук.* 2008; 422 (2): 258–61.
8. Левицкая Н. Г., Каменский А. А. Меланокортиновая система. *Успехи физиологических наук.* 2009; 40 (1): 44–65.
9. Dodonova SA, Bobyntsev II, Belykh AE, Vorvul AO. ACTH6-9-PGP improves memory consolidation processes in rats. *Research Results in Pharmacology.* 2021; 7 (1): 27–32. DOI: 10.3897/rpharmacology.7.62479.
10. Zheng J, Dobner A, Babygirija R, Ludwig K, Takahashi T. Effects of repeated restraint stress on gastric motility in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009; 296 (5): R1358–65. DOI: 10.1152/ajpregu.90928.2008.
11. Mukhina AY, Mishina ES, Bobyntsev II, Medvedeva OA, Svirshcheva MV, Kalutskii PV, et al. Morphological changes in the large intestine of rats subjected to chronic restraint stress and treated with Selank. *Bull Exp Biol Med.* 2020; 169 (2): 281–5. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04868-9>. PubMed PMID: 32651826.
12. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020. Available from: <https://www.R-project.org/>.
13. Liu Z, Cai Y, He J. High serum levels of 8-OHdG are an independent predictor of post-stroke depression in Chinese stroke survivors. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018; 14: 587–96. DOI: 10.2147/NDT.S155144. PubMed PMID: 29497302.
14. Katerji M, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: research applications in the cancer field. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 1279250. DOI: 10.1155/2019/1279250. PubMed PMID: 30992736.
15. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants—superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine.* 2018; 54 (4): 287–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
16. Ściskalska M, Ołdakowska M, Marek G, Milnerowicz H. Changes in the Activity and concentration of superoxide dismutase isoenzymes (Cu/Zn SOD, MnSOD) in the blood of healthy subjects and patients with acute pancreatitis. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9 (10): 948. DOI: 10.3390/antiox9100948. PubMed PMID: 33019780.
17. Yisireyili M, Alimjiang A, Aili A, Li Y, Yisireyili S, Abudureyim K. Chronic restraint stress induces gastric mucosal inflammation with enhanced oxidative stress in a murine model. *Psychol Res Behav Manag.* 2020; 13: 383–93. DOI: 10.2147/PRBM.S250945. PubMed PMID: 32440237.
18. Ranjbar H, Radahmadi M, Reisi P, Alaei H. Effects of electrical lesion of basolateral amygdala nucleus on rat anxiety-like behaviour under acute, sub-chronic, and chronic stresses. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017; 44 (4): 470–9. DOI: 10.1111/1440-1681.12727. PubMed PMID: 28063155.
19. Gokul M, Arun Kumar N, Durgadas Kini R, et al. Evaluation of biomarkers of stress in chronic stress-exposed comorbid

- depression model Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2019; 30 (5). DOI: 10.1515/jbcpp-2018-0215. PubMed PMID: 31469653.
20. Ghalwash M, Elmasry A, Omar NMA. Possible cardioprotective role of NaHS on ECG and oxidative stress markers in an unpredictable chronic mild stress model in rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021; 99 (3): 321–7. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0646. PubMed PMID: 33175584.
21. Городецкая И. В., Кореневская Н. А. Влияние тиреоидных гормонов на изменения перекисного окисления липидов, вызванные острым и хроническим стрессом. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук.* 2010; 1: 78–84.
22. Stavchansky VV, Tvorogova TV, Botsina AY, Skvortsova VI, Limborska SA, Mysoedov NF, Dergunova LV. Effect of semax and its C-terminal peptide PGP on expression of neurotrophins and their receptors in rat brain during incomplete global ischemia. *Mol Biol.* 2011; 45 (6): 941–9. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0026893311050128>.
23. Кулара Е. А., Гаврилова С. А., Буравков С. В., Кошелев В. Б. Динамика экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в коре головного мозга крыс и влияние препарата «Семакс» на его продукцию при моделировании ишемического инсульта. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2013; 12 (3): 39–46. DOI: <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2013-12-3-39-46>.
24. Чугунов А. В., Камчатнов П. В., Михайлова Н. А. Коррекция свободнорадикального окисления — патогенетический подход к лечению острого ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии.* 2009; 10 (2): 65–8.
25. Левинкин В. Д., Ременякина Е. И., Павлюченко И. И., Каде А. Х., Трофименко А. И., Занин С. А. Влияние ТЭС-терапии на показатели системы про/антиоксиданты у крыс с экспериментальным ишемическим инсультом. Современные проблемы науки и образования. 2014; (2): 332.
26. Akimov MG, Fomina-Ageeva EV, Dudina PV, Andreeva LA, Myasoedov NF, Bezuglov VV. ACTH(6-9)PGP peptide protects SH-SY5Y cells from H2O2, tert-butyl hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of prosurvival-related genes. *Molecules.* 2021; 26 (7): 1878. DOI: 10.3390/molecules26071878. PubMed PMID: 33810344.
27. Black CN, Bot M, Révész D, Scheffer PG, Penninx B. The association between three major physiological stress systems and oxidative DNA and lipid damage. *Psychoneuroendocrinology.* 2017; 80: 56–66. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.03.003.
28. Clark AJ, Forfar R, Hussain M, Jerman J, McIver E, Taylor D, Chan L. ACTH antagonists. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2016; (7): 101. DOI: 10.3389/fendo.2016.00101. PubMed PMID: 27547198.
29. Konda Y, Gantz I, DeVelle J, Shimoto Y, Miwa H, Yamada T. Interaction of dual intracellular signaling pathways activated by the melanocortin-3 receptor. *J Biol Chem.* 1994; 269 (18): 13162–6. PubMed PMID: 8175743.
30. Buggy JJ. Binding of alpha-melanocyte-stimulating hormone to its G-protein-coupled receptor on B-lymphocytes activates the Jak/STAT pathway. *Biochem J.* 1998; 331 (Pt 1) (Pt 1): 211–6. DOI: 10.1042/bj3310211. PubMed PMID: 9512481.

## References

1. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annu Rev Biochem.* 2017; 86: 715–48. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037. PubMed PMID: 28441057.
2. Sies H. Oxidative stress: concept and some practical aspects. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9 (9): 852. DOI: 10.3390/antiox9090852. PubMed PMID: 32927924.
3. Khavinson VKh. Peptide medicines: past, present, future. *Klinicheskaya meditsina.* 2020; 98(3): 165–77. DOI: <https://doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177>. Russian.
4. Perlikowska R. Whether short peptides are good candidates for future neuroprotective therapeutics? *Peptides.* 2021; 140: 170528. DOI: 10.1016/j.peptides.2021.170528. PMID: 33716091.
5. Koroleva SV, Myasoedov NF. Semax as a universal drug for therapy and research. *Biol Bull.* 2018; (45): 589–600. DOI: 10.1134/S1062359018060055.
6. Bobyntsev II, Kryukov AA, Shepeleva OM, Ivanov AV. The effect of ACTH-4-7-PGP peptide on lipid peroxidation in liver and activity of serum transaminases in rats under acute and chronic immobilization stress conditions. *Eksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2015; 78 (8): 18–21. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2015-78-8-18-21>. Russian.
7. Dmitriyeva VG, Dergunova LV, Povarova OV, Skvortsova VI, Limborskaya SA, Myasoedov NF. Deystviye semaks na ego S-kontsevogo tripeptida PGP na ekspressiyu genov faktorov rosta i ikh retseptorov v usloviyakh eksperimental'noy ishemii mozga krys. *Doklady Akademii Nauk.* 2008; 422 (2): 258–61. Russian.
8. Levitskaya NG, Kamensky AA. Melanocortin system. Progress in physiological science. 2009; 40 (1): 44–65. Russian.
9. Dodonova SA, Bobyntsev II, Belykh AE, Vorvul AO. ACTH6-9-PGP improves memory consolidation processes in rats. *Research Results in Pharmacology.* 2021; 7 (1): 27–32. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.62479.
10. Zheng J, Dobner A, Babygirija R, Ludwig K, Takahashi T. Effects of repeated restraint stress on gastric motility in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009; 296 (5): R1358–65. DOI: 10.1152/ajpregu.90928.2009.
11. Mukhina AY, Mishina ES, Bobyntsev II, Medvedeva OA, Svishcheva MV, Kalutskii PV, et al. Morphological changes in the large intestine of rats subjected to chronic restraint stress and treated with Selank. *Bull Exp Biol Med.* 2020; 169 (2): 281–5. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04868-9>. PubMed PMID: 32651826.
12. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020. Available from: <https://www.R-project.org/>.
13. Liu Z, Cai Y, He J. High serum levels of 8-OHDG are an independent predictor of post-stroke depression in Chinese stroke survivors. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018; 14: 587–96. DOI: 10.2147/NDT.S155144. PubMed PMID: 29497302.
14. Katerji M, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: research applications in the cancer field. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 1279250. DOI: 10.1155/2019/1279250. PubMed PMID: 30992736.
15. Igbedaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine.* 2018; 54 (4): 287–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
16. Ściskalska M, Ołdakowska M, Marek G, Milnerowicz H. Changes in the Activity and concentration of superoxide dismutase isoenzymes (Cu/Zn SOD, MnSOD) in the blood of healthy subjects and patients with acute pancreatitis. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9 (10): 948. DOI: 10.3390/antiox9100948. PubMed PMID: 33019780.
17. Yisireyili M, Alimujiang A, Aili A, Li Y, Yisireyili S, Abudureyimu K. Chronic restraint stress induces gastric mucosal inflammation with enhanced oxidative stress in a murine model. *Psychol Res Behav Manag.* 2020; 13: 383–93. DOI: 10.2147/PRBM.S250945. PubMed PMID: 32440237.
18. Ranjbar H, Radahmadi M, Reisi P, Alaei H. Effects of electrical lesion of basolateral amygdala nucleus on rat anxiety-like behaviour under acute, sub-chronic, and chronic stresses. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017; 44 (4): 470–9. DOI: 10.1111/1440-1681.12727. PubMed PMID: 28063155.
19. Gokul M, Arun Kumar N, Durgadas Kini R, et al. Evaluation of biomarkers of stress in chronic stress-exposed comorbid depression model Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2019; 30 (5). DOI: 10.1515/jbcpp-2018-0215. PubMed PMID: 31469653.
20. Ghalwash M, Elmasry A, Omar NMA. Possible cardioprotective role

- of NaHS on ECG and oxidative stress markers in an unpredictable chronic mild stress model in rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021; 99 (3): 321–7. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0646. PubMed PMID: 33175584.
21. Gorodetskaya IV, Korenevskaya NA Thyroid hormones influence on lipid peroxidation changes due to the acute and chronic stress. *Izvestiya Natsional'noy akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk.* 2010; 1: 78–84. Russian.
22. Stavchansky VV, Tvorogova TV, Botsina AY, Skvortsova VI, Limborska SA, Mysoevod NF, Dergunova LV. Effect of semax and its C-terminal peptide PGP on expression of neurotrophins and their receptors in rat brain during incomplete global ischemia. *Mol Biol.* 2011; 45 (6): 941–9. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0026893311050128>.
23. Kulaga EA, Gavrilova SA, Buravkov SV, Koshelev VB. Dynamics of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in the rats cerebral cortex and the effect of the drug "Semax" for BDNF production after ischemic stroke. Regional blood circulation and microcirculation. 2013; 12 (3): 39–46. DOI: <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2013-12-3-39-46>. Russian.
24. Chugunov AV, Kamchatnov PV, Mikhailova NA. Correction of free-radical oxidation as a pathogenetic approach to the treatment of acute ischemic stroke. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii.* 2009; 10 (2): 65–8. Russian.
25. Levichkin VD, Remenyakina EI, Pavlyuchenko II, Kade AKh, Trofimienko AI, Zanin SA. Influence of TES-therapy on indicators of system of pro/antioksidanty at rats with the experimental ischemic stroke. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya.* 2014; (2): 332. Russian.
26. Akimov MG, Formina-Ageeva EV, Dudina PV, Andreeva LA, Myasoyedov NF, Bezuglov VV. ACTH(6-9)PGP peptide protects SH-SY5Y cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tert-butyl hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of prosurvival-related genes. *Molecules.* 2021; 26 (7): 1878. DOI: 10.3390/molecules26071878. PubMed PMID: 33810344.
27. Black CN, Bot M, Révész D, Scheffer PG, Penninx B. The association between three major physiological stress systems and oxidative DNA and lipid damage. *Psychoneuroendocrinology.* 2017; 80: 56–66. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.03.003.
28. Clark AJ, Forfar R, Hussain M, Jerman J, McIver E, Taylor D, Chan L. ACTH antagonists. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2016; (7): 101. DOI: 10.3389/fendo.2016.00101. PubMed PMID: 27547198.
29. Konda Y, Gantz I, DelValle J, Shimoto Y, Miwa H, Yamada T. Interaction of dual intracellular signaling pathways activated by the melanocortin-3 receptor. *J Biol Chem.* 1994; 269 (18): 13162–6. PubMed PMID: 8175743.
30. Buggy JJ. Binding of alpha-melanocyte-stimulating hormone to its G-protein-coupled receptor on B-lymphocytes activates the Jak/STAT pathway. *Biochem J.* 1998; 331 (Pt 1) (Pt 1): 211–6. DOI: 10.1042/bj3310211. PubMed PMID: 9512481.

## НОВЫЙ ВИРУЛЕНТНЫЙ БАКТЕРИОФАГ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* KPPK108.1, ИНФИЦИРУЮЩИЙ ШТАММЫ СЕРОТИПА K108

П. В. Евсеев<sup>1</sup>, М. М. Шнейдер<sup>1</sup>✉, Ю. В. Михайлова<sup>2</sup>, А. А. Шеленков<sup>2</sup>, Ю. Г. Янушевич<sup>3</sup>, М. Г. Карлова<sup>4</sup>, А. В. Моисеенко<sup>4</sup>, О. С. Соколова<sup>4</sup>, Д. А. Шагин<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>4</sup> Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Мультирезистентные штаммы *Klebsiella pneumoniae* являются одной из самых серьезных причин внутрибольничных инфекций, вызванных бактериями, устойчивыми к антибиотикам. Существуют различные варианты борьбы с этой угрозой, один из них — клиническое использование бактериофагов. Целью работы было выделить и детально охарактеризовать вирулентный бактериофаг, имеющий потенциал для терапевтического применения. Использовали стандартные методы фаговой биологии, биоинформатики, включая современные способы предсказания белковых структур (программа AlphaFold), электронную микроскопию. Из образцов сточных вод был выделен вирулентный подовирус KPPK108.1, относящийся к роду *Drulivirus*, специфично инфицирующий штаммы *K. pneumoniae*, имеющие капсулярный полисахарид типа KL108, определена последовательность его генома, исследованы его биологические свойства и дана генетическая характеристика.

**Ключевые слова:** бактериофаг, *Klebsiella pneumoniae*, капсулярный полисахарид, деполимераза

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (ЕГИСУ НИОКР № 121052800048-3).

**Благодарности:** авторы благодарят Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины РНИМУ им. Н. И. Пирогова за консультации по методической части исследования.

**Вклад авторов:** Д. А. Шагин — концептуализация, руководство исследованием, редактирование рукописи; П. В. Евсеев, А. А. Шеленков — формальный анализ данных секвенирования, редактирование рукописи; М. М. Шнейдер — методология, руководство исследованием; Ю. В. Михайлова — секвенирование, валидация данных; Ю. Г. Янушевич, А. Моисеенко, М. Г. Карлова — методология; О. С. Соколова — электронная микроскопия, методология.

✉ Для корреспонденции: Михаил Маркович Шнейдер  
ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, г. Москва, 117997, Россия; mm\_shn@mail.ru

Статья получена: 08.12.2021 Статья принята к печати: 22.12.2021 Опубликована онлайн: 30.12.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.068

## NOVEL *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* VIRULENT BACTERIOPHAGE KPPK108.1 CAPABLE OF INFECTING THE K108 SEROTYPE STRAINS

Evseev PV<sup>1</sup>, Shneider MM<sup>1</sup>✉, Mikhailova YuV<sup>2</sup>, Shelenkov AA<sup>2</sup>, Yanushevich YuG<sup>3</sup>, Karlova MG<sup>4</sup>, Moiseenko AV<sup>4</sup>, Sokolova OS<sup>4</sup>, Shagin DA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains are one of the major causes of nosocomial infections caused by the antibiotic-resistant bacteria. There are different options for dealing with this threat, among which is the clinical application of bacteriophages. The study was aimed to isolate and describe a virulent bacteriophage, having the potential for therapeutic use. The standard phage biology and bioinformatic methods were used, which included the advanced techniques for protein structure prediction (AlphaFold software), and electron microscopy. The virulent podovirus KPPK108.1, being the member of genus *Drulivirus*, which is able to specifically infect the *K. pneumoniae* strains with the KL108 type capsular polysaccharide, has been isolated from the wastewater. The sequence of the bacteriophage genome has been defined, the biological properties have been investigated, and the genetic features have been described.

**Keywords:** bacteriophage, *Klebsiella pneumoniae*, capsular polysaccharide, depolymerase

**Funding:** the study was funded by the Ministry of Health of the Russian Federation (EGISU R&D № 121052800048-3).

**Acknowledgements:** the authors wish to thank the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Pirogov Russian National Research Medical University, for advice on research methods.

**Author contribution:** Shagin DA — research conceptualization, study management, manuscript writing; Evseev PV, Shelenkov AA — formal analysis of sequencing data, manuscript editing; Shneider MM — methodology, study management; Mikhailova YuV — sequencing, data validation; Yanushevich YuG, Moiseenko AV, Karlova MG — methodology; Sokolova OS — electron microscopy, methodology.

✉ Correspondence should be addressed: Mikhail M. Shneider  
Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, 117997, Russia; mm\_shn@mail.ru

Received: 08.12.2021 Accepted: 22.12.2021 Published online: 30.12.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.068

Современная фаготерапия с ее персонализированным подходом основана на детальном исследовании взаимодействия фагов и бактериальных клеток. Одной из важнейших детерминант специфичности в отношении фаг-клетка являются бактериальные углеводы,

экспонированные на клеточной поверхности: О-антителы и капсулярные полисахариды. Капсулярные полисахариды *K. pneumoniae*, являющиеся фактором вирулентности [1], весьма разнообразны по своей структуре. В настоящий момент биоинформационные базы указывают на наличие

не менее 134 генетических вариантов [2]. Для решения задач терапевтической практики необходимо создание коллекции фагов, имеющих преохарактеризованную специфичность, в том числе по способности адсорбции через распознавание капсулярных полисахаридов определенной структуры. Целью исследования было выделить вирулентный фаг, специфически инфицирующий ранее охарактеризованные штаммы *K. pneumoniae*, имеющие капсулярный полисахарид KL108, и всесторонне изучить его с точки зрения биологии и генетики. Для создания всеобъемлющей характеристики вируса были использованы стандартные методы фаговой биологии, электронная микроскопия, а также биоинформатика, включая современные методы предсказания белковых структур (программа AlphaFold).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические штаммы *K. pneumoniae* P224 (1732) и P225 (1333), имеющие капсулярный полисахарид типа K108, были получены из коллекции Института эпидемиологии (Москва, Россия). Для выделения бактериофагов использовали образцы сточных вод из очистных сооружений г. Москвы. К предварительно осветленным центрифугированием образцам сточных вод добавляли сухие компоненты среды для культивирования бактерий (10 г/л триптона, 5 г/л дрожжевого экстракта и 5 г/л NaCl), затем среды инокулировали культурой бактериальных клеток в экспоненциальной фазе роста. Культивирование проводили в течение 16 ч при 37 °C, после чего бактериальную культуру инактивировали хлороформом и образцы осветляли центрифугированием. Наличие фагов определяли титрованием по методу агаровых слоев. Выделенный фаг титровали до единичных негативных колоний дважды последовательно. Препартивное наращивание бактериофага проводили в 1 л культуры штамма P224 при 37 °C. Бактериофаг осаждали полиэтиленгликолем и очищали ультрацентрифугированием в градиенте хлористого цезия [3].

Геномную ДНК фага выделяли из очищенного препарата фага путем инкубации в растворе 100 mM Tris-HCl (pH 7,5), 25 mM EDTA, 1,5 M NaCl, 2% (w/v) СТАВ, 0,3% (v/v) β-меркаптоэтанола и 50 мг/мл протеиназы K при 50 °C 30 мин, с последующей экстракцией ДНК хлороформом и осаждением путем добавления 0,6 объема изопропилового спирта. Секвенирование генома выполняли на платформе MiSeq, используя набор Nextera DNA library preparation kit (Illumina; USA). Полученные последовательности собирали в единый контиг программой SPAdes v. 3.13 [4].

Эксперимент по оценке продукции фаговых частиц выполнен по описанному ранее протоколу [5].

Фаговые частицы визуализировали методом электронной микроскопии с негативным контрастированием. Препарат фага объемом 3 мкл наносили на покрытую углеродом сеточку 400 mesh. Препарат негативно контрастировали 1%-м уранилацетатом в течение 30 с, изображения получали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEOL JEM-2100 200 kV (JEOL USA Inc., США) при увеличении ×30 000.

Геном бактериофага *Klebsiella* phage KPPK108.1 аннотировали с помощью Prokka [6], используя встроенные базы данных. Предсказание функций закодированных в геноме белков выполняли с помощью поиска BLAST [7] по известным гомологам и сравнения схожих мотивов HMM с помощью онлайн-сервисов HHpred [8] и Phyre2

[9] с использованием баз данных SCOPe70\_2.07, ECOD\_ECOD\_F70 и UniProt-SwissProt-viral70. В качестве критерия достоверного сходства BLAST использовали величину E value < 10<sup>-5</sup>, в качестве критерия достоверного сходства сравнения HMM — величины Phyre2 «confidence» и HHpred «probability» более 95%. Генетическую карту формировали с помощью программы Geneious Prime [10].

Последовательности геномов бактериофагов, использовавшиеся для сравнения с фагом KPPK108.1, были загружены из базы данных NCBI Genome [11]. Среднегеномное сходство рассчитывали с помощью онлайн-сервиса VIRIDIC [12] и программы orthoANIu [13]. Филогенетический анализ выполняли методом максимального правдоподобия, реализованным в программе RAxML [14], с применением модели замещения аминокислот GAMMA LG [15] и использованием конкатенированных выравниваний аминокислотных последовательностей основного капсидного белка, большой субъединицы терминазы, ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы. Выравнивания были получены с помощью программы MAFFT [16] и конкатенированы с помощью Geneious Prime [10]. Диаграмму межгеномного сравнения выполняли в программе Easyfig [17] с использованием TBLASTX [7] для нахождения гомологичных областей в геномах.

Модель третичной структуры продукта гена 8 и четвертичной структуры белка хвостового шипа бактериофага *Klebsiella* phage KPPK108.1 строили с помощью программы AlphaFold-Multimer [18, 19]. Структура белка хвостового шипа фага *Enterobacteri* phage φ92 была загружена из базы данных PDB [20]. Расчет электростатического поверхностного заряда белка хвостового шипа проводили с помощью программы APBS [21]. Выравнивание и визуализацию структур выполняли в программе UCSF Chimera [22].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На бактериальной культуре в агаризованной среде бактериофаг KPPK108.1 образует прозрачные негативные колонии диаметром 5 мм с прозрачным ореолом (рис. 1).

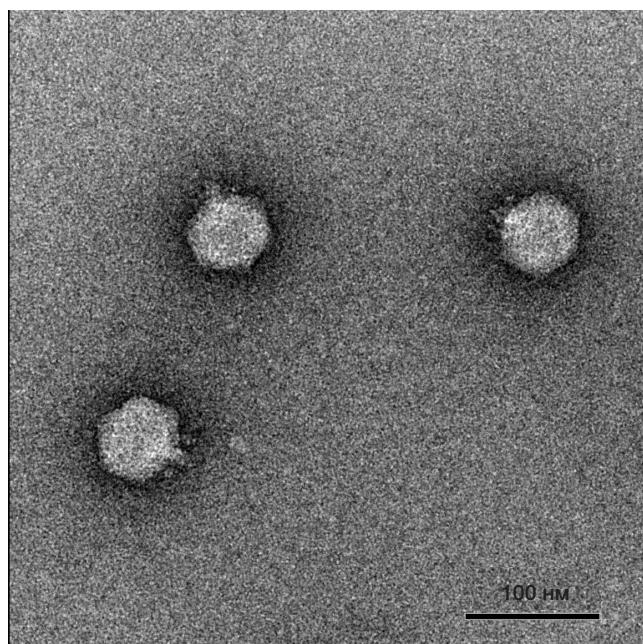


Рис. 1. Электронная микрофотография бактериофага *Klebsiella* KPPK108.1. Негативное контрастирование 1%-м уранилацетатом, увеличение ×30 000

Наличие ореола, как правило, свидетельствует о присутствии фаговой деполимеразы, что в дальнейшем подтвердили генетические исследования. Одностадийная кривая роста продемонстрировала латентный период 15 мин и урожайность фаговых частиц в количестве 46 на одну инфицированную клетку.

Бактериофаг *Klebsiella* KPPK108.1 имеет типичный для фагов семейства *Autographiviridae* геном, состоящий из двухцепочечной ДНК размером 43 755 п.н. с прямыми концевыми повторами размером 244 п.н. ГЦ-состав генома — 53,6%, что несколько ниже значения 57,5%, характерного для отсеквенированного штамма *K. pneumoniae* HS11286 (GenBank Accession CP003200.1). При поиске кодирующих последовательностей в геноме выявлено 56 генов, кодирующих белки, и не обнаружены гены, кодирующие тРНК (рис. 2). Поиск гомологичных и схожих последовательностей с применением алгоритмов BLAST и сравнения мотивов HMM, с использованием публичных баз данных и серверов, позволил предсказать функции 29 белков, закодированных в геноме. Функции 27 белков определить не удалось. Гены интегразы и других белков, присущих умеренным фагам, в геноме обнаружены не были.

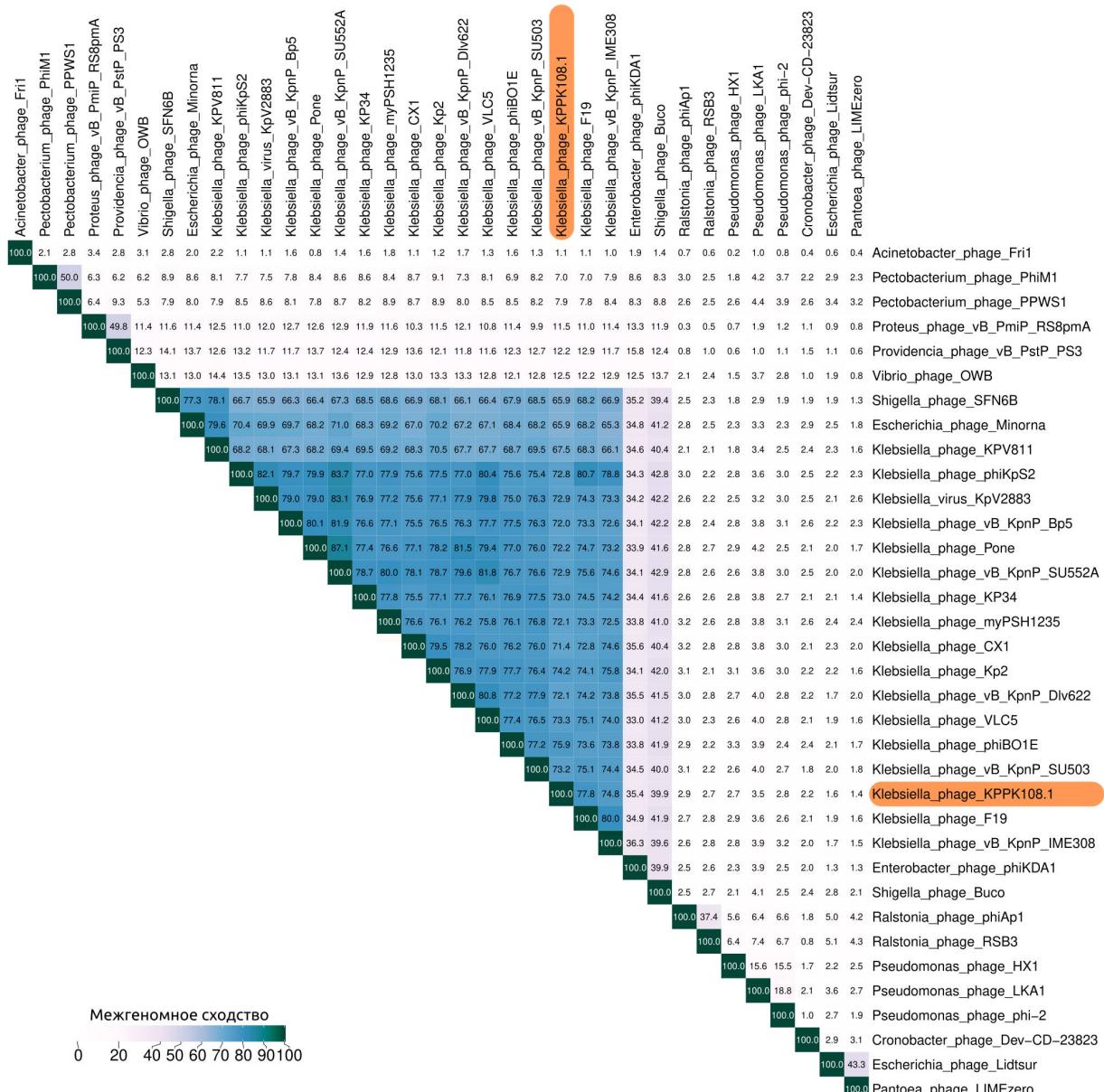
Сравнение среднего общегеномного сходства (ANI) с использованием всех 14 923 генов хвостатых бактериофагов, депонированных в базу данных NCBI Genome, выявило группу бактериофагов *Klebsiella*, относящихся к роду *Drulivirus*, наиболее близких по этому параметру к фагу KPPK108.1 (рис. 3). Значение ANI фага KPPK108.1 и

типового фага рода *Drulivirus Klebsiella* phage KP34 составляет 73,0%. Филогенетический анализ, проведенный с использованием конкатенированных аминокислотных последовательностей основного капсидного белка, большой субединицы терминазы, ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы, кластеризует бактериофаги *Drulivirus* и фаг KPPK108.1 в одну монофилетическую группу (рис. 4). Состав генов и организация генома фага KPPK108.1 в целом напоминают бактериофаг *Escherichia* phage T7 и другие фаги семейства *Autographiviridae* (рис. 5) и практически идентичны таковым у других представителей *Drulivirus*. Интересной особенностью обладает продукт гена 8. Структурное моделирование показало необычную Г-образную форму белка с С-концевой тубулообразной частью (рис. 6.1). Эта часть характеризуется увеличенным по сравнению со средним количеством положительно заряженных аминокислотных остатков. Моделирование электростатического поля продемонстрировало существенный (до -5) отрицательный поверхностный заряд С-концевой части продукта гена 8 (рис. 6.2).

Биоинформационный анализ генома фага KPPK108.1 выявил наличие генов, кодирующих белки хвостового адаптора и хвостового шипа. Структура белка хвостового шипа была моделирована и проанализирована (рис. 6). Поиск похожих структур показал высокую степень сходства хвостового шипа фага KPPK108.1 и хвостового шипа фага *Enterobacteri* phage -92 (PDB структура 6E0V) (рис. 6), обладающего коланидазной активностью, подтвержденной экспериментально [23].



Рис. 2. Генетическая карта бактериофага *Klebsiella* KPPK108.1. Гены окрашены в цвета в соответствии с функцией их продуктов, указанных в подсказках. Стрелки указывают на направление генов в соответствии с их кодирующей функцией.



**Рис. 3.** Матрица среднегеномного сходства фага *Klebsiella* KPPK108.1, полученная с помощью онлайн-сервиса VIRIDIC с использованием геномов различных представителей семейства *Autographiviridae*

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Значение общегеномного сходства фагов KPPK108.1 и KP34 выше 70% границы рода вместе с результатами филогенетического анализа с использованием конкатенированных последовательностей консервативных генов указывает на принадлежность бактериофага *Klebsiella* phage KPPK108.1 к роду *Drulisvirus* подсемейства *Slopekvirinae* семейства *Autographiviridae*. Этот вывод подтверждают и результаты межгеномного сравнения. Небольшие различия в организации геномов могут быть объяснены рекомбинационными событиями, сопровождавшими эволюцию бактериофагов *Klebsiella*, что подтверждается присутствием в геноме KPPK108.1 и других родственных бактериофагов генов NHH-эндонуклеазы. Строение генома фага KPPK108.1 типично для бактериофагов семейства *Autographiviridae* и характеризуется наличием региона «ранних генов» [24], который включает ген 8, кодирующий гипотетический белок с необычной Г-образной третичной структурой.

Хотя функция этого белка была определена не поиском гомологов с помощью BLAST или схожих белков с помощью сравнения мотивов HMM, исходя из распределения поверхностного заряда можно было бы предположить, что этот белок мимикрирует нуклеиновую кислоту, как это встречается у белков Ocr, также расположенных в раннем регионе геномов других автографивиридов и мимикрирующих ДНК [25, 26]. Было показано, что белок Ocr эффективно ингибитирует систему рестрикции-модификации BREX, облегчая течение фаговой инфекции [27].

Биоинформационный анализ генома фага KPPK108.1 позволяет предсказать состав адсорбционного аппарата, который включает адаптор хвостового шипа и основной белок хвостового шипа, обладающий ферментативной активностью. По всей видимости, белок хвостового шипа является рецептор-связывающим белком (receptor-binding protein, RBP), определяющим специфичность и спектр хозяев фага [28]. Структурный анализ белка хвостового шипа свидетельствует о наличии деполимеризующей активности в отношении полисахарида, предположительно родственного

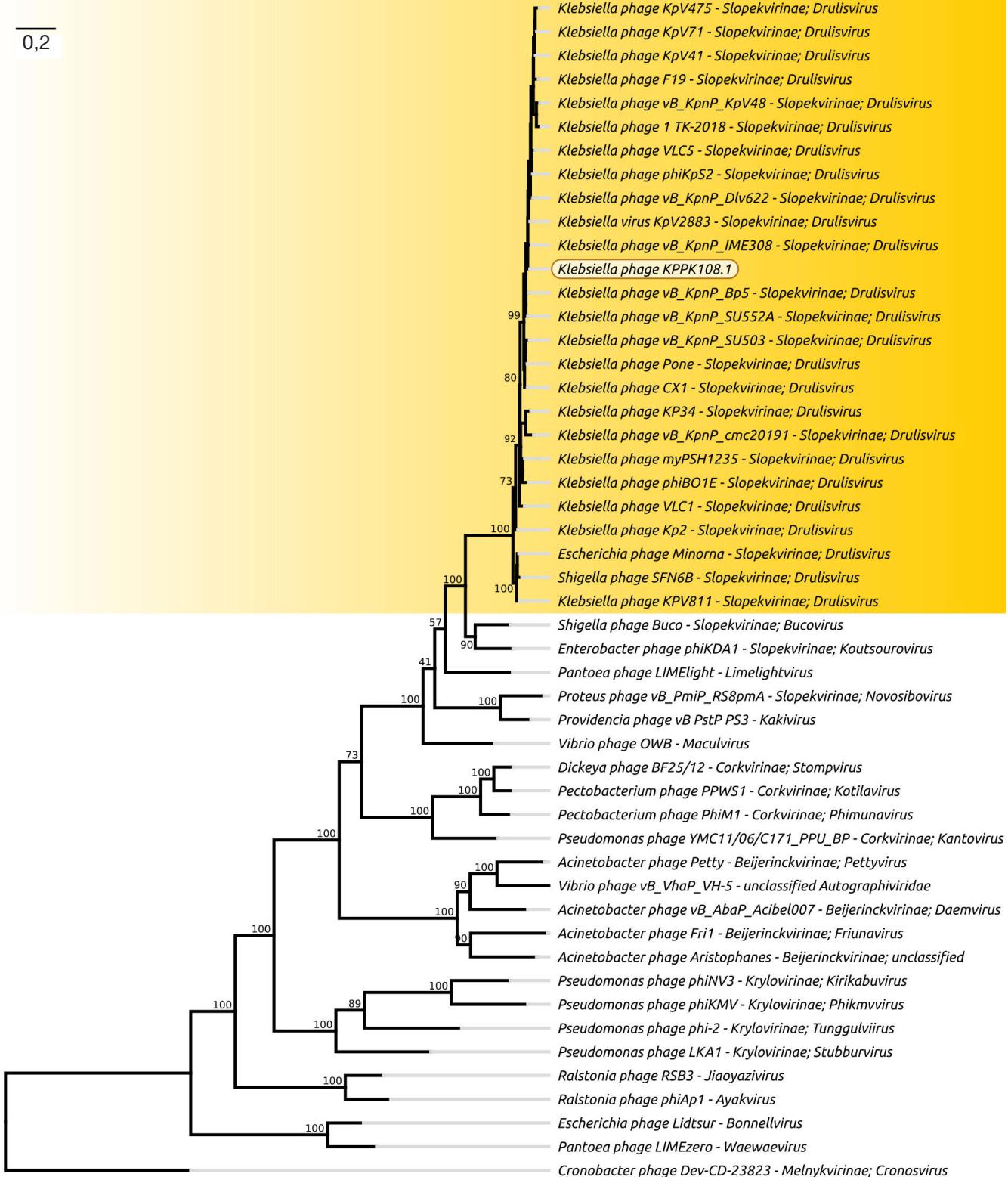


Рис. 4. Филогенетическое дерево фага *Klebsiella* KPPK108.1 и других фагов семейства *Autographiviridae*, полученное с помощью программы RAxML с использованием конкатенированных аминокислотных последовательностей основного капсидного белка, большой субъединицы терминазы, ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы

колановой кислоте *E. coli*. Субстратом коланидаз является колановая кислота — внеклеточный полисахарид, состоящий из нескольких видов углеводных остатков (например, L-фукозы, D-глюкозы, D-галактозы и D-глюкуроновой кислоты), секретируемый в среду бактериями семейства *Enterobacteriaceae* [29]. Коланидазы были обнаружены в составе фаговых RBP сравнительно недавно [30], и

присущи ряду вирулентных бактериофагов, относящихся к эволюционно далеким группам, включая подо- и миовирусы [23, 30], часть из которых показала высокую эффективность в составе фаговых коктейлей для фаговой терапии [30]. Необходимо установить структуру капсулярного полисахарида *K. pneumoniae* типа K108, чтобы прояснить вопрос о сходстве этого полимера с колановой кислотой.

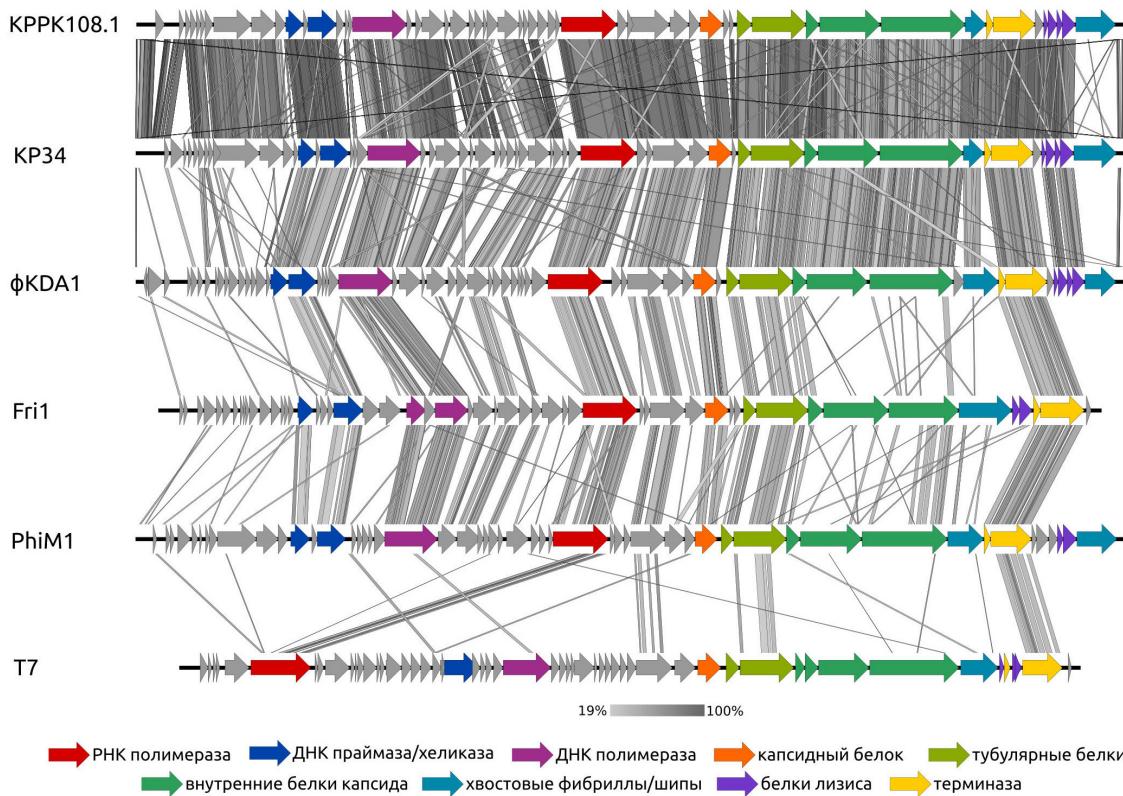


Рис. 5. Диаграмма межгеномного сравнения с использованием геномов фага *Klebsiella* KPPK108.1 и других фагов семейства *Autographiviridae*, полученная с помощью EasyFig и TBLASTX. Вертикальные линии окрашены в соответствии со шкалой внизу диаграммы, демонстрирующей степень их сходства

## ВЫВОДЫ

Бактериофаг *Klebsiella* KPPK108.1 представляет собой вирулентный бактериофаг, относящийся к роду *Drulisvirus* семейства *Autographiviridae*. Детальный биоинформационический анализ свидетельствует о литическом образе инфекционного цикла фага и позволяет предсказать структуру адсорбционного

аппарата фага из адаптора хвостового шипа и белка хвостового шипа, обладающего коланидазной активностью. Предсказанные характеристики бактериофага KPPK108.1 свидетельствуют о перспективности его применения в составе фаговых коктейлей в целях фаговой терапии. Насколько нам известно, это первый полностью охарактеризованный фаг, специфичный капсуларному типу KL108.

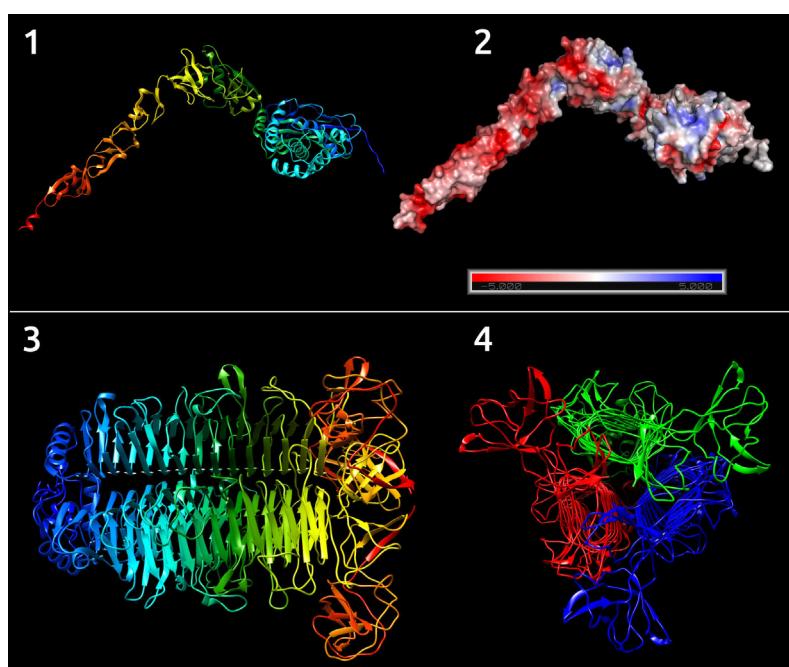


Рис. 6. Предсказанная третичная структура продукта гена 8 фага KPPK108.1, окрашенная в цвета радуги, где синий цвет соответствует N-концевой части белка, а красный — C-концевой части белка (1). Предсказанная третичная структура продукта гена 8, окрашенная в соответствии с величиной заряда электростатического поверхностного поля белка (2). Предсказанная третичная структура тримера хвостового шипа фага KPPK108.1, окрашенная в цвета радуги, где синий цвет соответствует N-концевой части белка, а красный — C-концевой части белка, вид вдоль продольной оси (3). Предсказанная третичная структура тримера хвостового шипа фага KPPK108.1 с мономерами, окрашенными в разные цвета со стороны поперечной оси (4)

## Литература

1. Paczosa MK, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2016; 80 (3): 629–61.
2. Wyres KL, Wick RR, Gorrie C, Jenney A, Follador R, Thomson NR, et al. Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data. *Microb Genom*. 2016; 2 (12): e000102.
3. Colombe J, Robin A, Lavie L, Bettarel Y, Cauchie HM, Sime-Ngando T. Virioplankton “pegylation”: use of PEG (polyethylene glycol) to concentrate and purify viruses in pelagic ecosystems. *J Microbiol Methods*. 2007; 71 (3): 212–9.
4. 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): 455–77.
5. Drulis-Kawa Z, Mackiewicz P, Kęsik-Szeloch A, Maciaszczyk-Dziubinska E, Weber-Dąbrowska B, Dorotkiewicz-Jach A, et al. Isolation and characterisation of KP34 — a novel  $\varphi$ KMV-like bacteriophage for *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011; 90 (4): 1333–45.
6. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014; 30 (14): 2068–9.
7. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*. 1990; 215 (3): 403–10.
8. Gabler F, Nam S-Z, Till S, Mirdita M, Steinegger M, Söding J, et al. Protein Sequence Analysis Using the MPI Bioinformatics Toolkit. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2020; 72 (1): e108.
9. Kelley LA, Mezulis S, Yates CM, Wass MN, Sternberg MJE. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc*. 2015; 10 (6): 845–58.
10. Geneious. Bioinformatics Software for Sequence Data Analysis. Geneious [cited 2021 Nov 11]. Available from: <https://www.geneious.com/>
11. Home — Genome — NCBI [cited 2021 Nov 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>.
12. Moraru C, Varsani A, Kropinski AM. VIRIDIC — A Novel Tool to Calculate the Intergenomic Similarities of Prokaryote-Infecting Viruses. *Viruses*. 2020; 12 (11): 1268.
13. Lee I, Ouk Kim Y, Park S-C, Chun J. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016; 66 (2): 1100–3.
14. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 2014; 30 (9): 1312–3.
15. Le SQ, Gascuel O. An improved general amino acid replacement matrix. *Mol Biol Evol*. 2008; 25 (7): 1307–20.
16. Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*. 2002; 30 (14): 3059–66.
17. Sullivan MJ, Petty NK, Beatson SA. Easyfig: a genome comparison visualizer. *Bioinformatics*. 2011; 27 (7): 1009–10.
18. Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021; 596 (7873): 583–9.
19. Evans R, O'Neill M, Pritzel A, Antropova N, Senior A, Green T, et al. Protein complex prediction with AlphaFold-Multimer. 2021 [cited 2021 Dec 6]. 2021.10.04.463034. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.10.04.463034v1>.
20. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000; 28 (1): 235–42.
21. Jurrus E, Engel D, Star K, Monson K, Brandi J, Felberg LE, et al. Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. *Protein Science*. 2018; 27 (1): 112–28.
22. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004; 25 (13): 1605–12.
23. Schwarzer D, Buettner FFR, Browning C, Nazarov S, Rabsch W, Bethe A, et al. A Multivalent Adsorption Apparatus Explains the Broad Host Range of Phage phi92: a Comprehensive Genomic and Structural Analysis. *Journal of Virology*. 2012; 86 (19): 10384–98.
24. Evseev PV, Lukianova AA, Schneider MM, Korzhenkov AA, Bugaeva EN, Kabanova AP, et al. Origin and Evolution of Studiervirinae Bacteriophages Infecting *Pectobacterium*: Horizontal Transfer Assists Adaptation to New Niches. *Microorganisms*. 2020; 8 (11): 1707.
25. Roberts GA, Stephanou AS, Kanwar N, Dawson A, Cooper LP, Chen K, et al. Exploring the DNA mimicry of the Ocr protein of phage T7. *Nucleic Acids Res*. 2012; 40 (16): 8129–43.
26. Zavilgelsky GB, Rastorguev SM. Antirestriction proteins ArdA and Ocr as efficient inhibitors of type I restriction-modification enzymes. *Mol Biol*. 2009; 43 (2): 241.
27. Isaev A, Drobizko A, Sierra N, Gordeeva J, Yosef I, Qimron U, et al. Phage T7 DNA mimic protein Ocr is a potent inhibitor of BREX defence. *Nucleic Acids Res*. 2020; 48 (10): 5397–406.
28. Zampara A, Sørensen MCH, Grimon D, Antenucci F, Vitt AR, Bortolaia V, et al. Exploiting phage receptor binding proteins to enable endolysins to kill Gram-negative bacteria. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 12087.
29. Stevenson G, Andrianopoulos K, Hobbs M, Reeves PR. Organization of the *Escherichia coli* K-12 gene cluster responsible for production of the extracellular polysaccharide colanic acid. *J Bacteriol*. 1996; 178 (16): 4885–93.
30. Kim H, Kim M, Bai J, Lim J-A, Heu S, Ryu S. Colanic Acid Is a Novel Phage Receptor of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Phage POP72. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: 143.

## References

1. Paczosa MK, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2016; 80 (3): 629–61.
2. Wyres KL, Wick RR, Gorrie C, Jenney A, Follador R, Thomson NR, et al. Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data. *Microb Genom*. 2016; 2 (12): e000102.
3. Colombe J, Robin A, Lavie L, Bettarel Y, Cauchie HM, Sime-Ngando T. Virioplankton “pegylation”: use of PEG (polyethylene glycol) to concentrate and purify viruses in pelagic ecosystems. *J Microbiol Methods*. 2007; 71 (3): 212–9.
4. 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): 455–77.
5. Drulis-Kawa Z, Mackiewicz P, Kęsik-Szeloch A, Maciaszczyk-Dziubinska E, Weber-Dąbrowska B, Dorotkiewicz-Jach A, et al. Isolation and characterisation of KP34 — a novel  $\varphi$ KMV-like bacteriophage for *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011; 90 (4): 1333–45.
6. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014; 30 (14): 2068–9.
7. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*. 1990; 215 (3): 403–10.
8. Gabler F, Nam S-Z, Till S, Mirdita M, Steinegger M, Söding J, et al. Protein Sequence Analysis Using the MPI Bioinformatics Toolkit. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2020; 72 (1): e108.
9. Kelley LA, Mezulis S, Yates CM, Wass MN, Sternberg MJE. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc*. 2015; 10 (6): 845–58.
10. Geneious. Bioinformatics Software for Sequence Data Analysis. Geneious [cited 2021 Nov 11]. Available from: <https://www.geneious.com/>
11. Home — Genome — NCBI [cited 2021 Nov 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>.

12. Moraru C, Varsani A, Kropinski AM. VIRIDIC — A Novel Tool to Calculate the Intergenomic Similarities of Prokaryote-Infecting Viruses. *Viruses*. 2020; 12 (11): 1268.
13. Lee I, Ouk Kim Y, Park S-C, Chun J. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016; 66 (2): 1100–3.
14. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 2014; 30 (9): 1312–3.
15. Le SQ, Gascuel O. An improved general amino acid replacement matrix. *Mol Biol Evol*. 2008; 25 (7): 1307–20.
16. Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*. 2002; 30 (14): 3059–66.
17. Sullivan MJ, Petty NK, Beatson SA. Easyfig: a genome comparison visualizer. *Bioinformatics*. 2011; 27 (7): 1009–10.
18. Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021; 596 (7873): 583–9.
19. Evans R, O'Neill M, Pritzel A, Antropova N, Senior A, Green T, et al. Protein complex prediction with AlphaFold-Multimer. 2021 [cited 2021 Dec 6]. 2021.10.04.463034. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.10.04.463034v1>.
20. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000; 28 (1): 235–42.
21. Jurrus E, Engel D, Star K, Monson K, Brandi J, Felberg LE, et al. Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. *Protein Science*. 2018; 27 (1): 112–28.
22. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004; 25 (13): 1605–12.
23. Schwarzer D, Buetner FFR, Browning C, Nazarov S, Rabsch W, Bethe A, et al. A Multivalent Adsorption Apparatus Explains the Broad Host Range of Phage phi92: a Comprehensive Genomic and Structural Analysis. *Journal of Virology*. 2012; 86 (19): 10384–98.
24. Evseev PV, Lukianova AA, Shneider MM, Korzhenkov AA, Bugaeva EN, Kabanova AP, et al. Origin and Evolution of Studiervirinae Bacteriophages Infecting *Pectobacterium*: Horizontal Transfer Assists Adaptation to New Niches. *Microorganisms*. 2020; 8 (11): 1707.
25. Roberts GA, Stephanou AS, Kanwar N, Dawson A, Cooper LP, Chen K, et al. Exploring the DNA mimicry of the Ocr protein of phage T7. *Nucleic Acids Res*. 2012; 40 (16): 8129–43.
26. Zavilgelsky GB, Rastorguev SM. Antirestriction proteins ArdA and Ocr as efficient inhibitors of type I restriction-modification enzymes. *Mol Biol*. 2009; 43 (2): 241.
27. Isaev A, Drobizko A, Sierro N, Gordeeva J, Yosef I, Qimron U, et al. Phage T7 DNA mimic protein Ocr is a potent inhibitor of BREX defence. *Nucleic Acids Res*. 2020; 48 (10): 5397–406.
28. Zampara A, Sørensen MCH, Grimon D, Antenucci F, Vitt AR, Bortolaia V, et al. Exploiting phage receptor binding proteins to enable endolysins to kill Gram-negative bacteria. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 12087.
29. Stevenson G, Andrianopoulos K, Hobbs M, Reeves PR. Organization of the *Escherichia coli* K-12 gene cluster responsible for production of the extracellular polysaccharide colanic acid. *J Bacteriol*. 1996; 178 (16): 4885–93.
30. Kim H, Kim M, Bai J, Lim J-A, Heu S, Ryu S. Colanic Acid Is a Novel Phage Receptor of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Phage POP72. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: 143.

## ДЕГЕНЕРАТИВНАЯ БОЛЕЗНЬ ДИСКА У МОЛОДЫХ: ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ И ФАКТОРЫ АНГИОГЕНЕЗА

А. В. Новикова<sup>1</sup>✉, Н. Г. Правдюк<sup>1</sup>, В. С. Саклакова<sup>2</sup>, Е. А. Лоломадзе<sup>2</sup>, В. М. Феников<sup>3</sup>, Д. А. Николаев<sup>3</sup>, К. С. Давыгоро<sup>1</sup>, В. Т. Тимофеев<sup>1</sup>, Н. А. Шостак<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, Москва, Россия

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 1 имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Боль в спине (БС), ассоциированная с дегенеративной болезнью диска (ДБД), — тяжелое социальное и экономическое бремя вследствие ранней инвалидизации и возникновения показаний к оперативному вмешательству уже в молодом возрасте. Патофизиологические основы преждевременной дегенерации межпозвонкового диска (МПД) находятся на стадии активного изучения. Целью исследования было определить профиль воспалительных цитокинов при ДБД и их связь со структурными нарушениями в позвоночнике. У пациентов молодого возраста с БС и грыжей МПД, подвергшихся дисцектомии, и у здоровых лиц проводили молекулярно-генетический анализ представленности генов мРНК методом количественной полимеразной цепной реакции. У больных в ткани МПД выявлен высокий уровень экспрессии TNF $\alpha$ , IL17 ( $p < 0,01$ ); уровни TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  коррелировали с тяжестью ДБД ( $r = 0,301$  и  $0,37$ ;  $p < 0,05$ ). В лейкоцитах периферической крови обнаружена повышенная экспрессия IL1 $\beta$ , IL6 ( $p < 0,01$ ); уровень IL6 отрицательно коррелировал с I и II стадиями Modic-изменений ( $r = -0,31$ ;  $p < 0,05$ ), IL17 прямо коррелировал с грыжей МПД в сочетании с эрозией замыкательных пластин и Modic ( $r = 0,401$ ;  $p < 0,05$ ). Экспрессия VEGF-A в ткани МПД и в лейкоцитах крови отрицательно коррелировала со стадией ДБД ( $r = -0,85$ ;  $p < 0,001$ ), указывая на снижение активности васкуляризации в терминальной стадии. Данные, выявленные при ДБД, говорят о вкладе локального низкоиммунного воспаления, сопряженного с активной васкуляризацией диска на более ранних стадиях и ассоциированного с реактивным воспалением тел позвонков. Полученные результаты служат предпосылкой к разработке противовоспалительной и reparативной терапии в зависимости от стадии ДБД и наличия Modic-изменений у лиц молодого возраста с БС.

**Ключевые слова:** боль в спине, дегенеративная болезнь диска, молодой возраст, дисцектомия, экспрессия цитокинов, мРНК TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL6, IL17, VEGF-A, Modic-изменения

**Благодарности:** врачам-нейрохирургам нейрохирургического отделения М. А. Некрасову, В. В. Бабенкову, А. Н. Исаеву, В. А. Смирнову, Д. С. Глухову, Г. В. Габечия, Д. Б. Чориеву, А. Х. Кожеву за помощь в исследовании.

**Вклад авторов:** А. В. Новикова — анализ литературы, сбор клинических данных и набор биоматериала, выполнение преаналитического этапа работы, анализ и интерпретация данных, подготовка рисунков и графиков; Н. Г. Правдюк — анализ литературы, постановка задачи, разработка дизайна исследования, анализ и интерпретация данных; В. С. Саклакова — анализ литературы, выполнение аналитической части лабораторной работы, определение и статистический анализ уровня представленности мРНК в биоматериале, составление графиков; Е. А. Лоломадзе — анализ лабораторной работы, анализ уровня представленности мРНК в биоматериале; В. М. Феников и Д. А. Николаев — допуск к набору клинического материала, неврологический осмотр пациентов, дисцектомия, получение биоматериала; К. С. Давыгоро — анализ литературы, анализ лабораторной работы; В. Т. Тимофеев — планирование исследования, выполнение преаналитического этапа работы, оценка полученных данных; Н. А. Шостак — руководство проведением исследования, разработка дизайна исследования, интерпретация данных, редактирование рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 181 от 28 января 2019 г.); от всех участников получено информированное согласие на проведение исследования образцов крови и межпозвонкового диска.

✉ Для корреспонденции: Анна Владимировна Новикова  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; annove2008@mail.ru

Статья получена: 22.11.2021 Статья принята к печати: 06.12.2021 Опубликована онлайн: 19.12.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.061

## DEGENERATIVE DISC DISEASE IN YOUNG ADULTS: CYTOKINE PROFILE AND ANGIOGENIC FACTORS

Novikova AV<sup>1</sup>✉, Pravdyuk NG<sup>1</sup>, Saklakova VS<sup>2</sup>, Lolomadze EA<sup>2</sup>, Feniksov VM<sup>3</sup>, Nikolaev DA<sup>3</sup>, Davygora KS<sup>1</sup>, Timofeev VT<sup>1</sup>, Shostak NA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Pirogov City Clinical Hospital № 1, Moscow, Russia

Back pain (BP), associated with the degenerative disc disease (DDD), poses a heavy social and economic burden due to early disability and indications to surgery, emerging in young adults. Pathophysiological basis of premature intervertebral disc (IVD) degeneration is being actively studied. The study was aimed to define the profiles of inflammatory cytokines in DDD, as well as their relationship to the structural spine diseases. The molecular genetic analysis of the mRNA gene abundance in patients with BP and herniated IVD after discectomy and healthy individuals was performed by the quantitative polymerase chain reaction method. High expression of TNF $\alpha$ , IL17 was revealed in the IVD tissues of the affected patients ( $p < 0,01$ ); the levels of TNF $\alpha$  and IL1 $\beta$  correlated with the DDD severity ( $r = 0,301$  and  $0,37$ ;  $p < 0,05$ ). Elevated expression of IL1 $\beta$ , IL6 was found in peripheral white blood cells ( $p < 0,01$ ); the levels of IL6 negatively correlated with Modic type 1 and 2 changes ( $r = -0,31$ ;  $p < 0,05$ ), and the levels of IL17 positively correlated with the IVD herniation in combination with erosions of the adjacent vertebral body endplates and Modic changes ( $r = 0,401$ ;  $p < 0,05$ ). The expression of VEGF-A in the IVD tissues and white blood cells negatively correlated with the DDD grades ( $r = -0,85$ ;  $p < 0,001$ ), indicating reduced vascularization in the terminal phase of the disease. The findings on DDD demonstrate the contribution of the local low-immune inflammation, coupled with the intense disc vascularization at the earlier stages, and associated with the reactive inflammation in vertebral bodies. The results are prerequisites for developing the anti-inflammatory and reparative therapy based on the DDD grade and the presence of Modic changes in young adults with BP.

**Keywords:** back pain, degenerative disc disease, young age, discectomy, cytokine expression, mRNA TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL6, IL17, VEGF-A, Modic-changes

**Acknowledgements:** we would like to thank neurosurgeons of the Department of Neurosurgery, Nekrasova MA, Babenkova VV, Isaeva AN, Smirnova VA, Glukhova DS, Gabechiya GV, Choriyeva DB, Kozheva AKh, for assistance in our research.

**Author contribution:** Novikova AV — literature analysis, clinical data acquisition and biomaterial collection, preanalytical phase of the study, data analysis and interpretation, preparation of figures and graphs; Pravdyuk NG — literature analysis, task definition, study design, data analysis and interpretation; Saklakova VS — literature analysis, analytic phase of laboratory testing, definition and statistical analysis of mRNA abundance in biomaterial, scheduling; Lolomadze EA — analysis of laboratory work, analysis of mRNA abundance in biomaterial; Feniksov VM and Nikolaev DA — admission to clinical data acquisition, neurological examination of patients, discectomy, biomaterial collection; Davygora KS — literature analysis, analysis of laboratory work; Timofeev VT — study planning, preanalytical phase of the study, evaluation of the data obtained; Shostak NA — research management, study design, data interpretation, manuscript editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 181 dated January 28, 2019); the informed consent to blood testing and investigation of intervertebral disc was obtained from all participants.

✉ Correspondence should be addressed: Anna V. Novikova  
Ostrovitianova, 1, Moscow, 117997, Russia; annove2008@mail.ru

Received: 22.11.2021 Accepted: 06.12.2021 Published online: 19.12.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.061

Боль в спине (БС) — одна из основных причин инвалидизации пациентов в развитых странах мира, вызывающая стойкую потерю трудоспособности. БС встречается во всех возрастных группах. Так, по данным польского исследования, у 85% мужчин и 86% женщин с дебютом БС в 14-летнем возрасте в течение 34 последующих лет БС носила рецидивирующий характер [1]. Одним из прогностически неблагоприятных вариантов БС является дегенеративная болезнь диска (ДБД), в основе которой лежат процессы деградации и воспаления в ткани межпозвонкового диска (МПД) [2]. ДБД — хроническое состояние с тенденцией к прогрессированию. Несмотря на то что до сих пор нет однозначных критериев разграничения «естественного» физиологического старения диска и патологической дегенерации, встречающейся и у молодых лиц, термин ДБД используют и клиницисты, и патоморфологи для обозначения дезинтеграции межклеточного матрикса диска с нарушением гомеостаза и индукцией воспалительной активности в пространстве диска [3]. Клинически проявления ДБД хорошо изучены: это БС механического характера, связанная с осевой нагрузкой (усиливается при физической нагрузке, переносе груза, сгибании, уменьшается в покое) и/или со стенозом позвоночного канала, радикулопатией, реже — с миелопатией. ДБД является одной из причин хронической нестабильности позвонководвигательных сегментов (ПДС) и ранней инвалидизации пациентов трудоспособного возраста. Исследования показали, что дегенерация МПД является многофакторным процессом, включающим апоптоз, воспаление, старение и биомеханические нарушения [4]. В последнее время большое внимание уделяют изучению влияния воспалительных цитокинов на развитие ДБД, дисбалансу провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [5].

Показано, что воспалительный паттерн запускает катаболические процессы в матриксе хряща скомпрометированного ПДС, дальнейшую дегенерацию экстрацеллюлярного матрикса и дегидратацию пульпозного ядра (ПЯ) и фиброзного кольца (ФК) [5, 6]. Потеря структурной целостности диска и микротрещины ФК являются причиной пролабирования содержимого ПЯ в ткань ФК и за его пределы с формированием протрузий, экструзий и секвестров. В литературе обсуждается роль TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , гиперэкспрессия IL6 и моноцитов CD16 в возникновении и прогрессировании дегенеративных изменений. Важно отметить, что экспрессия цитокинов может коррелировать с тяжестью дегенерации МПД. Роль IL6 в дегенерации диска и формировании грыжи изучена во многих работах [7]. Гипотеза об участии IL6 в дегенерации МПД человека была подтверждена тем, что при усилении экспрессии IL6 повышается представленность транскриптов катаболических генов и подавляется экспрессия генов протеогликанов [8]. Изучение роли IL17 в воспалительном каскаде при ДБД показало, что воздействие на человеческие NP-клетки IL17 и TNF $\alpha$  способствовало увеличению высвобождения IL6 *in vitro* и экспрессии молекул межклеточной адгезии ICAM-1 на поверхности клеток ПЯ и ФК [9]. Установлена ассоциация между интенсивностью болевого синдрома, грыжей МПД и воспалительным ответом. Указанные биомаркеры было предложено рассматривать в качестве предполагаемых потенциальных маркеров начала, интенсивности и прогрессирования заболевания.

Продемонстрирована возможность определения биомаркеров воспаления в сыворотке крови для

идентификации процессов дегенерации и воспаления в ткани МПД у больных с ДБД [7, 10]. Для разработки подходов к репартивной терапии ДБД были изучены молекулярные механизмы дегенерации и воспаления непосредственно в ткани самого диска [3]. IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , VEGF были верифицированы иммуногистохимическим методом у лиц разного возраста без симптомов БС [11], уровень их экспрессии в ткани диска практически не различался между группами молодых и пожилых лиц в отсутствии симптомов заболевания. Соответственно, измерение уровня цитокинов поврежденного диска является важной задачей с точки зрения поиска патогенетически обоснованной противовоспалительной и репартивной терапии. Недавно была продемонстрирована роль фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF, VFA) в васкуляризации ткани диска (в норме являющегося аваскулярной структурой) на всех стадиях дегенерации МПД. Активность VEGF реализуется путем регуляции экспрессии растворимого рецептора фактора роста эндотелия сосудов 1 (soluble vascular endothelial growth factor receptor 1) [12].

Японские исследователи, изучая механизм резорбции грыжи у больных ДБД (подтвержденный данными МРТ), проанализировали цепочку взаимодействий TNF $\alpha$ –VEGF–MMP (matrix metalloproteinases MMP-3 и MMP-7, участвующих в деградации белков экстрацеллюлярного матрикса МПД — агрегана и коллагена) и установили, что уровень экспрессии мРНК и белка VEGF был повышен в ситуации контакта макрофагов с тканью диска человека *in vitro* и напрямую зависит от уровня экспрессии TNF $\alpha$  [13]. Таким образом, было показано, что неоваскуляризация способствует «обратному развитию» межпозвоночной грыжи. Процесс врастания капилляров в ткань МПД был подтвержден при помощи магнитно-резонансной томографии (МРТ) с использованием гадолиния и может служить дополнительным критерием резорбции экструзии [14].

Взаимосвязь маркеров асептического воспаления и репарации МПД в ткани диска и их представленность в периферической крови у пациентов молодого возраста с продвинутой стадией ДБД до конца не определена. Имеются различные данные о преимущественной роли того или иного цитокина в изменении иммунологического гомеостаза МПД. Изучение профиля цитокинов (в сочетании с особенностями поражения ПДС) позволит выделить иммунные фенотипы пациентов для разработки биологических мишеней терапии и прогноза заболевания. Цель исследования заключалась в определении профиля наиболее значимых биомаркеров воспалительного повреждения (TNF $\alpha$ , IL6, IL17, IL1 $\beta$ ) и ангиогенеза (изоформ фактора роста эндотелия сосудов А — VEGF121, VEGF165 и VEGF189) в хрящевой ткани МПД и в лейкоцитах крови больных молодого возраста с ДБД, подвергшихся дисцектомии, в сравнении с контрольной группой.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе нейрохирургического отделения ГКБ № 1 имени Н. И. Пирогова и кафедры факультетской терапии имени А. И. Нестерова РНИМУ имени Н. И. Пирогова в период с 2019 по 2021 г. В нем приняли участие 87 человек (40 мужчин и 48 женщин) молодого возраста (по классификации ВОЗ 2012 г. от 18 до 44 лет). Критерии включения в основную группу: молодые пациенты (медиана возраста — 37,01 лет [35,54–

38,49]), страдающие БС, ассоциированной с ДБД, подтвержденной инструментальными данными (МРТ) (табл.). Критерии исключения: травма позвоночника на момент исследования и в анамнезе, опухолевое, инфекционное поражение позвоночника и других органов, воспалительные спондилоартриты, хирургические вмешательства в предшествующие 30 дней. Всем лицам основной группы было проведено оперативное вмешательство (микродискэктомия) по поводу грыжи МПД на соответствующем уровне в поясничном отделе позвоночника. Интенсивность болевого синдрома измеряли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) в миллиметрах. Степень функциональных ограничений в поясничном отделе позвоночника оценивали согласно индексу BAI (Backache-Index) [15]. Контрольную группу представляли здоровые добровольцы без БС (20 человек), сопоставимые по полу и возрасту. Всем больным до оперативного вмешательства и лицам группы контроля выполняли МРТ поясничного отдела позвоночника. Дегенерацию МПД оценивали на основании снижения интенсивности сигнала МПД, сужения дискового пространства, изменения структуры диска и потери границы между пульпозным ядром (ПЯ) и фиброзным кольцом (ФК). Стадии дегенерации МПД оценивали согласно классификации C. W. Pfirrmann 2001 г. (стадии дегенерации 1–5). Стадии 3, 4 и 5 рассматривали как необратимые в отношении повреждения диска, а стадии 4 и 5 трактовали как тяжелые стадии ДБД.

Фрагменты дегенерированных МПД были получены во время дисектомии. Микрочастицы МПД размером менее 1  $\text{мм}^3$  сразу погружали в стабилизирующий раствор IntactRNA (нетоксичный водный фиксатор, предназначенный для быстрой стабилизации клеточной РНК в тканях и клеточных культурах, не нарушающий целостность клеток), образцам ткани диска присваивали штрих-код, идентичный штрих-коду образцов крови пациента. Молекулярные маркеры, определяемые в образцах крови и хряща были идентичны, выбраны в соответствии с последними данными на основе обзорных статей и технической доступности лабораторной диагностики («ДНК-Технология»; Россия). Определяли уровни представленности мРНК исследуемых генов в клетках крови — лейкоцитах, ткани МПД с помощью методов обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции, используя наборы реагентов («ДНК-Технология»; Россия). Реакцию амплификации проводили в детектирующем амплификаторе DTprime 4 («ДНК-Технология»; Россия).

Получение образцов ткани МПД (1  $\text{мм}^3$ ): выделение РНК проводили, предварительно измельчая хрящевое волокно хирургическим лезвием (скальпель хирургический стерильный одноразовый производства Huaiyin Medikal Instruments Co. Ltd., China). После измельчения получали фрагмент размером 1 мм, который дополнительном измельчали растиранием конуса микроцентрифужной пробирки о дно чашки Петри до образования мельчайших частиц и налета. Затем в чашку вносили 320 мкл лизирующего раствора из набора «Проба-НК» («ДНК-Технология»; Россия). Содержимое чашки вместе с измельченным образцом переносили в микроцентрифужные пробирки «Эксиджен» (Эксиджен, Инк.; США), после чего перемешивали на вортексе «Mikrospin» FV-2400 (Biosan; Латвия) в течение 5 с и осаждали. Далее оставляли на лизис в течение 1 ч. Затем выделение РНК проводили набором «Проба-НК» («ДНК-

Технология»; Россия) согласно инструкции производителя. Выделенную РНК в объеме 16,5 мкл немедленно использовали для постановки обратной транскрипции, которую проводили при температуре 40 °C в течение 30 мин с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95 °C в течение 5 мин. Полученный раствор кДНК либо сразу использовали для постановки количественной ПЦР, либо хранили при –20 °C. Амплификацию с регистрацией результатов в режиме «реального времени» осуществляли в объеме 35 мкл по следующей программе: 50 циклов 94 °C — 10 с, 64 °C — 20 с, 72 °C — 10 с. Измерение уровня флуоресценции проводили на каждом цикле при температуре 64 °C.

Забор крови в объеме 4 мл в одноразовые пробирки Vacutainer с ЭДТА (BectonDickinson; США) проводили за сутки до оперативного вмешательства, далее кровь подвергали обработке для выделения лейкоцитов. Для получения лейкоцитарного кольца использовали набор «Проба-Фиколл» для выделения лимфоцитов из цельной крови. Выделение РНК производили набором «Проба-НК» («ДНК-Технология»; Россия) согласно инструкции производителя. Выделенную РНК в объеме 16,5 мкл немедленно использовали для постановки реакции обратной транскрипции при 40 °C в течение 30 мин с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95 °C в течение 5 мин. Полученный раствор кДНК либо сразу использовали для постановки количественной ПЦР, либо хранили при температуре –20 °C. Амплификацию с регистрацией результатов в режиме «реального времени» осуществляли в объеме 35 мкл по следующей программе: 50 циклов 94 °C — 10 с, 64 °C — 20 с, 72 °C — 10 с. Измерение уровня флуоресценции проводили на каждом цикле при температуре 64 °C.

Исследуемые гены включали TNF $\alpha$ , IL6, IL17, IL1 $\beta$ , изоформы фактора роста эндотелия сосудов A (VEGF121, VEGF165, VEGF189). Нормировочные гены представлены  $\beta 2$ -микроглобулином (B2m),  $\beta$ -глюкуронидазой (GUSB). Нормировочные значения для мРНК каждого гена рассчитывали с помощью метода  $\Delta\Delta Ct$  [16]. Уровень экспрессии мРНК генов выражали в условных единицах относительно нормировочных генов (B2m, GUSB), которые имеют относительно устойчивый уровень экспрессии.

### Статистический анализ

Для оценки статистической значимости полученных различий использовали метод непараметрической статистики (U-критерий Манна–Уитни). Количественные показатели проверяли на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Сравнение качественных показателей осуществляли с помощью критерия хи-квадрат и двухстороннего критерия Фишера для малых выборок. Различие групп считали достоверным при  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ . Анализ данных выполняли с помощью программы Statistica v 8.0 и SPSS v.10 и Graph Pad Prism.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Клинико-инструментальная характеристика пациентов

Клиническая характеристика молодых пациентов с БС представлена в табл. Среднее значение интенсивности боли соответствовало 68 мм [48,0–88,0]. Острое

Таблица. Демографическая и клинико-инструментальная характеристики изучаемых групп

Характеристика больных	Основная группа		Контрольная группа		P I-II
Число пациентов	67		20		
женщин	30	10			
мужчин	37	10			
Средний возраст, лет	Ме	LQ-UQ	Ме	LQ-UQ	
	37,01	[35,54–38,49]	34,5	[29,26–39,74]	< 0,01
Стадия дегенерации по Pfirrmann на уровне L1–L5 (среднее значение)	2,62	[2,4–3,0]	1,2	[1,1–1,8]	< 0,01
Стадия дегенерации по Pfirrmann на уровне оперируемого МПД (среднее значение)	М	σ	М	σ	
	4,26	±0,59	2,15	±1,18	< 0,01
Число больных с грыжами МПД на уровне L4–L5 на уровне L5–S1	Абс. (%)		Абс. (%)		
	24 (43) 36 (64)		1 (5) 0		< 0,01
Число больных с изменениями типа Modic (суммарно) Modic 1 Modic 2 Modic 3	47 (70) 21 (45) 26 (55) 0		1 (5) 0 1 (5) 0		< 0,01 < 0,01 < 0,01
Основная группа					
Характеристика больных	Ме	LQ–UQ			
Длительность заболевания, годы	5	[2,0–10,0]			
Продолжительность последнего болевого эпизода, недели	6	[3,0–12,0]			
Интенсивность боли (ВАШ, мм)	68	[48,0–88,0]			
Вариант течения болевого синдрома острый хронический	Абс.	%			
	12 55	18 82			
Степень функциональных нарушений (индекс БС (BAI)) легкая средняя тяжелая	11 16 40	18 24 58			

течение болевого синдрома (не более 12 недель) имели 18% больных, хроническое — 82%. Средняя продолжительность заболевания у последних составила 5 лет [2,0–10,0]. У 82% больных отмечена средняя и тяжелая степень функциональных нарушений согласно индексу BAI. Результаты МРТ поясничного отдела позвоночника продемонстрировали значительное сужение межпозвонкового пространства, исчезновение границы между ПЯ и ФК и снижение интенсивности сигнала от ПЯ. На уровне оперируемого диска стадия дегенерации МПД по Pfirrmann соответствовала 4-й и 5-й стадиям у 66% и 33% пациентов основной группы соответственно. Грыжи локализовались на уровнях L4–L5, L5–S1 в соотношении 36 и 64% соответственно. У 70% больных при МР-визуализации на уровне оперируемого диска были выявлены изменения интенсивности МР-сигнала от костного мозга в T2-взвешенном изображении и режиме подавления жировой ткани (STIR), отражавшие почти в равном соотношении отек костного мозга — Modic I (45% больных) (рис. 1) и жировую дегенерацию — Modic II (55%). В группе контроля Modic-изменения были выявлены только у 1 (5%) пациента из 20, и они также были ассоциированы с тяжелой стадией ДБД и наличием грыжи МПД, имевшей бессимптомное течение. У 37 лиц (53,6%) основной группы по данным МРТ было выявлено сочетание грыжи МПД с эрозивным поражением замыкательных пластин прилежащих тел позвонков (ЗП)

и наличием Modic-изменений. Такое «тройное сочетание» ассоциировалось с большей продолжительностью БС в годах, болью в утренние часы и персистирующими течением хронической боли без «светлых промежутков» ( $p < 0,05$ ) по сравнению с пациентами без эрозивного поражения ЗП и/или Modic-изменений. У пациентов основной группы среднее значение стадии ДБД по Pfirrmann и частота встречаемости Modic-изменений статистически значимо отличались от контрольной группы (4,4 и 2,8 для стадии ДБД, 70 и 5% для Modic;  $p < 0,01$ ). Полученные данные подтверждают взаимосвязь Modic-изменений с наличием грыжи МПД и тяжелой стадией ДБД.

#### Представленность мРНК цитокинов и изоформ фактора роста эндотелия сосудов в ткани МПД

Из всего профиля мРНК исследуемых генов цитокинов и изоформ фактора роста эндотелия сосудов в хрящевой ткани экспрессия TNF $\alpha$ , IL17, VEGF121, VEGF165 была статистически значимо повышенна ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой (рис. 2). Сопоставление уровня экспрессии мРНК всех исследуемых генов основной группы со стадией дегенерации МПД по Pfirrmann выявило положительную корреляцию уровня экспрессии TNF $\alpha$  со стадией дегенерации МПД ( $r = 0,301$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 3). Несмотря на то что уровень экспрессии мРНК IL1 $\beta$  не имел статистически значимых различий с группой контроля,

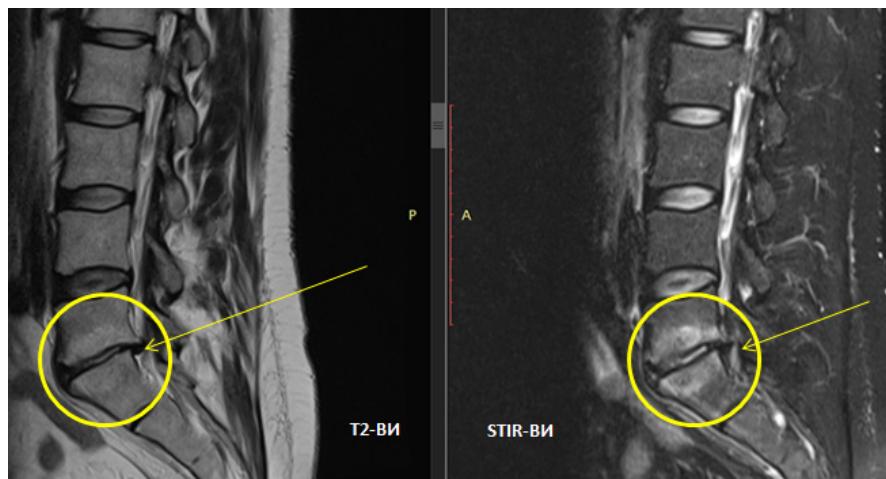


Рис. 1. Пациент К. 37 лет, с БС, ДБД 4-й стадии по Pfirrmann на уровне L5-S1 с грыжей МПД (стрелка) и изменениями тел позвонков по типу Modic-1 (желтый контур). T2- и STIR-взвешенные изображения

представленность этого гена в ткани диска коррелировала с тяжестью его дегенерации ( $r = 0,37$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 4).

С точки зрения прогрессирования дезорганизации вещества МПД интересно было оценить маркеры васкуляризации хряща на 4-й и 5-й стадиях дегенерации МПД. Для факторов роста эндотелия сосудов была выявлена статистически значимая обратная корреляционная зависимость уровня VEGF121 со стадией дегенерации МПД ( $r = -0,85$ ;  $p < 0,001$ ), что может свидетельствовать о снижении интенсивности ангиогенеза в диске на продвинутых стадиях ДБД.

#### Анализ представленности генов в клетках крови

Дальнейший анализ был направлен на определение мРНК цитокинов и ростовых факторов в лейкоцитах периферической крови. В нашем исследовании выявлено статистически значимое повышение уровня представленности генов интерлейкинов IL1 $\beta$ , IL6 ( $p < 0,01$ ) (рис. 5). Анализ зависимости уровня экспрессии мРНК

цитокина IL6 в периферичекой крови со стадией дегенерации МПД показал снижение уровня цитокина на последней стадии дегенерации диска по Pfir ( $r = -0,347$ ;  $p < 0,05$ ), свидетельствуя о его значимом вкладе в дегенерацию на более ранних стадиях.

Учитывая высокую частоту встречаемости реактивных изменений тел позвонков по типу Modic (70%) в основной группе, мы проанализировали взаимосвязь уровня экспрессии цитокинов с наличием Modic-изменений. Была выявлена статистически значимая обратная корреляционная зависимость уровня IL6 в клетках крови со стадиями Modic-изменений I и II ( $r = -0,31$ ;  $p < 0,05$ ), что свидетельствует о повышенной экспрессии цитокина на стадии воспалительного отека костного мозга по сравнению со стадией жировой трансформации прилежащих тел позвонков. Было выявлено повышение уровня экспрессии IL17 в периферической крови у лиц с более тяжелым поражением позвонководвигательного сегмента — тройным сочетанием (грыжа + эрозия ЗП + Modic) ( $r = 0,401$ ;  $p < 0,05$ ) по сравнению с лицами при

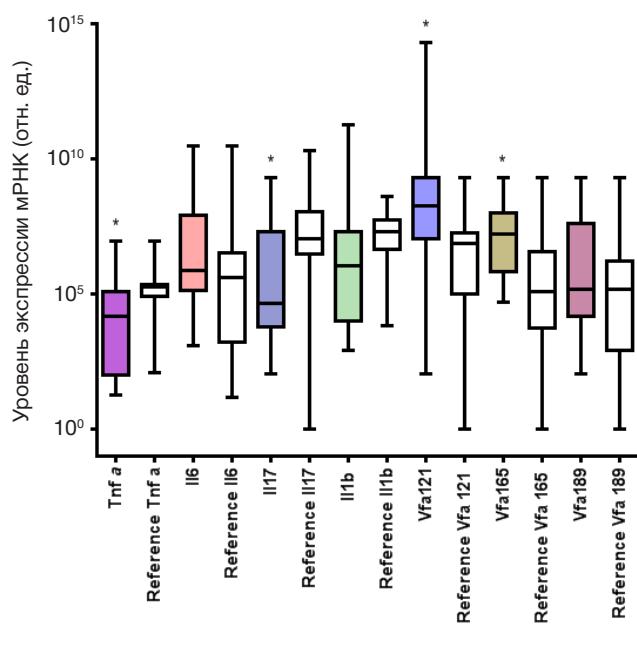


Рис. 2. Уровень экспрессии мРНК исследуемых генов относительно нормировочных генов (B2m, GUSB) в ткани МПД пациентов основной и контрольной групп (\* —  $p < 0,01$ )

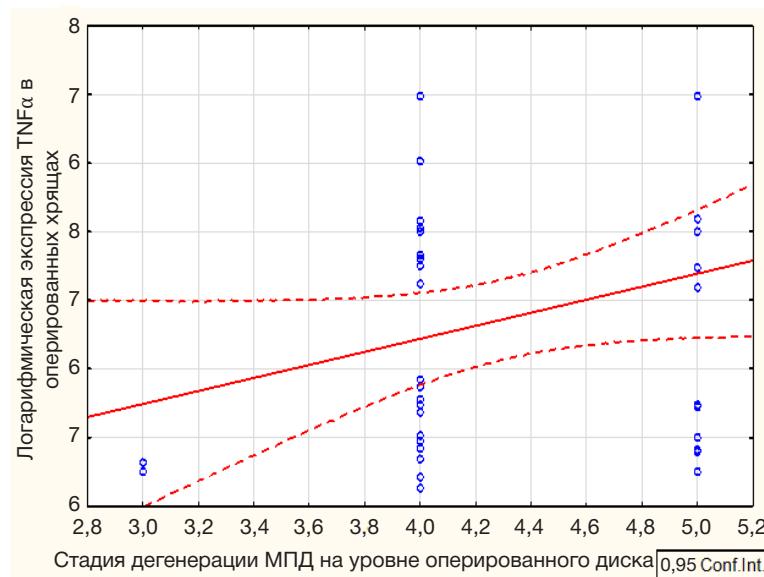


Рис. 3. Корреляционная зависимость уровня экспрессии мРНК TNF $\alpha$  в ткани МПД со стадией дегенерации по Pfirrmann у пациентов основной группы

наличии только грыжи. Несмотря на низкий уровень представленности биомаркеров ангиогенеза в крови пациентов с БС, мы решили проследить, изменяется ли уровень экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (его изоформ 121, 165, 189) в зависимости от стадий дегенерации МПД: для всех трех изоформ была получена обратная, статистически значимая, корреляция ( $r = -0,44$ ,  $-0,33$  и  $-0,45$  соответственно;  $p < 0,05$ ).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение патофизиологии БС у молодых пациентов подтвердило наличие иммуновоспалительного звена в дегенерации диска. Высокие уровни экспрессии TNF $\alpha$  и рецепторов к TNF $\alpha$ , особенно в ткани ФК, были выявлены у пациентов с ДБД и в других работах [17, 18]. Именно этот цитокин описывается в экспериментах как выраженный индуктор деградации матрикса, особенно на ранних стадиях, по сравнению с другими медиаторами [19]. Выявленная нами сопряженная экспрессия TNF $\alpha$  и IL17 обнаружена в двух работах китайских исследователей и подтверждена влиянием этанерцепта (ингибитор рецептора TNF $\alpha$ ), которых способен блокировать весь воспалительный

каскад в ткани ПЯ диска [20, 21]. Патогенетическая связь иммунного воспаления с васкуляризацией диска в нашей работе продемонстрирована в зарубежных работах на людях и на животных [22, 23].

Ассоциация повышенной экспрессии гена IL6 в периферической крови с изменениями Modic, а именно со стадией воспалительного отека костного мозга, продемонстрирована также в работе китайских исследователей, в которой уровень экспрессии IL6 был значимо повышен у пожилых пациентов с ДБД и Modic I в сравнении с Modic-изменениями II типа [24]. Выявленные изменения подтверждают факт развития реактивного асептического спондилита у пациентов с тяжелой ДБД. Выявление повышенной экспрессии IL17 у лиц с тройным вариантом поражения ПДС позволяет говорить о наличии неблагоприятного клинико-инструментального фенотипа БС с иммунологическим маркером на системном уровне.

Известно, что по классификации Pfirrmann 5-я стадия дегенерации МПД характеризуется резким снижением высоты МПД, низкоинтенсивным и неоднородным сигналом от ПЯ, что соответствует тяжелой, почти полной дегидратации ПЯ с дезинтеграцией межклеточного вещества и замещением центрального пространства

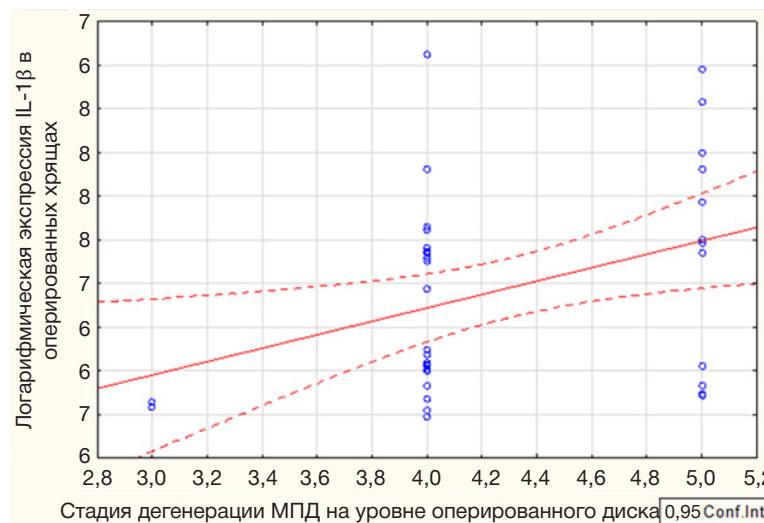


Рис. 4. Корреляционная зависимость уровня экспрессии мРНК IL1 $\beta$  в ткани МПД со стадией дегенерации по Pfirrmann у пациентов основной группы

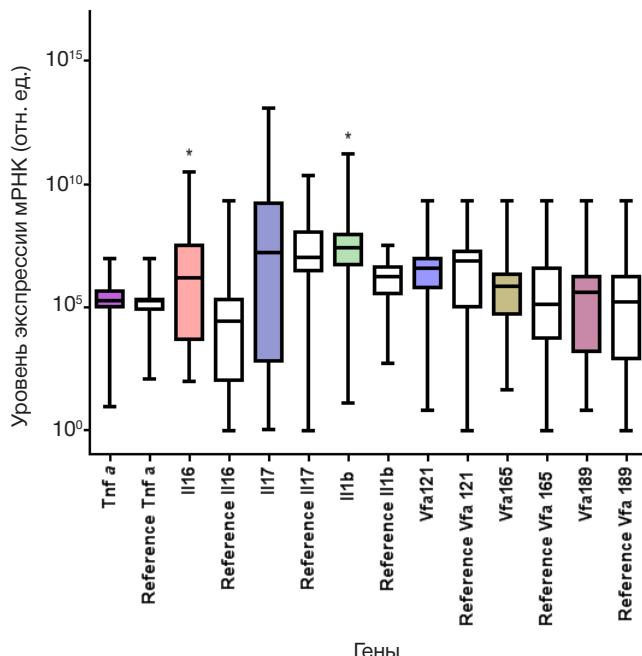


Рис. 5. Уровень экспрессии мРНК исследуемых генов относительно нормировочных генов (B2m, GUSB) в лейкоцитах крови пациентов основной и контрольной групп ( $p < 0,01$ )

диска коллагеном 1-го типа и стиранием границы между ПЯ и ФК [25]. Различая процесс естественной дегенерации диска, ассоциированной с возрастом, и патологической дегенерации, мы хотим подчеркнуть принципиальную роль воспалительных маркеров в развитии второго варианта, особенно ярко проявляющегося тяжелой степенью дегенерации у лиц молодого возраста [26]. К четвертому году жизни диск теряет кровеносные сосуды и капилляры и становится полностью аваскулярной структурой [27]. По мере развития «низкоиммунного» воспаления в ткани МПД неоваскуляризация является способом доставки иммуннокомпетентных клеток из системного кровотока в хрящевую ткань с последующей активацией катаболических процессов [28] и резорбции ткани выпавшего за пределы ФК фрагмента. Фактор роста эндотелия сосудов A (VEGF) является одним из основных регуляторов ангиогенеза. Он играет важную роль в процессе физиологической и патологической неоваскуляризации [29]. Стимуляцию экспрессии VEGF обеспечивает активность хондроцитов, находящихся в виде кластеров в ПЯ. При 5-й стадии ДБД диск полностью утрачивает ПЯ вместе со всем его клеточным содержимым, что, вероятнее всего, прерывает цепочку стимуляции ангиогенеза в этой ситуации. Эти данные не противоречат исследованию, показавшему, что уровни экспрессии ангиогенного фактора VEGF в слабодегенерированных образцах МПД были статистически значимо выше, чем на продвинутых стадиях дегенерации [12]. Учитывая низкие репаративные способности диска на 5-й стадии дегенерации, наиболее перспективно использование биоинженерной терапии с

применением тканевой инженерии и восстановлением трехмерного каркаса МПД с последующим ведением клеточной терапии.

## ВЫВОДЫ

Выполненное исследование помогает уточнить спектр активированных генов, экспрессирующих цитокины, и демонстрирует их воспалительный профиль в ткани МПД и периферической крови в зависимости от выраженности ДБД и распространенности поражения ПДС. Представленность мРНК изучаемых цитокинов и изоформ фактора роста эндотелия сосудов в ткани МПД (TNF $\alpha$ , IL17, VEGF121, VEGF165) была повышена для лиц с БС и ДБД. Уровень экспрессии фактора роста эндотелия сосудов, отражающий возможные процессы неоваскуляризации, показал резкий спад на последней стадии ДБД как в ткани МПД, так и в периферической крови, в то время как уровни цитокинов TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  в хрящевой ткани прямо коррелировали с тяжестью дегенерации МПД, что согласуется с теорией иммунного воспаления при ДБД. Уровни экспрессии гена IL6 в лейкоцитах крови оказались повышенными при Modic-изменениях и в большей степени ассоциировались с воспалительным отеком костного мозга прилежащих тел позвонков на уровне скомпрометированного сегмента, а уровни экспрессии IL17 — повышенным при наличии грыжи в сочетании с эрозией ЗП и Modic-изменениями. Полученные результаты помогут определить молекулярные мишени и новые направления в противовоспалительной и репаративной терапии ДБД.

## Литература

1. Zwierzchowska A, Tuz J. Evaluation of the impact of sagittal spinal curvatures on musculoskeletal disorders in young people. Med Pr. 2018; 69 (1): 29–36. DOI: 10.13075/mp.5893.00558.
2. Fujii K, Yamazaki M, Kang JD, Risbud MV, Cho SK, Qureshi SA, et al. Discogenic Back Pain: Literature Review of Definition, Diagnosis, and Treatment JBMR Plus. 2019; 3 (5): e10180. DOI: 10.1002/jbm4.10180.
3. Anitua E, Padilla S. Biologic therapies to enhance intervertebral disc repair. RegenMed. 2018; 13 (1): 55–72. DOI: 10.2217/rme-2017-0111.

4. Hu S, Fu Y, Yan B, Shen Z, Lan T. Analysis of key genes and pathways associated with the pathogenesis of intervertebral disc degeneration. *J Orthop Surg Res.* 2020; 15 (1): 371. DOI: 10.1186/s13018-020-01902-4.
5. Li Y, Liu J, Liu Z, Duan D. Inflammation in low back pain may be detected from the peripheral blood: suggestions for biomarker. *Biosci Rep.* 2016; 36 (4): e00361. DOI: 10.1042/BSR20160187.
6. Hodgkinson T, Shen B, Diwan A, Hoyland JA, Richardson SM. Therapeutic potential of growth differentiation factors in the treatment of degenerative disc diseases. *Spine.* 2019; 2 (1): e1045. DOI: 10.1002/jsp2.1045.
7. Kraychete DC, Sakata RK, Issy AM, Bacellar O, Santos-Jesus R, Carvalho EM. Serum cytokine levels in patients with chronic low back pain due to herniated disc: analytical cross-sectional study. *Sao Paulo Med J.* 2010; 128 (5): 259–62. DOI: 10.1590/s1516-31802010000500003.
8. Studer RK, Vo N, Sowa G, Ondeck C, Kang J. Human nucleus pulposus cells react to IL6: independent actions and amplification of response to IL1 and TNF $\alpha$ . *Spine.* 36: 593–9. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3181da38d5
9. Gabr MA, Jing L, Helbling AR, Sinclair SM, Allen KD, Shamji MF, et al. Interleukin-17 synergizes with IFN $\gamma$  or TNF $\alpha$  to promote inflammatory mediator release and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in human intervertebral disc cells. *J Orthop Res.* 2011; 29 (1): 1–7. DOI: 10.1002/jor.21206.
10. Rodrigues LMR, Oliveira LZ, Silva MBRD, Accardo CM, Giglio ABD, Pinhal MADS. Inflammatory biomarkers in sera of patients with intervertebral disc degeneration. *Einstein (Sao Paulo).* 2019; 17 (4): eAO4637. DOI: 10.31744/einstein\_journal/2019AO4637.
11. Baptista JS, Traynelis VC, Liberti EA, Fontes RBV. Expression of degenerative markers in intervertebral discs of young and elderly asymptomatic individuals. *PLoS One.* 2020; 15 (1): e0228155. DOI: 10.1371/journal.pone.0228155.
12. Capossela S, Bertolo A, Gunasekera K, Pötzl T, Baur M, Stoyanov JV. VEGF vascularization pathway in human intervertebral disc does not change during the disc degeneration process. *BMC Res Notes.* 2018; 11: 333 DOI: 10.1186/s13104-018-3441-3.
13. Haro H, Kato T, Komori H, Osada M, Shinomiya K. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced angiogenesis in herniated disc resorption. *J Orthop Res.* 2002; 20 (3): 409–15. DOI: 10.1016/S0736-0266(01)00150-4
14. Autio RA, Karppinen J, Niinimäki J, Ojala R, Kurunlahti M, Haapea M, et al. Determinants of spontaneous resorption of intervertebral disc herniations. *Spine.* 2006; 31 (11): 1247–52. DOI: 10.1097/01.brs.0000217681.83524.4a.
15. Longo UG, Loppini M, Denaro L, Maffulli N, Denaro V. Rating scales for low back pain. *Br Med Bull.* 2010; 94: 81–144. DOI: 10.1093/bmb/ldp052.
16. Farasyn A, Meeusen R. Validity of the new Backache Index (BAI) in patients with low back pain. *Spine J.* 2006; 6 (5): 565–71. DOI: 10.1016/j.spinee.2006.01.021.
17. Ребриков Д. В., Саматов Г. А., Трофимов Д. Ю. ПЦР в реальном времени. М.: Лаборатория знаний, 2019; 216 с.
18. Andrade P, Visser-Vandewalle V, Philippens M, Daemen MA, Steinbusch HWM, Buurman WA, et al. TNF-alpha levels correlate with postoperative pain severity in lumbar disc hernia patients: opposite clinical effects between TNF receptor 1 and 2. *Pain.* 2011; 152: 2645–52. DOI: 10.1016/j.pain.2011.08.012.
19. Altun I. Cytokine profile in degenerated painful intervertebral disc: variability with respect to duration of symptoms and type of disease. *Spine J.* 2016; 16 (7): 857–61. DOI: 10.1016/j.spinee.2016.03.019.
20. Kang R, Li H, Rickers K, Ringgaard S, Xie L, Bünger C. Intervertebral disc degenerative changes after intradiscal injection of TNF $\alpha$  in a porcine model. *Eur Spine J.* 2015; 24 (9): 2010–6. DOI: 10.1007/s00586-015-3926-x.
21. Wang S, Wei J, Fan Y, Ding H, Tian H, Zhou X, et al. Progranulin Is Positively Associated with Intervertebral Disc Degeneration by Interaction with IL10 and IL17 Through TNF Pathways. *Inflammation.* 2018; 41 (5): 1852–63. DOI: 10.1007/s10753-018-0828-1.
22. Wang SS, Zhang W, Zhang YQ, Zhao Y, Liu Y, Li JK, et al. IL17A enhances ADAMTS-7 expression through regulation of TNF $\alpha$  in human nucleus pulposus cells. *J Mol Histol.* 2015; 46 (6): 475–83. DOI: 10.1007/s10735-015-9640-5.
23. Ohba T, Haro H, Ando T, Wako M, Suenaga F, Aso Y, et al. TNF-alpha-induced NF- $\kappa$ B signaling reverses age-related declines in VEGF induction and angiogenic activity in intervertebral disc tissues. *J Orthop Res.* 2009; 27 (2): 229–35. DOI: 10.1002/jor.20727.
24. Binch AL, Cole AA, Breakwell LM, Michael AL, Chiverton N, Cross AK, et al. Expression and regulation of neurotrophic and angiogenic factors during human intervertebral disc degeneration. *Arthritis Res Ther.* 2014; 16 (5): 416. DOI: 10.1186/s13075-014-0416-1.
25. Zhang JF, Wang GL, Zhou ZJ, Fang XQ, Chen S, Fan SW. Expression of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, and Interleukins in Vertebral Cartilage Endplate. *Orthop Surg.* 2018; 10 (4): 306–11. DOI: 10.1111/os.12409.
26. Oh CH, Yoon SH. Whole Spine Disc Degeneration Survey according to the Ages and Sex Using Pfirrmann Disc Degeneration Grades. *Korean J Spine.* 2017; 14 (4): 148–54. DOI: 10.14245/kjs.2017.14.4.148.
27. Akyol S, Eraslan BS, Etyemez H, Tanrıverdi T, Hancı M. Catabolic cytokine expressions in patients with degenerative disc disease. *Turk Neurosurg.* 2010; 20 (4): 492–9. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.3394-10.1.
28. Takeno K, Kobayashi S, Negoro K, Uchida K, Miyazaki T, Yayama T, et al. Physical limitations to tissue engineering of intervertebral disc cells: effect of extracellular osmotic change on glycosaminoglycan production and cell metabolism. Laboratory investigation. *J Neurosurg Spine.* 2007; 7 (6): 637–44. DOI: 10.3171/SPI-07/12/637.
29. Chung SA, Khan SN, Diwan AD. The molecular basis of intervertebral disk degeneration. *Orthop Clin North Am.* 2003; 34 (2): 209–19. DOI: 10.1016/s0030-5898(03)00026-9.

## References

1. Zwierzchowska A, Tuz J. Evaluation of the impact of sagittal spinal curvatures on musculoskeletal disorders in young people. *Med Pr.* 2018; 69 (1): 29–36. DOI: 10.13075/mp.5893.00558.
2. Fujii K, Yamazaki M, Kang JD, Risbud MV, Cho SK, Qureshi SA, et al. Discogenic Back Pain: Literature Review of Definition, Diagnosis, and Treatment *JBMR Plus.* 2019; 3 (5): e10180. DOI: 10.1002/jbm4.10180.
3. Anitua E, Padilla S. Biologic therapies to enhance intervertebral disc repair. *RegenMed.* 2018; 13 (1): 55–72. DOI: 10.2217/rme-2017-0111.
4. Hu S, Fu Y, Yan B, Shen Z, Lan T. Analysis of key genes and pathways associated with the pathogenesis of intervertebral disc degeneration. *J Orthop Surg Res.* 2020; 15 (1): 371. DOI: 10.1186/s13018-020-01902-4.
5. Li Y, Liu J, Liu Z, Duan D. Inflammation in low back pain may be detected from the peripheral blood: suggestions for biomarker. *Biosci Rep.* 2016; 36 (4): e00361. DOI: 10.1042/BSR20160187.
6. Hodgkinson T, Shen B, Diwan A, Hoyland JA, Richardson SM. Therapeutic potential of growth differentiation factors in the treatment of degenerative disc diseases. *Spine.* 2019; 2 (1): e1045. DOI: 10.1002/jsp2.1045.
7. Kraychete DC, Sakata RK, Issy AM, Bacellar O, Santos-Jesus R, Carvalho EM. Serum cytokine levels in patients with chronic low back pain due to herniated disc: analytical cross-sectional study. *Sao Paulo Med J.* 2010; 128 (5): 259–62. DOI: 10.1590/s1516-31802010000500003.
8. Studer RK, Vo N, Sowa G, Ondeck C, Kang J. Human nucleus pulposus cells react to IL6: independent actions and amplification of response to IL1 and TNF $\alpha$ . *Spine.* 36: 593–9. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3181da38d5
9. Gabr MA, Jing L, Helbling AR, Sinclair SM, Allen KD, Shamji MF, et al. Interleukin-17 synergizes with IFN $\gamma$  or TNF $\alpha$  to promote

- inflammatory mediator release and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in human intervertebral disc cells. *J Orthop Res.* 2011; 29 (1): 1–7. DOI: 10.1002/jor.21206.
10. Rodrigues LMR, Oliveira LZ, Silva MBRD, Accardo CM, Giglio ABD, Pinhal MADS. Inflammatory biomarkers in sera of patients with intervertebral disc degeneration. *Einstein (Sao Paulo).* 2019; 17 (4): eAO4637. DOI: 10.31744/einstein\_journal/2019AO4637.
  11. Baptista JS, Traynelis VC, Liberti EA, Fontes RBV. Expression of degenerative markers in intervertebral discs of young and elderly asymptomatic individuals. *PLoS One.* 2020; 15 (1): e0228155. DOI: 10.1371/journal.pone.0228155.
  12. Capossela S, Bertolo A, Gunasekera K, Pötzl T, Baur M, Stoyanov JV. VEGF vascularization pathway in human intervertebral disc does not change during the disc degeneration process. *BMC Res Notes.* 2018; 11: 333 DOI: 10.1186/s13104-018-3441-3.
  13. Haro H, Kato T, Komori H, Osada M, Shinomiya K. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced angiogenesis in herniated disc resorption. *J Orthop Res.* 2002; 20 (3): 409–15. DOI: 10.1016/S0736-0266(01)00150-4.
  14. Autio RA, Karppinen J, Niinimäki J, Ojala R, Kurunlahti M, Haapea M, et al. Determinants of spontaneous resorption of intervertebral disc herniations. *Spine.* 2006; 31 (11): 1247–52. DOI: 10.1097/01.brs.0000217681.83524.4a.
  15. Longo UG, Loppini M, Denaro L, Maffulli N, Denaro V. Rating scales for low back pain. *Br Med Bull.* 2010; 94: 81–144. DOI: 10.1093/bmb/ldp052.
  16. Farasyn A, Meeusen R. Validity of the new Backache Index (BAI) in patients with low back pain. *Spine J.* 2006; 6 (5): 565–71. DOI: 10.1016/j.spinee.2006.01.021.
  17. Rebrikov DV, Samatov GA, Trofimov DYU. PCR v real'nom vremeni. M.: Laboratoriya znanij, 2019; 216s.
  18. Andrade P, Visser-Vandewalle V, Philippens M, Daemen MA, Steinbusch HWM, Buurman WA, et al. TNF-alpha levels correlate with postoperative pain severity in lumbar disc hernia patients: opposite clinical effects between TNF receptor 1 and 2. *Pain.* 2011; 152: 2645–52. DOI: 10.1016/j.pain.2011.08.012.
  19. Altun I. Cytokine profile in degenerated painful intervertebral disc: variability with respect to duration of symptoms and type of disease. *Spine J.* 2016; 16 (7): 857–61. DOI: 10.1016/j.spinee.2016.03.019.
  20. Kang R, Li H, Rickers K, Ringgaard S, Xie L, Bünger C. Intervertebral disc degenerative changes after intradiscal injection of TNF $\alpha$  in a porcine model. *Eur Spine J.* 2015; 24 (9): 2010–6. DOI: 10.1007/s00586-015-3926-x.
  21. Wang S, Wei J, Fan Y, Ding H, Tian H, Zhou X, et al. Progranulin Is Positively Associated with Intervertebral Disc Degeneration by Interaction with IL10 and IL17 Through TNF Pathways. *Inflammation.* 2018; 41 (5): 1852–63. DOI: 10.1007/s10753-018-0828-1.
  22. Wang SS, Zhang W, Zhang YQ, Zhao Y, Liu Y, Li JK, et al. IL17A enhances ADAMTS-7 expression through regulation of TNF $\alpha$  in human nucleus pulposus cells. *J Mol Histol.* 2015; 46 (6): 475–83. DOI: 10.1007/s10735-015-9640-5.
  23. Ohba T, Haro H, Ando T, Wako M, Suenaga F, Aso Y, et al. TNF-alpha-induced NF-kappaB signaling reverses age-related declines in VEGF induction and angiogenic activity in intervertebral disc tissues. *J Orthop Res.* 2009; 27 (2): 229–35. DOI: 10.1002/jor.20727.
  24. Binch AL, Cole AA, Breakwell LM, Michael AL, Chiverton N, Cross AK, et al. Expression and regulation of neurotrophic and angiogenic factors during human intervertebral disc degeneration. *Arthritis Res Ther.* 2014; 16 (5): 416. DOI: 10.1186/s13075-014-0416-1.
  25. Zhang JF, Wang GL, Zhou ZJ, Fang XQ, Chen S, Fan SW. Expression of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, and Interleukins in Vertebral Cartilage Endplate. *Orthop Surg.* 2018; 10 (4): 306–11. DOI: 10.1111/os.12409.
  26. Oh CH, Yoon SH. Whole Spine Disc Degeneration Survey according to the Ages and Sex Using Pfirrmann Disc Degeneration Grades. *Korean J Spine.* 2017; 14 (4): 148–54. DOI: 10.14245/kjs.2017.14.4.148.
  27. Akyol S, Eraslan BS, Etyemez H, Tanrıverdi T, Hancı M. Catabolic cytokine expressions in patients with degenerative disc disease. *Turk Neurosurg.* 2010; 20 (4): 492–9. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.3394-10.1.
  28. Takeno K, Kobayashi S, Negoro K, Uchida K, Miyazaki T, Yayama T, et al. Physical limitations to tissue engineering of intervertebral disc cells: effect of extracellular osmotic change on glycosaminoglycan production and cell metabolism. Laboratory investigation. *J Neurosurg Spine.* 2007; 7 (6): 637–44. DOI: 10.3171/SPI-07/12/637.
  29. Chung SA, Khan SN, Diwan AD. The molecular basis of intervertebral disk degeneration. *Orthop Clin North Am.* 2003; 34 (2): 209–19. DOI: 10.1016/s0030-5898(03)00026-9.

## ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ЛАЗЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ ДРУЗЕНОИДНОЙ ОТСЛОЙКИ РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Х. П. Тахчиди, Н. Х. Тахчиди, Т. А. Касмымнина, Н. А. Махно 

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Друзеноидная отслойка ретинального пигментного эпителия — патологическое состояние, при котором ретинальный пигментный эпителий отделяется от подлежащей мембранны Бруха вследствие образования и накопления друзеноидного материала. Заболевание представляет собой промежуточную стадию возрастной макулярной дегенерации, является фактором риска прогрессирования возрастной макулярной дегенерации до поздней стадии с развитием географической атрофии, что приводит к необратимой потере центрального зрения. В основном ведение пациентов с данной патологией сводится к динамическому наблюдению. Представлена возможность использования комбинированного лазерного лечения с низкоэнергетическими параметрами при лечении друзеноидной отслойки ретинального пигментного эпителия сетчатки. Полученные результаты применения лазерной коагуляции сетчатки свидетельствуют о восстановлении морфофункциональных показателей: ликвидации отслойки ретинального пигментного эпителия, повышении зрительных функций и восстановлении микроархитектоники сетчатки.

**Ключевые слова:** возрастная макулярная дегенерация, друзеноидная отслойка ретинального пигментного эпителия, сетчатка, микроимпульсное лазерное воздействие

**Вклад авторов:** Х. П. Тахчиди — концепция и дизайн исследования, редактирование текста; Н. Х. Тахчиди — анализ литературных данных; Т. А. Касмымнина — лазерное лечение пациента; Н. А. Махно — сбор и обработка материала, написание текста.

**Соблюдение этических стандартов:** от пациента получено добровольное информированное согласие на лазерное лечение и обработку персональных данных.

 **Для корреспонденции:** Надежда Александровна Махно  
Волоколамское шоссе, д. 30, корпус 2, г. Москва, 123182, Россия; nadezda.mahno7@gmail.com

**Статья получена:** 24.11.2021 **Статья принята к печати:** 16.12.2021 **Опубликована онлайн:** 29.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.067

## LONG-TERM EFFECTS OF MULTIMODALITY LASER THERAPY IN PATIENT WITH DRUSENOID PIGMENT EPITHELIAL DETACHMENT

Takhchidi KhP, Takhchidi NKh, Kasmynina TA, Mahno NA 

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Drusenoid pigment epithelial detachment is a condition characterized by separation of the retinal pigment epithelium from the underlying Bruch's membrane due to formation of drusenoid deposits. The disorder represents the intermediate stage of the age-related macular degeneration, and is a risk factor for the age-related macular degeneration progression to late stage characterized by geographic atrophy, which results in the irreversible central vision loss. Management of patients with this disorder is in most cases limited to follow-up. The feasibility of using the multimodality low power mode laser therapy for treatment of drusenoid pigment epithelial detachment is reported. The results of laser photocoagulation of the retina demonstrate the morphological and functional recovery: retinal pigment epithelial sealing, improvement of visual function, and restored retinal architecture.

**Keywords:** age-related macular degeneration, drusenoid pigment epithelial detachment, retina, micropulse laser

**Author contribution:** Takhchidi KhP — study concept and design, manuscript editing; Takhchidi NKh — literature analysis; Kasmynina TA — laser therapy; Mahno NA — data acquisition and processing, manuscript writing.

**Compliance with ethical standards:** the patients submitted the informed consent to laser therapy and personal data processing.

 **Correspondence should be addressed:** Надежда А. Махно  
Волоколамское шоссе, 30, кв. 2, Москва, 123182, Россия; nadezda.mahno7@gmail.com

**Received:** 24.11.2021 **Accepted:** 16.12.2021 **Published online:** 29.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.067

На сегодняшний день одной из ведущих причин необратимого снижения центрального зрения преимущественно у лиц пожилого возраста является возрастная макулярная дегенерация (ВМД). По данным литературы, распространенность ВМД среди лиц в возрасте 45–85 лет составляет 8,96% с преобладанием ранней стадии заболевания (8,01%) [1].

Согласно общепринятой классификации Age-Related Eye Disease Study (AREDS), ВМД подразделяют на четыре категории. Категорию 1 AREDS (отсутствие ВМД) характеризует отсутствие друз или наличие небольшого количества мелких друз диаметром < 63 мкм. Категории 2 AREDS (ранняя стадия ВМД) соответствует множество мелких друз и/или небольшое число средних друз диаметром 63–124 мкм или начальные изменения ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Для категории 3 AREDS (промежуточная стадия ВМД) характерно множество друз

среднего размера и/или одна большая друда диаметром более 125 мкм или атрофия РПЭ, не затрагивающая центральные отделы сетчатки. При категории 4 AREDS (поздняя стадия ВМД) происходит атрофия РПЭ и хориокапиллярного слоя в центральной области сетчатки и/или развитие неоваскулярной макулопатии [2].

Друзеноидная отслойка ретинального пигментного эпителия (ДОРПЭ), при которой РПЭ с его базальной мемброй отделяется от внутреннего коллагенового слоя подлежащей мембранны Бруха вследствие образования и накопления друзеноидного материала, представляет собой промежуточную стадию течения ВМД. Впервые данная форма отслойки РПЭ сетчатки была описана A. G. Casswell в 1985 г. [3, 4].

На сегодняшний день патофизиологические механизмы образования ДОРПЭ до конца не изучены. Считается, что формирование данной патологии происходит в

результате постепенного увеличения и слияния большого количества ранее существующих мягких друз, что приводит к локальной отслойке РПЭ сетчатки диаметром не менее 350 мкм. По мере роста ДОРПЭ длительное разобщение клеток РПЭ с комплексом мембрана Бруха / хориокапилляры приводит, с одной стороны, к их миграции в наружные слои сетчатки, с другой стороны, к их апоптозу. Длительное существование ДОРПЭ, сопровождающееся уменьшением количества клеток РПЭ и их альтерацией, приводит к дисфункции фоторецепторов с последующей атрофией. В итоге при коллапсе ДОРПЭ регистрируется зона полной атрофии РПЭ с атрофией наружных слоев нейросенсорной сетчатки [5, 6].

В случае длительного существования ДОРПЭ с последующим ее регрессом наиболее частыми симптомами являются: снижение остроты зрения, метаморфопсии, затруднение или невозможность чтения вблизи. При этом для отслойки РПЭ, выявленной на ранних этапах развития, характерны высокие зрительные функции [5–8].

Использование спектральной оптической когерентной томографии (СОКТ) в оценке морфометрических изменений в слоях сетчатки при ДОРПЭ позволило выделить факторы риска прогрессирования заболевания, такие как высота, объем, диаметр отслоенного РПЭ, а также наличие интракретинального и субретинального гиперрефлексивного материала над отслойкой РПЭ. Данные риски изучали в отношении ДОРПЭ, локализующихся в пределах 500 мкм от фовеа [6, 7].

В настоящее время нет эффективного и безопасного метода лечения ДОРПЭ. При диагностировании данной патологии, в большинстве случаев, ведение больных сводится к динамическому наблюдению за процессом. Однако при естественном течении патологического процесса в течение 5 лет развивается поздняя стадия ВМД (в 42% случаях) с формированием географической атрофии в макулярной области (в 19% случаях), что приводит к необратимой потере зрительных функций, а также снижению качества жизни, ограничению жизнедеятельности и ухудшению трудового прогноза [3, 7, 8].

Консервативное лечение, включающее применение антиоксидантных препаратов, минералов и витамином, не предотвращает развития более продвинутых стадий ВМД, что было подтверждено в ходе исследований, и требует постоянного применения данных препаратов на протяжении всего периода жизни пациента [9].

Большинство исследований по оценке эффективности и безопасности применения лазерных технологий при промежуточной стадии ВМД в основном были сосредоточены на поиске путей замедления прогрессирования заболевания и уменьшения количества различных видов мягких друз [10–15].

В связи с высоким риском прогрессирования ДОРПЭ до развития поздней стадии ВМД и последующего существенного снижения зрительных функций пациентов актуален поиск эффективного и безопасного метода лечения данного заболевания. Цель работы — показать и оценить отдаленные морфофункциональные результаты применения комбинированного лазерного лечения у пациента с ДОРПЭ, полученные в течение 5 лет динамического наблюдения.

### Описание клинического случая

Пациент Ш., 74 года, обратился в Научно-исследовательский центр офтальмологии РНИМУ им. Н. И. Пирогова в

июле 2017 г. с жалобами на снижение остроты зрения обоих глаз, метаморфопсии и затруднение при чтении текста вблизи двумя глазами. Из анамнеза известно, что вышеуказанные жалобы беспокоят в течение года. В 2015 г. было проведено оперативное лечение правого и левого глаза в объеме факоэмульсификации катаракты с имплантацией интраокулярной линзы.

При первичном обращении пациенту было проведено комплексное офтальмологическое обследование, включающее стандартные методы исследования (визометрию с определением некорригированной остроты зрения (НКОЗ) и максимально корригированной остроты зрения (МКОЗ), биомикрофталмоскопию с помощью бесконтактной линзы MaxField (Ocular Inc.; США)) и специальные методы исследования (компьютерную микропериметрию ("MAIA", CenterVue Inc.; Италия), СОКТ и оптическую когерентную томографию с ангиографией (ОКТ-А) на приборе «Spectralis HRA+OCT» ОСТ-2 85 000 Гц (Heidelberg Engineering, Inc.; Германия)).

Выполнение лазерной коагуляции проводили на офтальмологической лазерной установке модели «IRIDEX IQ 577» (IRIDEX Corporation, MountainView; США).

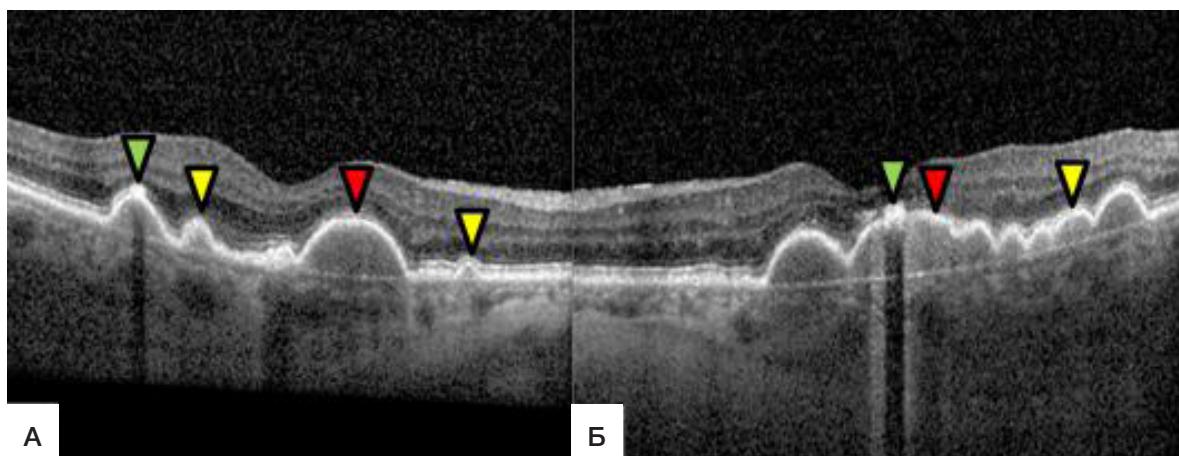
При первичном обследовании пациент предъявлял жалобы на снижение остроты зрения обоих глаз, метаморфопсии и затруднение при чтении текста вблизи двумя глазами, НКОЗ правого глаза (OD) составляла 0,3; МКОЗ OD — 0,7, левого глаза (OS) — 0,2 и 0,7 соответственно. По данным микропериметрии, средняя центральная светочувствительность (СЧ) сетчатки OD составила 23,3 дБ, OS — 21,6 дБ.

По данным биомикрофталмоскопии обоих глаз (ОУ): передний отрезок без патологических изменений, интраокулярная линза в капсулном мешке, центрирована. Диск зрительного нерва (ДЗН) имеет бледно-розовый цвет и четкие границы. Ангиопатия по гипертоническому типу. В макулярной зоне заметны множественные мелкие желтоватого цвета округлые очаги с четкими границами. В зоне фовеа с распространением паравоеолярно книзу определяется обширный бледно-желтый проминирующий очаг овальной формы размером 1,5 диаметра диска зрительного нерва (ДД) и размытыми границами с перераспределением пигмента, окруженный крупными желтоватыми очагами с нечеткими границами. На периферии без патологии.

По данным томограмм СОКТ OD: деформация макулярного профиля. В зоне фовеа визуализируется отслойка РПЭ высотой 166 мкм, протяженностью 1126 мкм с распространением паравоеолярно вниз высотой до 218 мкм, протяженностью до 1852 мкм с гомогенным гиперрефлексивным содержимым, а также волнообразная деформация линии РПЭ, мягкие слияные дрозды диаметром до 125 мкм. Над отслоенным РПЭ заметно скопление субретинального гиперрефлексивного материала (рис. 1А).

По данным томограмм СОКТ OS: деформация макулярного профиля. В зоне фовеа визуализировалась отслойка РПЭ высотой 173 мкм, протяженностью 2348 мкм с распространением паравоеолярно вниз высотой до 190 мкм, протяженностью до 1039 мкм с гомогенным гиперрефлексивным содержимым, а также волнообразная деформация линии РПЭ, мягкие слияные дрозды диаметром до 125 мкм. Над отслоенным РПЭ заметно скопление субретинального гиперрефлексивного материала (рис. 1Б).

При анализе томограммы ОКТ-А на ОУ данных, подтверждающих хориоидальную неоваскуляризацию, не было выявлено.



**Рис. 1.** Спектральная оптическая когерентная томография (срез через фовеа). **А.** Правый глаз: отслойка РПЭ (красная стрелка) высотой 166 мкм, протяженностью 1126 мкм с гомогенным гиперрефлективным содержимым. Мягкие сливные друзы (желтая стрелка), скопление субретинального гиперрефлективного материала (зеленая стрелка). **Б.** Левый глаз: отслойка РПЭ (красная стрелка) высотой 173 мкм, протяженностью 2348 мкм с гомогенным гиперрефлективным содержимым. Мягкие сливные друзы (желтая стрелка), скопление субретинального гиперрефлективного материала (зеленая стрелка)

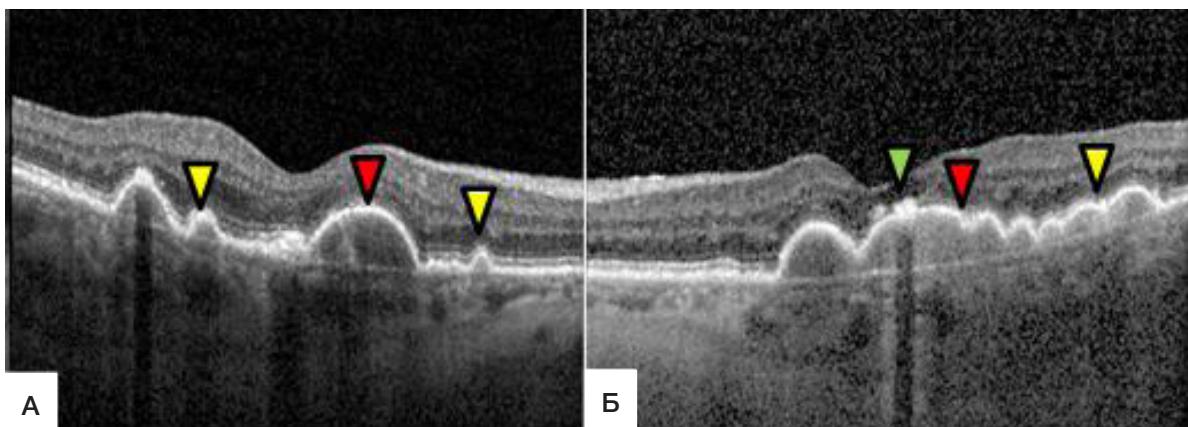
На основании жалоб, анамнеза и данных комплексного офтальмологического обследования пациента был установлен диагноз: ОУ Возрастная макулярная дегенерация «сухая» форма, промежуточная стадия (по классификации AREDS). Друzenoidная отслойка ретинального пигментного эпителия. Артифакция.

Было принято решение провести пациенту комбинированное лазерное лечение, включающее в себя лазерную коагуляцию по типу «решетки» с минимальными энергетическими параметрами для получения лазерного коагулята первой степени и последующего проведения через 10 суток трех сеансов микроимпульсного лазерного воздействия с периодичностью раз в четыре недели. Для проведения лазерной коагуляции по типу «решетки» использовали следующие параметры: длина волны — 577 нм, мощность — 50 мВт, длительность импульса — 0,1 с, диаметр пятна — 100 мкм; лазерные коагуляты наносили по всей площади отслоенного ретинального пигментного эпителия, исключая аваскулярную зону, на расстоянии друг от друга 150 мкм. Микроимпульсное лазерное воздействие выполняли при следующих параметрах: длина волны — 577 нм, длительность пакета микроимпульсов — 30 мс, длительность микроимпульса — 50 мкс, скважность — 4,7%, диаметр пятна — 100 мкм, мощность — 50 мВт, лазерные коагуляты наносили по всей площади отслоенного ретинального пигментного эпителия, исключая аваскулярную зону.

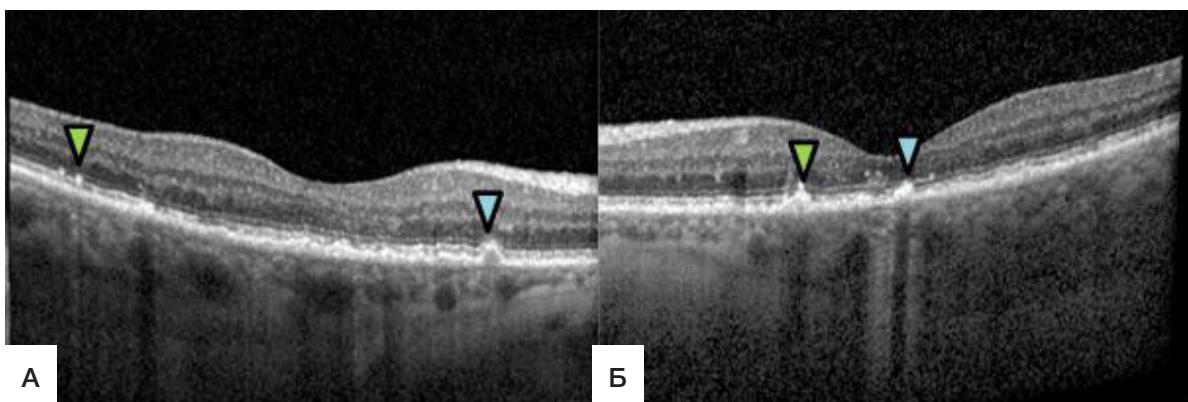
Через месяц после проведения комбинированного лазерного воздействия пациент субъективно отметил улучшение остроты зрения, метаморфопсии сохранились.

При обследовании НКОЗ ОД составила 0,3; МКОЗ ОД увеличилась до 0,8, НКОЗ ОС увеличилась до 0,3; МКОЗ ОС — 0,7. Средняя центральная СЧ сетчатки по данным компьютерной микропериметрии увеличилась до 24,1 дБ на ОД и до 23,0 дБ на ОС. При офтальмоскопии динамика не отмечена: в зоне фовеа с распространением парафовеолярно вниз сохранился обширный бледно-желтый проминирующий очаг овальной формы размером 1,5 диаметра диска зрительного нерва (ДД) с размытыми границами с перераспределением пигмента, окруженный крупными желтоватыми очажками с нечеткими границами: визуализировались слабопигментированные лазерные коагуляты по всей поверхности отслоенного РПЭ.

По данным томограмм СОКТ ОД, сохранялась деформация макулярного профиля, визуализировалось уменьшение отслойки РПЭ. В зоне фовеа высота отслойки РПЭ уменьшилась от 166 до 164 мкм, ее протяженность — от 1126 до 1081 мкм. В нижней парафовеолярной зоне зафиксировано уменьшение высоты с 218 до 211 мкм, протяженность отслойки РПЭ — с 1852 до 1826 мкм. Под отслоенным пигментным эпителием выявлены гомогенное гиперрефлективное содержимое, волнообразная деформация линии РПЭ, мягкие сливные друзы диаметром



**Рис. 2.** Спектральная оптическая когерентная томография (срез через фовеа). **А.** Правый глаз: отслойка РПЭ (красная стрелка) высотой 164 мкм, протяженностью 1081 мкм с гомогенным гиперрефлективным содержимым. Мягкие сливные друзы (желтая стрелка), скопление субретинального гиперрефлективного материала (зеленая стрелка). **Б.** Левый глаз: отслойка РПЭ высотой 154 мкм, протяженностью 2286 мкм с гомогенным гиперрефлективным содержимым. Мягкие сливные друзы (желтая стрелка), скопление субретинального гиперрефлективного материала (зеленая стрелка)



**Рис. 3.** Спектральная оптическая когерентная томография (срез через фовеа). **А.** Правый глаз: макулярный профиль сохранен, обнаружены волнообразная деформация линии РПЭ, единичные твердые друзы (голубая стрелка), скопление субретинального гиперрефлективного материала (зеленая стрелка). **Б.** Левый глаз: макулярный профиль сохранен, обнаружены волнообразная деформация линии РПЭ, единичные твердые друзы (голубая стрелка), скопление субретинального гиперрефлективного материала (зеленая стрелка)

до 125 мкм. Над отслоенным РПЭ обнаружено скопление субретинального гиперрефлективного материала (рис. 2А).

По данным томограмм СОКТ OS, сохранилась деформация макулярного профиля, визуализировалось уменьшение отслойки РПЭ. В зоне фовеа высота отслойки РПЭ уменьшилась от 173 до 154 мкм, протяженность — от 2348 до 2286 мкм. В нижней парафовеолярной зоне зафиксировано уменьшение высоты с 190 до 171 мкм, протяженность отслойки РПЭ сократилась с 1039 до 982 мкм. Под отслоенным пигментным эпителием гомогенное гиперрефлективное содержимое, волнообразная деформация линии РПЭ, мягкие сливные друзы диаметром до 125 мкм. Над отслоенным РПЭ обнаружено скопление субретинального гиперрефлективного материала (рис. 2Б).

На контрольном осмотре через три месяца после проведенного лазерного лечения пациент субъективно отметил улучшение остроты зрения, отсутствие метаморфопсий, чтение текста вблизи не вызывало затруднений. При обследовании НКОЗ OD и OS оставалась стабильной и составляла 0,3; МКОЗ OD и OS равна 0,8. Средняя центральная СЧ сетчатки оставалась стабильной и составляла на OD 24,1 дБ, на OS 23,4 дБ. По данным офтальмоскопии в макулярной зоне мелкие желтоватого цвета округлые очажки с четкими границами, единичные крупные желтоватые очажки с нечеткими границами, перераспределение пигмента, визуализировались слабопигментированные лазерные коагуляты, друзеноидная отслойка РПЭ полностью прилегла.

По данным томограмм СОКТ OD и OS, выявлены восстановление макулярного профиля, полное прилегание ДОРПЭ, волнообразная деформация линии РПЭ, единичные мягкие друзы, скопление субретинального гиперрефлективного материала (рис. 3А, Б).

Через год после проведения комбинированного лазерного воздействия пациент жалоб активно не предъявлял. При обследовании НКОЗ OD и OS составили 0,3, МКОЗ на OD достигла 0,9, МКОЗ на OS оставалась стабильной и составляла 0,8. По данным компьютерной микропериметрии, средняя центральная СЧ сетчатки на OD повысилась до 25,7 дБ, на OS оставалась стабильной и составила 23,9 дБ. По данным офтальмоскопии, в макулярной зоне были заметны мелкие желтоватого цвета округлые очажки с четкими границами, перераспределение пигмента, визуализировались слабопигментированные лазерные коагуляты.

По данным томограмм СОКТ OD и OS, макулярный профиль был сохранен, ретинальные слои структурны,

данных, подтверждающих атрофию наружного слоя сетчатки и РПЭ не выявлено.

При обследовании через три года было выявлено увеличение НКОЗ OD до 0,4, НКОЗ OS — 0,3, МКОЗ осталась стабильной и составила на OD — 0,9, на OS — 0,8. Средняя центральная СЧ сетчатки на OD осталась стабильной и составила 25,7 дБ, на OS она увеличилась до 24,0 дБ. При офтальмоскопии в макулярной зоне визуализировались мелкие желтоватого цвета округлые очажки с четкими границами, перераспределение пигмента, слабопигментированные лазерные коагуляты.

По данным томограмм СОКТ OD и OS, макулярный профиль был сохранен, ретинальные слои структурны, атрофии наружного слоя сетчатки и РПЭ не было выявлено.

На контрольном осмотре через 5 лет после проведения комбинированной лазерной технологии морффункциональные результаты остались стабильными, пациент жалоб активно не предъявлял. При обследовании НКОЗ OD составила 0,4, НКОЗ OS — 0,3, МКОЗ OD — 0,9, МКОЗ OS — 0,8. По данным микропериметрии, средняя центральная СЧ сетчатки на OD составила 24,8 дБ, на OS — 24,3 дБ. При офтальмоскопии в макулярной зоне визуализировались мелкие желтоватого цвета округлые очажки с четкими границами, перераспределение пигмента, слабопигментированные лазерные коагуляты.

По данным томограмм СОКТ OD и OS, макулярный профиль был сохранен, ретинальные слои структурны, атрофии наружного слоя сетчатки и РПЭ не выявлены (рис. 4А, Б).

При анализе томограммы ОКТ-А на ОУ данных за хориоидальную неоваскуляризацию не было выявлено.

#### Обсуждение клинического случая

В настоящее время общепринятой тактики лечения друзеноидной отслойки ретинального пигментного эпителия не существует. Анализ литературных данных показал, что данное заболевание является фактором риска прогрессирования ВМД до поздней стадии заболевания с развитием географической атрофии, что приводит к необратимому снижению центрального зрения.

Рядом авторов описаны случаи применения фотодинамической терапии с вертепорфином [16], интравитреального введения ингибиторов ангиогенеза [17], приема высоких доз статинов [18] для лечения ДОРПЭ. Данные методы способствовали уменьшению и регрессу отслойки РПЭ в сроке наблюдения до одного года, однако

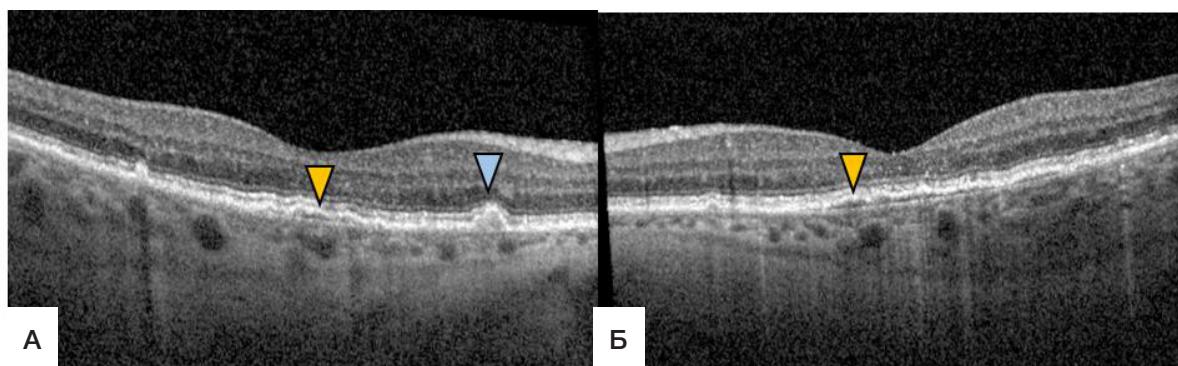


Рис. 4. Спектральная оптическая когерентная томография (срез через фovea). А. Правый глаз: макулярный профиль сохранен, волнообразная деформация линии РПЭ (оранжевая стрелка), единичные твердые друзы (голубая стрелка). Б. Левый глаз: макулярный профиль сохранен, волнообразная деформация линии РПЭ (оранжевая стрелка)

не были изучены их долгосрочная эффективность и безопасность.

Клинические исследования по применению лазерных технологий при промежуточной стадии ВМД были направлены на изучение возможности уменьшения количества друз и замедления прогрессирования заболевания; срок наблюдения в большинстве случаев составлял три года. Применение лазерной фотокоагуляции, по данным ряда авторов, показало обнадеживающие результаты в виде уменьшения объема друз. Однако в случае использования высокоэнергетических параметров лазерного лечения возможно развитие побочных эффектов: гибель фоторецепторного слоя, формирование центральных и паракентральных скотом, прогрессирование до географической атрофии сетчатки, развитие хориоидальной неоваскуляризации и субретинального фиброза [10, 11]. Для предотвращения вышеописанных осложнений в представленном клиническом случае было использовано низкоэнергетическое лазерное воздействие с получением положительного клинического эффекта.

В настоящее время в офтальмологической практике широко применяют ряд субпороговых лазерных методик воздействия, позволяющих избирательно и прецизионно воздействовать лишь на клетки РПЭ и таким образом уменьшать риск развития негативных изменений в сетчатке и хориокапиллярах. Применение данных лазерных методик при промежуточной стадии способствовало уменьшению и рассасыванию друз, повышению остроты зрения, но не оказалось должного эффекта на замедление скорости прогрессирования заболевания до развития географической атрофии или хориоидальной неоваскуляризации. По данным исследования LEAD, взаимосвязь применения лазерных технологий и развития осложнений, таких как ретинальные геморрагии, nascent-географическая атрофия, атрофия фоторецепторного слоя, выявлено не было [12, 13].

В данной работе с целью улучшения морфофункциональных результатов лечения пациента с друзеноидной отслойкой ретинального пигментного эпителия была использована комбинация двух различных по механизму действия лазерных воздействий. Первым этапом проводили лазерную коагуляцию по типу «решетки» с целью активации насосной функции РПЭ, а также укрепления архитектоники сетчатки и усиления опорной функции клеток Мюллера за счет формирования хориоретинальной спайки. Применение микроимпульсного лазерного воздействия позволило селективно действовать на клетки РПЭ без повреждения нейроэпителия сетчатки. Основным терапевтическим эффектом стала выработка факторов, поддерживающих и стимулирующих регенерацию, пролонгирующих процессы восстановления архитектоники сетчатки и улучшения зрительных функций.

Таким образом, применение предложенного комбинированного лазерного лечения ДОРПЭ позволило получить и сохранить на протяжении 5 лет высокие морфофункциональные результаты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенная технология применения комбинированного лазерного лечения позволила ликвидировать отслойку ретинального пигментного эпителия (ДОРПЭ), восстановить микроархитектонику сетчатки, повысить зрительные функции. Полученные результаты показали возможность применения низкой энергетической лазерной микрохирургии в восстановлении морфофункциональных показателей макулярной области глаза при возрастных дистрофических процессах. Данная технология при дальнейшем изучении может расширить возможности в лечении промежуточной стадии возрастной макулярной дегенерации (ДОРПЭ).

## Литература

1. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CM, Klein R, Cheng CY, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2014; 2 (2): 106–16.
2. Ferris FL, Wilkinson CP, Bird A, Chakravarthy U, Chew E, Csaky K, Sadda SR; Beckman Initiative for Macular Research Classification Committee. Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2013; 120 (4): 844–51.
3. Casswell AG, Kohen D, Bird AC. Retinal pigment epithelial detachments in the elderly: classification and outcome. *British Journal of Ophthalmology*. 1985; 69: 397–403.
4. Spaide RF, Jaffe GJ, Sarraf D, Freund KB, Sadda SR, Staurenghi G, Waheed NK; Consensus Nomenclature for Reporting Neovascular Age-Related Macular Degeneration Data: Consensus on Neovascular Age-Related Macular Degeneration Nomenclature Study Group. *Ophthalmology*. 2020; 127 (5): 616–36.
5. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of soft drusen in age-related macular degeneration. *Eye (Lond)*. 1994; 8: 269–83.
6. Balaratnasingam C, Yannuzzi LA, Curcio CA, Morgan WH, Querques G, Capuano V, et al. Associations Between Retinal

- Pigment Epithelium and Drusen Volume Changes During the Lifecycle of Large Drusenoid Pigment Epithelial Detachments. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 57 (13): 5479–89.
7. Yu JJ, Agrón E, Clemons TE, Domalpally A, van Asten F, Keenan TD, et al. Age-Related Eye Disease Study 2 Research Group. Natural History of Drusenoid Pigment Epithelial Detachment Associated with Age-Related Macular Degeneration: Age-Related Eye Disease Study 2 Report No. 17. *Ophthalmology.* 2019; 126 (2): 261–73.
  8. Roquet W, Roudot-Thoraval F, Coscas G, Soubrane G. Clinical features of drusenoid pigment epithelial detachment in age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2004; 88 (5): 638–42.
  9. Chew EY, Clemons TE, Agrón E, Sperduto RD, Sangiovanni JP, Kurinij N, et al. Age-Related Eye Disease Study Research Group. Long-term effects of vitamins C and E,  $\beta$ -carotene, and zinc on age-related macular degeneration: AREDS report no. 35. *Ophthalmology.* 2013; 120 (8): 1604–11.
  10. Complications of Age-Related Macular Degeneration Prevention Trial Research Group. Laser treatment in patients with bilateral large drusen: the complications of age-related macular degeneration prevention trial. *Ophthalmology.* 2006; 113 (11): 1974–86.
  11. Virgili G, Michelessi M, Parodi MB, Bacherini D, Evans JR. Laser treatment of drusen to prevent progression to advanced age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 10 (10): 1–67.
  12. Prahs P, Walter A, Regler R, Theisen-Kunde D, Birngruber R, Brinkmann R, Framme C. Selective retina therapy (SRT) in patients with geographic atrophy due to age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010; 248 (5): 651–8.
  13. Guymer RH, Wu Z, Hodgson AB, Caruso E, Brassington KH, Tindill N, et al. Laser Interventionin Early Stages of Age-Related Macular Degeneration Study Group. Subthreshold Nanosecond Laser Intervention in Age-Related Macular Degeneration: The LEAD Randomized Controlled Clinical Trial. *Ophthalmology.* 2019; 126 (6): 829–38.
  14. Гордеева М. В., Гацу М. В. Функциональные результаты пороговой лазеркоагуляции различных видов мягких макулярных друз. *Вестник ОГУ.* 2013; 4 (153): 59–62.
  15. Гордеева М. В. Сравнение эффективности различных лазерных методик лечения мягких макулярных друз [диссертация]. М., 2013.
  16. Novais EA, Badaró E, Regatieri CV, Duker J, de Oliveira Bonomo PP. Regression of drusen after combined treatment using photodynamic therapy with verteporfin and ranibizumab. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* 2015; 46 (2): 275–8.
  17. Gallego-Pinazo R, Marina A, Suelves-Cogollos, Francés-Muñoz E, Millán JM, Arevalo JF, et al. Intravitreal ranibizumab for symptomatic drusenoid pigment epithelial detachment without choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Clin Ophthalmol.* 2011; 5: 161–5.
  18. Vavvas DG, Daniels AB, Kapsala ZG, Goldfarb JW, Ganotakis E, Loewenstein JL, et al. Regression of Some High-risk Features of Age-related Macular Degeneration (AMD) in Patients Receiving Intensive Statin Treatment. *EBioMedicine.* 2016; 5: 198–203.

## References

1. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CM, Klein R, Cheng CY, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* 2014; 2 (2): 106–16.
2. Ferris FL, Wilkinson CP, Bird A, Chakravarthy U, Chew E, Csaky K, Sadda SR; Beckman Initiative for Macular Research Classification Committee. Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2013; 120 (4): 844–51.
3. Casswell AG, Kohen D, Bird AC. Retinal pigment epithelial detachments in the elderly: classification and outcome. *British Journal of Ophthalmology.* 1985; 69: 397–403.
4. Spaide RF, Jaffe GJ, Sarraf D, Freund KB, Sadda SR, Staurenghi G, Waheed NK; Consensus Nomenclature for Reporting Neovascular Age-Related Macular Degeneration Data: Consensus on Neovascular Age-Related Macular Degeneration Nomenclature Study Group. *Ophthalmology.* 2020; 127 (5): 616–36.
5. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of soft drusen in age-related macular degeneration. *Eye (Lond).* 1994; 8: 269–83.
6. Balaratnasingam C, Yannuzzi LA, Curcio CA, Morgan WH, Querques G, Capuano V, et al. Associations Between Retinal Pigment Epithelium and Drusen Volume Changes During the Lifecycle of Large Drusenoid Pigment Epithelial Detachments. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 57 (13): 5479–89.
7. Yu JJ, Agrón E, Clemons TE, Domalpally A, van Asten F, Keenan TD, et al. Age-Related Eye Disease Study 2 Research Group. Natural History of Drusenoid Pigment Epithelial Detachment Associated with Age-Related Macular Degeneration: Age-Related Eye Disease Study 2 Report No. 17. *Ophthalmology.* 2019; 126 (2): 261–73.
8. Roquet W, Roudot-Thoraval F, Coscas G, Soubrane G. Clinical features of drusenoid pigment epithelial detachment in age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2004; 88 (5): 638–42.
9. Chew EY, Clemons TE, Agrón E, Sperduto RD, Sangiovanni JP, Kurinij N, et al. Age-Related Eye Disease Study Research Group. Long-term effects of vitamins C and E,  $\beta$ -carotene, and zinc on age-related macular degeneration: AREDS report no. 35. *Ophthalmology.* 2013; 120 (8): 1604–11.
10. Complications of Age-Related Macular Degeneration Prevention Trial Research Group. Laser treatment in patients with bilateral large drusen: the complications of age-related macular degeneration prevention trial. *Ophthalmology.* 2006; 113 (11): 1974–86.
11. Virgili G, Michelessi M, Parodi MB, Bacherini D, Evans JR. Laser treatment of drusen to prevent progression to advanced age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 10 (10): 1–67.
12. Prahs P, Walter A, Regler R, Theisen-Kunde D, Birngruber R, Brinkmann R, Framme C. Selective retina therapy (SRT) in patients with geographic atrophy due to age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010; 248 (5): 651–8.
13. Guymer RH, Wu Z, Hodgson AB, Caruso E, Brassington KH, Tindill N, et al. Laser Interventionin Early Stages of Age-Related Macular Degeneration Study Group. Subthreshold Nanosecond Laser Intervention in Age-Related Macular Degeneration: The LEAD Randomized Controlled Clinical Trial. *Ophthalmology.* 2019; 126 (6): 829–38.
14. Гордеева М. В., Гацу М. В. Функциональные результаты пороговой лазеркоагуляции различных видов мягких макулярных друз. *Вестник ОГУ.* 2013; 4 (153): 59–62. Russian.
15. Гордеева М. В. Сравнение эффективности различных лазерных методик лечения мягких макулярных друз [диссертация]. М., 2013. Russian.
16. Novais EA, Badaró E, Regatieri CV, Duker J, de Oliveira Bonomo PP. Regression of drusen after combined treatment using photodynamic therapy with verteporfin and ranibizumab. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* 2015; 46 (2): 275–8.
17. Gallego-Pinazo R, Marina A, Suelves-Cogollos, Francés-Muñoz E, Millán JM, Arevalo JF, et al. Intravitreal ranibizumab for symptomatic drusenoid pigment epithelial detachment without choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Clin Ophthalmol.* 2011; 5: 161–5.
18. Vavvas DG, Daniels AB, Kapsala ZG, Goldfarb JW, Ganotakis E, Loewenstein JL, et al. Regression of Some High-risk Features of Age-related Macular Degeneration (AMD) in Patients Receiving Intensive Statin Treatment. *EBioMedicine.* 2016; 5: 198–203.

### ЛАЗЕРНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МАКУЛЯРНОЙ РЕТИНАЛЬНОЙ СКЛАДЧАТОСТИ КАК ОСЛОЖНЕНИЯ В ОТДАЛЕННОМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ ВЕДЕНИЯ ОТСЛОЙКИ СЕТЧАТКИ

Х. П. Тахиди, Е. Х. Тахиди, Т. А. Касмынина, Е. П. Тебина 

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Макулярная ретинальная складчатость является редким, но серьезным осложнением после оперативного лечения регматогенной отслойки сетчатки. Тяжесть проявления клинических симптомов, вызванных ретинальной складчатостью, зависит от ее расположения и степени выраженности. В случае локализации складчатости на периферии глазного дна заболевание может протекать бессимптомно, однако при расположении складок в макулярной зоне приводит к снижению остроты зрения и появлению метаморфопсий. В настоящее время наиболее эффективным методом лечения ретинальных складок является повторное оперативное лечение. Однако его недостатком является наличие рисков развития осложнений в раннем послеоперационном периоде: гемофтальма, воспалительных процессов, вторичной глаукомы, катаракты, рецидивов отслойки сетчатки, макулярных разрывов, окклюзий сосудов сетчатки и др. Представленный клинический случай демонстрирует возможность применения комбинированного лазерного лечения у пациента с осложнением в виде макулярной ретинальной складчатости, с использованием современных методов диагностики и лечения.

**Ключевые слова:** макулярная ретинальная складчатость, лазерная коагуляция, регматогенная отслойка сетчатки, микроимпульсное лазерное воздействие

**Вклад авторов:** Х. П. Тахиди — концепция и дизайн исследования, редактирование текста; Е. Х. Тахиди — анализ литературных данных; Е. П. Тебина — сбор и обработка материала, написание текста; Т. А. Касмынина — лазерное лечение пациента.

**Соблюдение этических стандартов:** от пациента получено согласие на лазерное лечение и обработку персональных данных.

 **Для корреспонденции:** Екатерина Павловна Тебина

Волоколамское шоссе, д. 30, корп. 2, г. Москва, 123182, Россия; ekaterinatebina@mail.ru

**Статья получена:** 19.11.2021 **Статья принята к печати:** 05.12.2021 **Опубликована онлайн:** 21.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.060

### LASER TREATMENT OF MACULAR RETINAL FOLDS IN LATE POSTOPERATIVE PERIOD AFTER RETINAL DETACHMENT REPAIR

Takhchidi KhP, Takhchidi EKh, Kasminina TA, Tebina EP 

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Macular retinal folds are a rare yet grave complication of surgical rhegmatogenous retinal detachment repair. Clinical symptoms vary depending on the location and severity of folding. Fold located in the periphery of the ocular fundus can be asymptomatic, but macular retinal folds cause diminished visual acuity and metamorphopsia. Currently, the most effective treatment for retinal folds is repeat surgery. Its serious disadvantage is the risk of complications in the early postoperative period, including hemophthalmia, inflammation, secondary glaucoma, cataracts, RRD recurrence, macular tears, retinal vascular occlusion, etc. The clinical case described below demonstrates the potential of combination laser therapy for the treatment of macular retinal folds based on the use of modern diagnostic and therapeutic methods.

**Keywords:** macular retinal folds, laser photoocoagulation, rhegmatogenous retinal detachment, micropulse laser

**Author contribution:** Takhchidi KhP — study concept and design, manuscript editing; Takhchidi EKh — literature analysis; Tebina EP — data acquisition, manuscript preparation; Kasminina TA — laser therapy.

**Compliance with ethical standards:** the patient gave informed consent to laser therapy and personal data processing.

 **Correspondence should be addressed:** Ekaterina P. Tebina

Volokolamskoe shosse, d. 30, korp. 2, Moscow, 123182, Russia; ekaterinatebina@mail.ru

**Received:** 19.11.2021 **Accepted:** 05.12.2021 **Published online:** 21.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.060

Макулярная ретинальная складчатость — редкое, но серьезное осложнение, встречающееся после оперативного лечения регматогенной отслойки сетчатки (РОС) [1]. Впервые ретинальные складки были описаны Pavan в 1984 г. после проведения эписклерального пломбирования с использованием интравитреальной газо-воздушной тампонады. На сегодняшний день существует несколько публикаций на тему ретинальных складок сетчатки, появляющихся после хирургического лечения РОС. В основном они представлены описанием клинических случаев. В 1991 г. Van Meurs с коллегами провели анализ группы из 137 пациентов после хирургического лечения РОС. Ретинальная складчатость встречалась у четырех пациентов из 137 (2,8%). В 2011 г. Isaico с соавт. представили результаты обследования группы из 153 пациентов, в которой данное осложнение было выявлено у трех пациентов (1,96%). К основным факторам риска образования ретинальной складчатости

в послеоперационном периоде относят использование интравитреальной газовой тампонады, «свежую» РОС, применение больших и широких лент при эписклеральном пломбировании, наличие буллезной РОС с разрывами в верхних квадрантах, транссклеральное дренирование субретинальной жидкости, РОС с захватом макулярной зоны [1–6].

Тяжесть проявления клинических симптомов, вызванных ретинальной складчатостью, зависит от ее расположения и степени выраженности. В случае складчатости в макулярной зоне наиболее частыми симптомами можно назвать дефекты поля зрения, диплопию, метаморфопсию и снижение остроты зрения, в то время как складчатость на периферии глазного дна может протекать бессимптомно [3, 6–10].

По данным литературы, до недавнего времени ретинальные сетчатки классифицировали по локализации (задние и макулярные), форме и ориентации (дугобразные),

патогенезу (компрессионные), клиническим признакам (сухие) или как «ретинальная складчатость» [11].

Визуализация сетчатки, усовершенствованная с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ), позволила понять морфологию данных складок, которые могут быть «частичными» (внутренние или внешние слои сетчатки) или «полными». «Полная» складчатость визуализируется как складка всех слоев нейроэпителия сетчатки с формированием конвекс-деформации профиля сетчатки. На ОКТ визуализируется смыкание базальными частями соседних участков всех слоев сетчатки с нарушением архитектоники и альтерацией наружной пограничной мембраны, линии сочленения наружных и внутренних сегментов фоторецепторов, наружного ядерного слоя, наружного плексiformного слоя и нередко вышележащих слоев, с формированием гиперрефлективных участков [11, 12]. Внутренняя частичная складчатость обусловлена изменением внутренних слоев сетчатки, при этом можно наблюдать выраженное искажение сетчатки, приводящее к формированию дупликатуры «внутренняя пограничная мембрана — внутренняя пограничная мембрана». ОКТ наружных складок сетчатки показывает множественные небольшие вертикально ориентированные гиперрефлективные отложения над ретинальным пигментным эпителием (РПЭ), которые проминируют во внешний ядерный слой [11, 12].

По данным литературы, после формирования ретинальной складки рекомендации в лечении данной патологии значительно различаются. Клинические примеры иллюстрируют разнообразие результатов в каждом отдельном случае: полную регрессию ретинальной складчатости с дальнейшим восстановлением зрительных функций, частичное уплощение складчатости с минимальным или умеренным улучшением зрительных функций, а также серьезное необратимое повреждение ретинальных структур. В большинстве описанных случаев макулярная складчатость сохраняется и приводит к

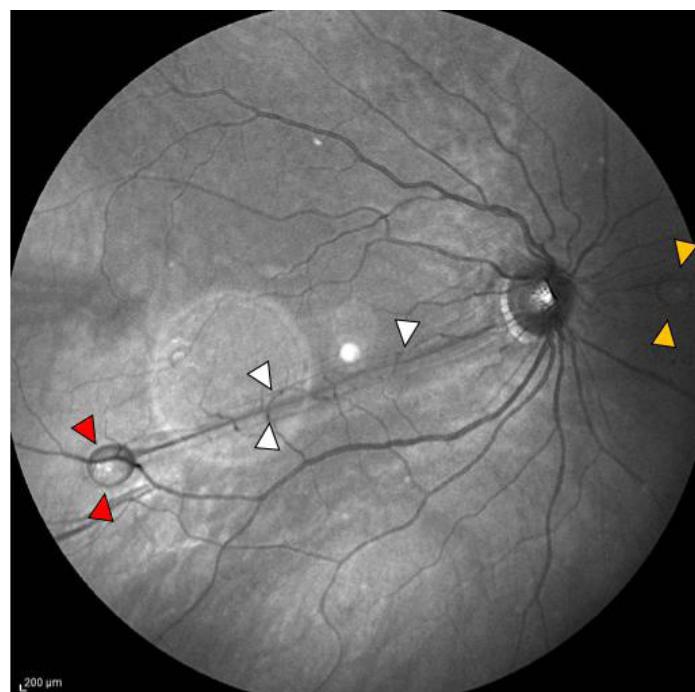
необратимой потере остроты зрения и метаморфопсию [3–6, 10, 13]. Кроме того, у пациентов с ранее стабильными ретинальными складками сообщалось о позднем рецидиве отслоения сетчатки, вызванном пролиферативной витреоретинопатией, которая могла быть вызвана ретинальной складчатостью [5].

С учетом высокого риска интра- и послеоперационных осложнений, возникающих после повторных витреоретинальных хирургических вмешательств, на сегодняшний день актуальна необходимость разработки неинвазивного, патогенетически ориентированного метода лечения заболевания при минимальном повреждении структур сенсорной сетчатки.

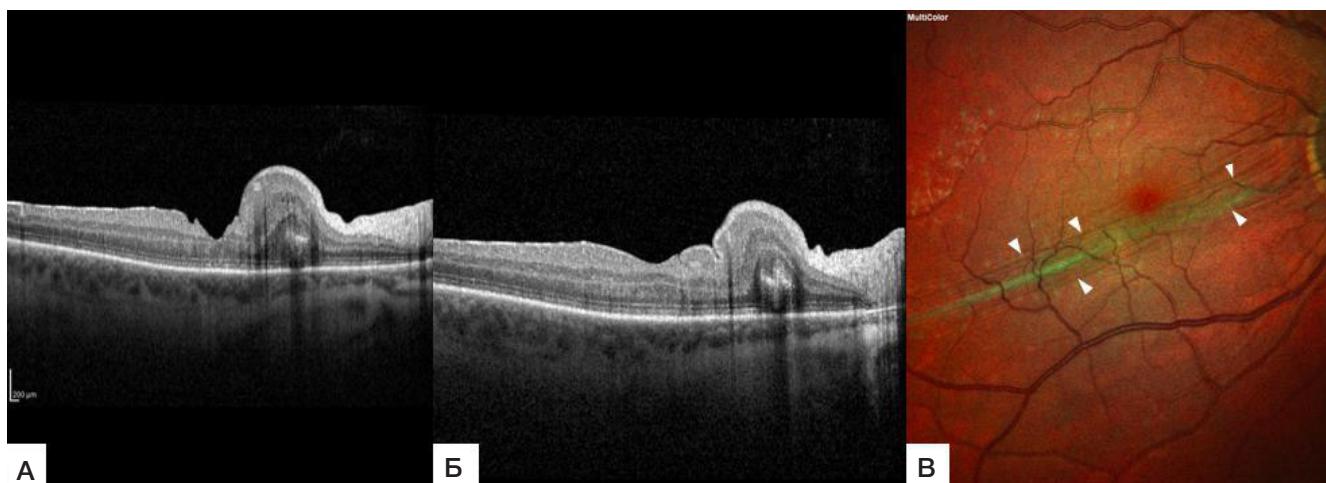
В настоящее время в лечении заболеваний сетчатки активно используют лазерное воздействие. При лечении патологии макулярной зоны с целью усиления опорной функции клеток Мюллера и укрепления архитектоники сетчатки за счет формирования хориоретинальной спайки активно применяют интракортикальную лазерную коагуляцию в «шахматном порядке» через интактное пространство диаметром более одного диаметра лазерного аппликата. Для увеличения терапевтического эффекта лазерного воздействия с целью активации, поддержки и пролонгации регенеративных процессов в сетчатке используют микроимпульсное лазерное воздействие [14, 15]. В работе представлен случай применения комбинированного лазерного лечения макулярной ретинальной складчатости как осложнения в отдаленном послеоперационном периоде ведения регматогенной отслойки сетчатки.

#### Описание клинического случая

В октябре 2020 г. в Научно-исследовательский центр офтальмологии РНИМУ им. Н. И. Пирогова обратился пациент с жалобами на метаморфопсию и снижение остроты зрения правого глаза. Согласно анамнезу, в



**Рис. 1.** Обзорный снимок глазного дна правого глаза. Перипапиллярно с назальной стороны определяется пузирь перфторорганического соединения диаметром 756 мкм (желтая стрелка). От височного края ДЗН в направлении 8 ч визуализируется грубая компактная ретинальная складчатость шириной 633 мкм (белая стрелка), заканчивающаяся расположенным субретинально пузирьем ПФОС диаметром 977 мкм (красная стрелка). Складчатость захватывает половину макулярной зоны, преимущественно снизу



**Рис. 2.** Спектральная оптическая когерентная томография сетчатки правого глаза. **А.** Макулярный профиль деформирован, фовеа контурируется (глубина фовеа — 185 мкм, толщина сетчатки в фовеа — 192 мкм); парафовеолярно с назальной стороны визуализируется конвекс-деформация — полная доминирующая ретинальная складка высотой до 637 мкм, с грубым нарушением архитектоники сетчатки (альтерация наружной пограничной мембранны, линии сочленения наружных и внутренних сегментов фоторецепторов, наружного ядерного и плексiformных слоев; в толще складки определяется гиперрефлективный очаг), доходящей до фовеолярного края. **Б.** Макулярный профиль слажен, глубина фовеа — 106 мкм, толщина сетчатки — 284 мкм; с назальной стороны определяется полная доминирующая ретинальная складка высотой до 601 мкм с грубым нарушением архитектоники сетчатки, более отдаленной от фовеолярного края. **В.** Мультиспектральное исследование. От височного края ДЗН в направлении 8 ч визуализируется грубая ретинальная складчатость, шириной 633 мкм (белая стрелка)

августе 2020 г. пациенту было проведено оперативное лечение — субтотальная микроинвазивная витрэктомия с интравитреальным введением перфтороганического соединения (ПФОС) / газо-воздушной смеси и имплантацией интраокулярной линзы в связи с наличием регматогенной отслойки сетчатки на правом глазу.

При поступлении пациенту было проведено комплексное офтальмологическое обследование, включающее стандартные методы исследования: визометрию с определением некорректированной остроты зрения (НКОЗ), максимально корректированной остроты зрения (МКОЗ), непрямую офтальмоскопию с помощью бесконтактной линзы MaxField (Ocular Inc.; США) и специальные методы исследования: оптическую когерентную томографию (ОКТ) на приборе Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering GmbH.; Германия).

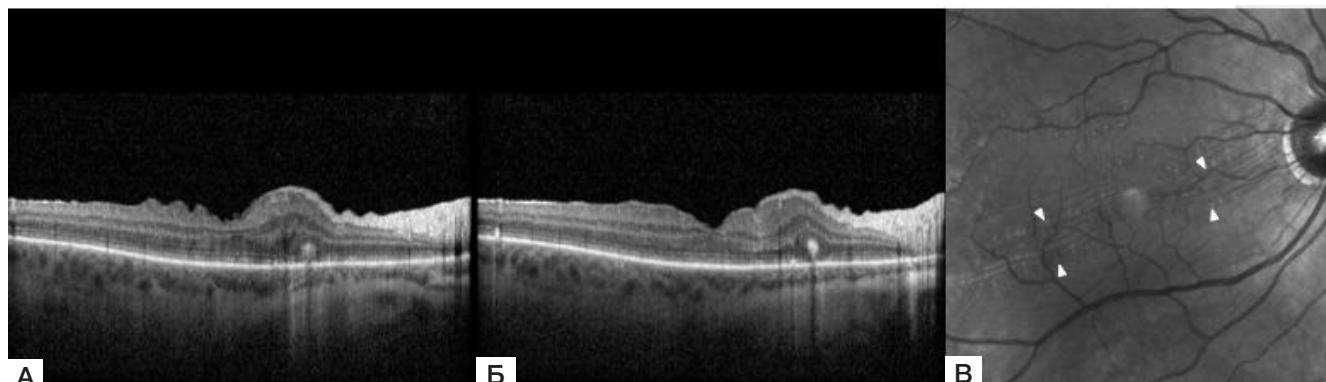
Для выполнения лазерной коагуляции использовали офтальмологическую лазерную установку модели VISULAS Trion (577 нм) (Carl Zeiss; Германия).

На первичном обследовании пациент имел жалобы на метаморфопсии и снижение остроты зрения правого

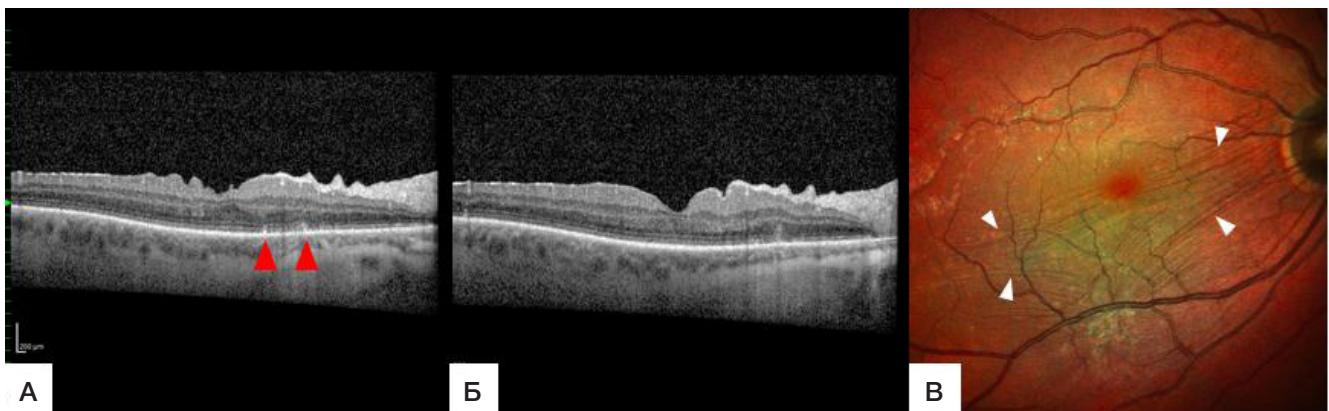
глаза. НКОЗ правого глаза (ОД) составляла 0,05; МКОЗ правого глаза — 0,7; левого глаза (ОС) — 1,0.

По результатам офтальмобиомикроскопии ОД, передний отрезок без патологических изменений, интраокулярная линза центрирована. Диск зрительного нерва (ДЗН) бледно-розовый с четкими границами; перипапиллярно с назальной стороны определяется пузырь ПФОС. От височного края ДЗН в направлении 8 ч визуализируется грубая компактная ретинальная складчатость, заканчивающаяся расположенным субретинально пузырем ПФОС (рис. 1). Калибр ретинальных сосудов не изменен. Паравазально по ходу верхне- и нижневисочной аркад визуализируется так называемый целлофановый блеск (эпиретинальный фиброз). На периферии сетчатки разрывы в верхнем квадранте блокированы пигментированными лазерными коагулятами.

На томограммах СОКТ правого глаза наиболее информативным в динамике оказались скан А (рис. 2А) и расположенный на 250 мкм выше (ближе к фовеа) следующий скан В (рис. 2Б).



**Рис. 3.** Спектральная оптическая когерентная томография сетчатки правого глаза. **А.** Отмечено восстановление макулярного профиля, фовеа слажена, глубина фовеа — 134 мкм, толщина сетчатки в фовеа — 240 мкм, парафовеолярно с назальной стороны выявлено уменьшение высоты ретинальной складки высотой с 637 мкм до 487 мкм, архитектоника ретинальных слоев частично восстановлена, парамакулярно с темпоральной стороны визуализируются микроскладки внутренних ретинальных слоев. **Б.** Визуализируется контурирование фовеа: глубина фовеа увеличилась до 142 мкм, толщина сетчатки в фовеа уменьшилась до 243 мкм, парафовеолярно с назальной стороны отмечено уменьшение высоты ретинальной складки с 601 мкм до 473 мкм, архитектоника ретинальных слоев частично восстановлена. **В.** Инфракрасное изображение. В центральной зоне ретинальная складчатость стала менее выраженной, растянулась (разгладилась) по ширине до 921 мкм (белая стрелка)



**Рис. 4.** Спектральная оптическая когерентная томография сетчатки правого глаза. **А.** Макулярный профиль восстановлен, фовеа слажена, глубина фовеа уменьшилась до 124 мкм, толщина сетчатки в фовеа увеличилась до 273 мкм; парамакулярно с назальной стороны на уровне РПЭ визуализируются интрагретинальные лазерные коагуляты (красная стрелка). **Б.** Макулярный профиль восстановлен, контурируется фовеа глубиной 160 мкм, толщина сетчатки — 224 мкм, архитектоника слоев сетчатки восстановлена, парамакулярно с назальной стороны определяется микроскладчатость внутренних ретинальных слоев. **В.** Результаты мультиспектрального исследования: ретинальная складчатость разгладилась (белая стрелка), в макулярной зоне (исключая аваскулярную зону) и в зонах эпиретинального фиброза визуализируются слабопигментированные лазерные коагуляты

С учетом жалоб пациента, его анамнеза и результатов комплексного офтальмологического обследования пациенту был поставлен диагноз: OD Оперированная регматогенная отслойка сетчатки, осложненная ретинальной складчатостью в макулярной зоне. Эпиретинальный фиброз. Авитрия. Артифакия.

В декабре 2020 г. было принято решение попытаться провести пациенту пластическое вмешательство в зоне макулярной складчатости при помощи лазерной микрохирургии, с целью разглаживания складок, восстановления архитектоники сетчатки макулярной области, улучшения морфофункциональных показателей. Мы использовали комбинированное лазерное лечение. Первым этапом проводили лазерную коагуляцию вдоль ретинальной складчатости и ниже, при этом лазерные аппликации наносили в шахматном порядке в 3–4 ряда, в зависимости от выраженности складок, исключая аваскулярную зону. Параметры воздействия: лазерную коагуляцию проводили на минимально возможных параметрах для получения лазерного коагулята 1-й степени: мощность — 50 мВт, длительность импульса — 0,05 с, диаметр пятна — 100 мкм, длина волны — 577 нм, расстояние между лазерными коагулятами — 150 мкм. Единичные коагуляты наносили парамакулярно по верхнему краю макулы. Дополнительно проводили лазерную коагуляцию в зонах локального эпиретинального фиброза по нижне- и верхневисочной сосудистых аркад. На втором этапе использовали микроимпульсное лазерное воздействие (три сеанса с кратностью в месяц) с длиной волны — 577 нм, длительностью пакета — 30 мс, длительностью микроимпульса — 50 мкс, скважностью — 4,7%, диаметром пятна — 100 мкм, мощностью — 50 мВт.

Через два месяца на комплексном офтальмологическом осмотре была отмечена легкая положительная динамика, однако существенных изменений морфофункциональных показателей не выявлено.

Через четыре месяца после выполнения комбинированного лазерного лечения пациент отмечает значительное уменьшение метаморфопсий. Результаты обследования OD: НКОЗ увеличилась до 0,2; МКОЗ — 0,7. Результаты офтальмобиомикроскопии OD: передний отрезок без патологических изменений, интраокулярная линза центрирована. В центральной зоне ретинальная складчатость стала менее выраженной, растянулась (разгладилась) по ширине до 921 мкм (рис. 3В).

Парамакулярно и вдоль ретинальной складчатости визуализируются слабопигментированные лазерные коагуляты. Калибр ретинальных сосудов не изменен. Паравазально в зонах локального фиброза определяются слабопигментированные лазерные коагуляты. Динамика процесса визуализируется на томограммах СОКТ правого глаза (рис. 3А, Б).

На осмотре через 6 месяцев после комбинированного лазерного лечения пациент отмечает отсутствие метаморфопсий на правом глазу. По данным осмотра OD, НКОЗ — 0,2; МКОЗ — 0,7. По данным офтальмобиомикроскопии OD, передний отрезок без патологических изменений, интраокулярная линза центрирована. ДЗН бледно-розовый с четкими границами. Ретинальная складчатость разгладилась, доминирующая ретинальная складка не определяется. На поверхности сетчатки в зоне бывшей грубой выраженной ретинальной складчатости отмечено волнообразное, едва заметное изменение рельефа поверхности сетчатки шириной до 1371 мкм (рис. 4В). В макулярной зоне, исключая аваскулярную зону, и в зонах локального фиброза визуализируются слабопигментированные лазерные коагуляты. Динамика процесса отображается на томограммах СОКТ правого глаза (рис. 4А, Б).

#### Обсуждение клинического случая

Ретинальная складчатость является клинически значимым осложнением оперативного лечения регматогенной отслойки сетчатки. В литературе сообщается о небольшом числе попыток хирургического исправления ретинальной складчатости, включая лечение макулярных складок другой этиологии [2, 16, 18]. Четких рекомендаций по показаниям к повторной операции и ее срокам нет. В экспериментах *in vivo* обнаружено, что апоптоз фоторецепторного слоя и источник внешнего ядерного слоя начинаются через неделю после выполнения макулярной транслокации [18].

Одна из причин, по которой зачастую происходит отсрочка повторного хирургического вмешательства, в том, что данную патологию диагностируют не раньше, чем произойдет реабсорбция газо-воздушной смеси в витреальной полости. Другой причиной отсрочки повторного оперативного лечения является наличие рисков развития осложнений в раннем послеоперационном периоде: гемофтальма, воспалительных процессов, вторичной

глаукомы, катаракты, рецидивов РОС, макулярных разрывов, окклюзии сосудов сетчатки и др. [11, 17, 19].

В качестве альтернативы витреоретинальной хирургии в данной работе представлена комбинированная лазерная технология с использованием двух разных по механизму действий лазерных вмешательств, обладающих такими неоспоримыми преимуществами, как неинвазивность, малая травматичность, отсутствие серьезных осложнений и побочных эффектов. В демонстрируемом клиническом случае показано, что за счет «мягкого», топографически направленного пластического эффекта лазерной коагуляции сетчатки по предложенной схеме оперативного лечения удалось разгладить ретинальную складчатость, нормализовать положение макулы и ее морфофункциональные характеристики. Ткани парамакулярной области (доминирующая ретинальная складка) опустились, восстановив толщину и микроархитектонику сетчатки в данной области. Макулярный профиль сместился вверх в зону своего нормального микротопографического положения и стал лучше визуализироваться на скане ОСКОТ (рис. 3Б), при этом нормализовались микроархитектоника и характеристика фовеа (ее глубина и толщина). Это привело к избавлению пациента от метаморфопсии (искажения изображений), повышению некорректируемой остроты зрения, возможности использования бинокулярного зрения. Дополнительное применение к лазерной коагуляции — микроимпульсное лазерное воздействие — позволило стимулировать процессы регенерации в течение более длительного времени.

Таким образом, локальное использование коагуляционного эффекта лазерной энергии, направленного

на прицельное растягивание ткани сетчатки, обеспечивает пластическое перемещение микрослоев сетчатки — реконструкцию микроархитектоники макулярной зоны. Дозированное применение микроимпульсного воздействия на пораженную зону сетчатки запускает пролонгированную программу управляемой регенерации.

В результате предложенной лазерной технологии получены высокие морфофункциональные результаты в лечении макулярной ретинальной складчатости — осложнения, возникающего в отдаленном послеоперационном периоде ведения отслойки сетчатки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что предложенное комбинированное лазерное лечение осложнения в виде макулярной ретинальной складчатости в отдаленном послеоперационном периоде регматогенной отслойки сетчатки обеспечило значительное улучшение морфофункциональных показателей глаза. Использование транспупиллярной лазерной микрохирургии в клинической практике офтальмолога расширяет арсенал для неинвазивной коррекции послеоперационных осложнений регматогенной отслойки сетчатки, связанной с макулярной ретинальной складчатостью.

Полученный практический результат лечения демонстрирует ресурсные возможности лазерного микрохирургического вмешательства (на микронном уровне) с целью микрокоррекции нарушенной микротопографии и микроархитектоники сетчатки макулярной области, обеспечивающей восстановление нормальных физиологических функций глаза.

## Литература

1. Pavan PR. Retinal fold in macula following intraocular gas: an avoidable complication of retinal detachment surgery. *Arch Ophthalmol.* 1984; 102 (1): 83–84.
2. Gruener AM, Lee RMH, Kourtis N, Herbert L. Surgical repair of macular fold after vitrectomy for bullous rhegmatogenous retinal detachment. *Retina.* 2013; 33 (4): 894–7.
3. Larrison WI, Frederick AR Jr, Peterson TJ, Topping TM. Posterior retinal folds following vitreoretinal surgery. *Arch Ophthalmol.* 1993; 111 (5): 621–5.
4. Lewen RM, Lyon CE, Diamond JG. Scleral buckling with intraocular air injection complicated by arcuate retinal folds. *Arch Ophthalmol.* 1987; 105 (9): 1212–4.
5. van Meurs JC, Humalda D, Mertens DA, Peperkamp E. Retinal folds through the macula. *Doc Ophthalmol.* 1991; 78 (3–4): 335–40.
6. Heimann H, Bopp S. Retinal Folds following Retinal Detachment Surgery. *Ophthalmologica.* 2011; 226 (1): 18–26.
7. Trinh L, Glacet-Bernard A, Colasse-Marthelot V, Leynaud JL, Soubrane G. Macular fold following retinal detachment surgery. *J Fr Ophthalmol.* 2006; 29 (9): 995–9.
8. El-Amir AN, Every S, Patel CK. Repair of macular fold following retinal detachment surgery. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2007; 35 (9): 791–2.
9. Herbert EN, Groenewald C, Wong D. Treatment of retinal folds using a modified macula relocation technique with perfluorohexyloctane tamponade. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87 (7): 921–2.
10. Ruiz-Moreno JM, Montero JA. Sliding macular fold following retinal detachment surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2011; 249 (2): 301–3.
11. Rishi Gupta, Douglas S M Iaboni, Mark E Seamone, David Sarraf. Inner, outer, and full thickness retinal folds following rhegmatogenous retinal detachment repair: A Review. *Surv Ophthalmol.* 2019; 64 (2): 135–61.
12. Столяренко Г. Е., Савостьянова Н. В., Дорошенко Д., Салахутдинов В. К. Макулярные складки после хирургии отслойки сетчатки с полным ее прилеганием. Современные технологии в офтальмологии. 2020 (1): 257–63.
13. Pierro L, Sadda SR, Gagliardi M, Mantovani E, de Benedetto U, Codenotti M, Bandello F. SD OCT features of dry arcuate longstanding retinal folds. *Eur J Ophthalmol.* 2011; 21 (6): 215–7.
14. Федорук Н. А., Федоров А. А., Больщунов А. В. Морфологические и гистохимические особенности субпорогового лазерного воздействия на структуры хориоретинального комплекса. Вестник офтальмологии. 2013; (5): 73–81.
15. Желтов Г. И., Романов Г. С., Романов О. Г., Иванова Е. В. Селективное действие лазерных импульсов на ретинальный пигментный эпителий. Физические основы. Новое в офтальмологии. 2012; (3): 37.
16. Ahn SJ, Woo SJ, Ahn J, Park KH. Spontaneous resolution of macular fold following retinal reattachment: morphologic features on SD-OCT. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2011; 42 Online: e81–83.
17. Barale P, Mora P, Errera M-H, Ores R, Paques M, Sahel J-A. Treatment of macular folds complicating retinal detachment surgery using air for retinal unfolding. *Retin Cases Br Reports.* 2018; 12 (3): 228–30.
18. Hayashi A, Usui S, Kawaguchi K, et al. Retinal changes after retinal translocation surgery with scleral imbrication in dog eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41 (13): 4288–92.
19. Benson SE, Schlottmann PG, Bunce C, Xing W, Charteris DG. Optical Coherence Tomography Analysis of the Macula after Vitrectomy Surgery for Retinal Detachment. *Ophthalmology.* 2006; 113 (7): 1179–83.

## References

1. Pavan PR. Retinal fold in macula following intraocular gas: an avoidable complication of retinal detachment surgery. *Arch Ophthalmol.* 1984; 102 (1): 83–84.
2. Gruener AM, Lee RMH, Kourtis N, Herbert L. Surgical repair of macular fold after vitrectomy for bullous rhegmatogenous retinal detachment. *Retina.* 2013; 33 (4): 894–7.
3. Larrison WI, Frederick AR Jr, Peterson TJ, Topping TM. Posterior retinal folds following vitreoretinal surgery. *Arch Ophthalmol.* 1993; 111 (5): 621–5.
4. Lewen RM, Lyon CE, Diamond JG. Scleral buckling with intraocular air injection complicated by arcuate retinal folds. *Arch Ophthalmol.* 1987; 105 (9): 1212–4.
5. van Meurs JC, Humalda D, Mertens DA, Peperkamp E. Retinal folds through the macula. *Doc Ophthalmol.* 1991; 78 (3–4): 335–40.
6. Heimann H, Bopp S. Retinal Folds following Retinal Detachment Surgery. *Ophthalmologica.* 2011; 226 (1): 18–26.
7. Trinh L, Glacet-Bernard A, Colasse-Marthelot V, Leynaud JL, Soubrane G. Macular fold following retinal detachment surgery. *J Fr Ophtalmol.* 2006; 29 (9): 995–9.
8. El-Amir AN, Every S, Patel CK. Repair of macular fold following retinal detachment surgery. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2007; 35 (9): 791–2.
9. Herbert EN, Groenewald C, Wong D. Treatment of retinal folds using a modified macula relocation technique with perfluorohexylcane tamponade. *Br J Ophthalmol.* 2003; 87 (7): 921–2.
10. Ruiz-Moreno JM, Montero JA. Sliding macular fold following retinal detachment surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2011; 249 (2): 301–3.
11. R Rishi Gupta, Douglas S M Iaboni, Mark E Seamone, David Sarraf. Inner, outer, and full thickness retinal folds following rhegmatogenous retinal detachment repair: A Review. *Surv Ophthalmol.* 2019; 64 (2): 135–61.
12. Stolyarenko GE, Savostyanova NV, Doroshenko D, Salahutdinov VK. Makuljarnye skladki posle hirurgii otslojki setchatki c polnym ee prileganiem. Sovremennye tehnologii v oftal'mologii. 2020 (1): 257–63. Russian.
13. Piero L, Sadda SR, Gagliardi M, Mantovani E, de Benedetto U., Codenotti M, Bandello F. SD OCT features of dry arcuate longstanding retinal folds. *Eur J Ophthalmol.* 2011; 21 (6): 215–7.
14. Fedoruk NA, Fedorov AA, Bolshunov AV. Morfologicheskie i gistohimicheskie osobennosti subporogovogo lazernogo vozdeistvija na struktury horioretnal'nogo kompleksa. *Vestnik oftal'mologii.* 2013; (5): 73–81. Russian.
15. Zheltov GI, Romanov GS, Romanov OG, Ivanova EV. Selektivnoe dejstvie lazernyh impul'sov na retinal'nyj pigmentnyj jepitelij. *Fizicheskie osnovy. Novoe v oftal'mologii.* 2012; (3): 37. Russian.
16. Ahn SJ, Woo SJ, Ahn J, Park KH. Spontaneous resolution of macular fold following retinal reattachment: morphologic features on SD-OCT. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2011; 42 Online: e81–83.
17. Barale P, Mora P, Errera M-H, Ores R, Paques M, Sahel J-A. Treatment of macular folds complicating retinal detachment surgery using air for retinal unfolding. *Retin Cases Br Reports.* 2018; 12 (3): 228–30.
18. Hayashi A, Usui S, Kawaguchi K, et al. Retinal changes after retinal translocation surgery with scleral imbrication in dog eyes. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41 (13): 4288–92.
19. Benson SE, Schlottmann PG, Bunce C, Xing W, Charteris DG. Optical Coherence Tomography Analysis of the Macula after Vitrectomy Surgery for Retinal Detachment. *Ophthalmology.* 2006; 113 (7): 1179–83.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИДЕОАНАЛИЗА ДВИЖЕНИЙ ПРИ ОЦЕНКЕ ЛОКОМОТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ПОСЛЕ АРТРОСКОПИЧЕСКОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ПЕРЕДНЕЙ КРЕСТООБРАЗНОЙ СВЯЗКИ

Е. Ю. Можейко<sup>1</sup>✉, А. О. Павлов<sup>2</sup>, М. А. Чистов<sup>1</sup>, М. А. Храмченко<sup>1</sup>, В. А. Гуревич<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

<sup>2</sup> Федеральный сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства, Красноярск, Россия

Разрыв передней крестообразной связки — одно из наиболее часто встречающихся повреждений капсульно-связочного аппарата коленного сустава, требующий оперативного лечения. В ходе длительного периода реабилитации после реконструктивных операций при данном виде травм у пациента формируется характерный двигательный паттерн. На сегодняшний день применение инновационных объективных методов диагностики и реабилитации двигательных нарушений при таких повреждениях актуально и востребовано. Представлен пример персонализированной реабилитационной оценки функции ходьбы пациента через два месяца после пластики передней крестообразной связки методом трехмерного видеонанализа движений. Выявлено нарушение паттерна ходьбы пациента: более медленный короткий редкий широкий шаг по сравнению с шагом здорового исследуемого; амплитуда сгибания-разгибания в крупных суставах оперированной нижней конечности меньше, чем в контрлатеральной нижней конечности пациента. Метод может быть использован в анализе динамики восстановительного лечения после оперативных вмешательств при разрыве крестообразных связок коленного сустава.

**Ключевые слова:** видеонанализ движений, передняя крестообразная связка, ходьба, постуральные нарушения, реабилитация

**Вклад авторов:** Е. Ю. Можейко — анализ результатов исследования, формулировка рабочей гипотезы, разработка дизайна исследования, определение цели и задач исследования, написание и утверждение рукописи для публикации; А. О. Павлов — формулировка рабочей гипотезы, утверждение рукописи; М. А. Чистов, М. А. Храмченко — поиск литературы, анализ результатов исследования, статистический анализ, написание статьи; В. А. Гуревич — отбор единиц наблюдения, анализ результатов, статистический анализ.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом КрасГМУ (протокол № 89/2019 от 17 апреля 2019 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Елена Юрьевна Можейко  
ул. Проспект Мира, д. 5, г. Красноярск, 660049, Россия; el\_mozhejko@mail.ru

**Статья получена:** 20.11.2021 **Статья принята к печати:** 13.12.2021 **Опубликована онлайн:** 28.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.063

### USING MOTION CAPTURE ANALYSIS FOR ASSESSING LOCOMOTION AFTER ARTHROSCOPIC ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RECONSTRUCTION

Mozheyko EYu<sup>1</sup>✉, Pavlov AO<sup>2</sup>, Chistov MA<sup>1</sup>, Khramchenko MA<sup>1</sup>, Gurevich VA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>2</sup> Federal Siberian Research and Clinical Center of FMBA, Krasnoyarsk, Russia

An anterior cruciate ligament tear is one of the most common injuries to the capsular ligament apparatus of the knee necessitating operative treatment. Postoperatively, patients with anterior cruciate ligament injuries develop a pathologic gait pattern. Today, innovative diagnostic and rehabilitation methods for patients with gait disturbances associated with such injuries are in high demand. Below, we present a case of using 3D motion capture analysis for the personalized assessment of gait function in a patient with the reconstructed anterior cruciate ligament two months after surgery. The analysis revealed that the patient had a slower, shorter, wider step with longer step intervals than the healthy subject; the flexion and extension amplitude in the large joints of the operated leg was smaller than in the healthy contralateral leg. Motion capture analysis can be used to assess the postoperative dynamics in patients with anterior cruciate ligament tears.

**Keywords:** motion capture, anterior cruciate ligament, gait, postural disorders, rehabilitation

**Author contribution:** Mozheyko EYu formulated the hypothesis, proposed the design, defined the goals and objectives of the study, analyzed study results, wrote and edited the manuscript; Pavlov AO formulated the hypothesis and edited the manuscript; Chistov MA, Khramchenko MA searched the literature, analyzed study results, performed statical analysis and wrote the manuscript; Gurevich VA recruited the subjects, analyzed the results and performed statistical analysis.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Krasnoyarsk State Medical University (Protocol № 89/2019 dated April 17, 2019).

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena Yu. Mozheyko  
Проспект Мира, 5, Красноярск, 660049, Россия; el\_mozhejko@mail.ru

**Received:** 20.11.2021 **Accepted:** 13.12.2021 **Published online:** 28.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.063

Травматизация связочного аппарата коленного сустава — патологическое состояние, при котором повреждена одна или несколько связок в коленном суставе [1]. Данный вид травмы чаще встречается у молодых людей трудоспособного возраста, активно занимающихся физической культурой и спортом, и является одной из основных причин обращения пациентов за медицинской помощью по профилю травматологии и ортопедии [1, 2].

Среди всех повреждений связочного аппарата коленного сустава преобладают разрывы передней крестообразной связки, встречающиеся в 30–35 случаев на 100 000 человек [1].

Крестообразные связки — это соединительнотканые сухожильные тяжи внутри коленного сустава, удерживающие бедренную и большеберцовую кости между собой, функция которых — ограничение чрезмерной подвижности голени относительно бедра [3].

Чаще всего повреждение передней крестообразной связки происходит в результате бесконтактной травмы, когда при фиксированной стопе происходит резкая ротация в коленном суставе [1, 4]. Как правило, многие изолированные повреждения связок — последствия спортивных травм с ротационным компонентом в механогенезе [5].

Диагностика разрывов передних крестообразных связок включает в себя сбор анамнеза травмы; проведение клинических тестов, таких как тест Лахмана, «переднего и заднего выдвижного ящика»; рентгенографию коленного сустава в прямой и боковой проекциях; магнитно-резонансную томографию (МРТ) коленного сустава [4].

Большую диагностическую ценность в анализе локомоций пациентов с данным видом травмы может иметь исследование ходьбы методом видеоанализа движений (ВАД), базирующеся на технологии компьютерного анализа видеозображений движений обследуемого, при котором видеозахват проводится бесконтактно, без применения кабельной связи регистрирующего устройства с объектом исследования [6].

Сегодня в клинической практике распространены технологии видеозахвата с применением пассивных маркеров. К сегментам тела обследуемого фиксируют световозвращающие датчики, сигналы от которых регистрируют видеокамеры; получаемая информация попадает в компьютер, где происходит ее обработка на основании конкретной компьютерной модели, по результатам которой формируется отчет, позволяющий наглядно провести анализ полученных угловых и линейных кинематических характеристик изучаемых движений [7].

Минимум три маркера должны располагаться в поле видимости как минимум двух камер (по причине того что плоскость задается в пространстве тремя точками) [8].

На обследуемом закрепляют калибровочные маркеры для измерения физических данных исследуемых сегментов. На сегодняшний день имеются стандарты для движений стопы, голени, бедра, таза, позвоночника, кисти, предплечья, плеча [9].

ВАД активно применяют для раскрытия механизмов бесконтактных повреждений передней крестообразной связки коленного сустава [10]. Трехмерный ВАД предложен к внедрению в клиническую практику с целью контроля за процессом восстановительного лечения у пациентов с травмами коленного сустава и прогнозирования повторного риска травмы [11].

Персонализированная оценка локомоторных функций методом ВАД у пациента с разрывом передней крестообразной связки представлена в клиническом наблюдении ниже.

**Таблица 1.** Темпо-ритмовые параметры ходьбы пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава и здорового человека

Показатели ВАД	Пациент с повреждением связочного аппарата коленного сустава			Здоровый человек		
	Левая нога	Правая нога	Обе ноги	Левая нога	Правая нога	Обе ноги
Темп ходьбы (шаг/мин)	94,4 ± 2,91	96,7 ± 3,78	95,5 ± 3,51	116,88 ± 3,25	117,56 ± 4,12	117,22 ± 3,68
Момент отрыва контактной ноги (% в фазе двойного шага)	62,0 ± 1,54	62,9 ± 2,87	62,4 ± 2,29	60,10 ± 1,79	60,90 ± 2,16	60,60 ± 1,97
Момент контакта противоположной ноги (% в фазе двойного шага)	49,80 ± 1,62	50,10 ± 2,32	49,90 ± 1,96	49,90 ± 1,13	50,10 ± 1,75	49,9 ± 1,56
Момент отрыва противоположной ноги (% в фазе двойного шага)	12,40 ± 0,71	12,80 ± 0,96	12,60 ± 0,85	9,80 ± 0,94	10,90 ± 0,85	10,50 ± 0,96
Время одиночной опоры (с)	0,48 ± 0,021	0,46 ± 0,038	0,47 ± 0,031	0,41 ± 0,026	0,44 ± 0,020	0,43 ± 0,025
Время двойной опоры (с)	0,31 ± 0,023	0,32 ± 0,020	0,32 ± 0,021	0,21 ± 0,023	0,25 ± 0,018	0,23 ± 0,021
Время шага (с)	0,64 ± 0,031	0,62 ± 0,040	0,63 ± 0,036	0,51 ± 0,027	0,56 ± 0,028	0,54 ± 0,028
Время двойного шага (с)	1,27 ± 0,042	1,24 ± 0,049	1,26 ± 0,047	1,02 ± 0,044	1,12 ± 0,040	1,08 ± 0,048
Длина шага (м)	0,61 ± 0,021	0,62 ± 0,016	0,61 ± 0,020	0,68 ± 0,033	0,75 ± 0,016	0,72 ± 0,027
Ширина шага (м)	0,20 ± 0,018	0,20 ± 0,010	0,20 ± 0,015	0,07 ± 0,012	0,07 ± 0,010	0,07 ± 0,011
Длина двойного шага (м)	1,21 ± 0,023	1,23 ± 0,030	1,22 ± 0,029	1,36 ± 0,014	1,51 ± 0,0071	1,45 ± 0,011
Скорость ходьбы (м/с)	0,95 ± 0,042	0,99 ± 0,057	0,97 ± 0,053	1,24 ± 0,028	1,44 ± 0,025	1,34 ± 0,028

## Клинический случай

Пациенту И., 21 год, с установленным диагнозом «разрыв передней крестообразной связки левого коленного сустава, частичный разрыв задней крестообразной связки» 19.01.2021 была проведена операция — лечебно-диагностическая артроскопия левого коленного сустава, резекция культи передней крестообразной связки, реконструкция передней крестообразной связки с применением аутотрансплантата из малоберцовой мышцы и фиксацией винтами PEEK Interference Screws (Arthrex; США). Послеоперационный период протекал без осложнений. Проведено комплексное консервативное лечение: антибактериальная и инфузионная терапия, применение анальгетиков, антикоагулянтов, перевязки. Иммобилизацию коленного сустава осуществляли титром, ходьбу — с опорой на кости. Пациент был выписан из стационара в удовлетворительном состоянии.

Заключение МРТ-исследования левого коленного сустава от 03.12.2020 (до операции): импрессионный перелом наружного мыщелка бедренной кости. Трабекулярный отек наружного мыщелка и межмыщелковой области большеберцовой кости, внутреннего мыщелка бедренной кости. Синовит и супрапателлярный бурсит. МР-признаки повреждения передней крестообразной связки, лигаментита внутренней коллатеральной связки. Умеренные дегенеративные изменения переднего рога наружного и заднего рога внутреннего менисков. Отек периартикулярных мягких тканей.

Исследуемый В., 22 года, без жалоб со стороны опорно-двигательного аппарата, в анамнезе не имеющий операций и травм на нижних конечностях, антропометрически сопоставим с пациентом И.

Пациент и исследуемый были обследованы в лаборатории ВАД Федерального сибирского научно-клинического центра ФМБА России с использованием программно-аппаратного комплекса Vicon Motion Capture Systems (Vicon; Великобритания). Комплекс состоит из 12 инфракрасных видеокамер (типа T20), трех силовых платформ, коммутатора «GigaNet» и компьютера с установленным программным обеспечением (программа для обеспечения видеозахвата и обработки полученных данных «Nexus» версии 1.7.15, программа для создания отчетов «Polygon» версии 3.5.1).

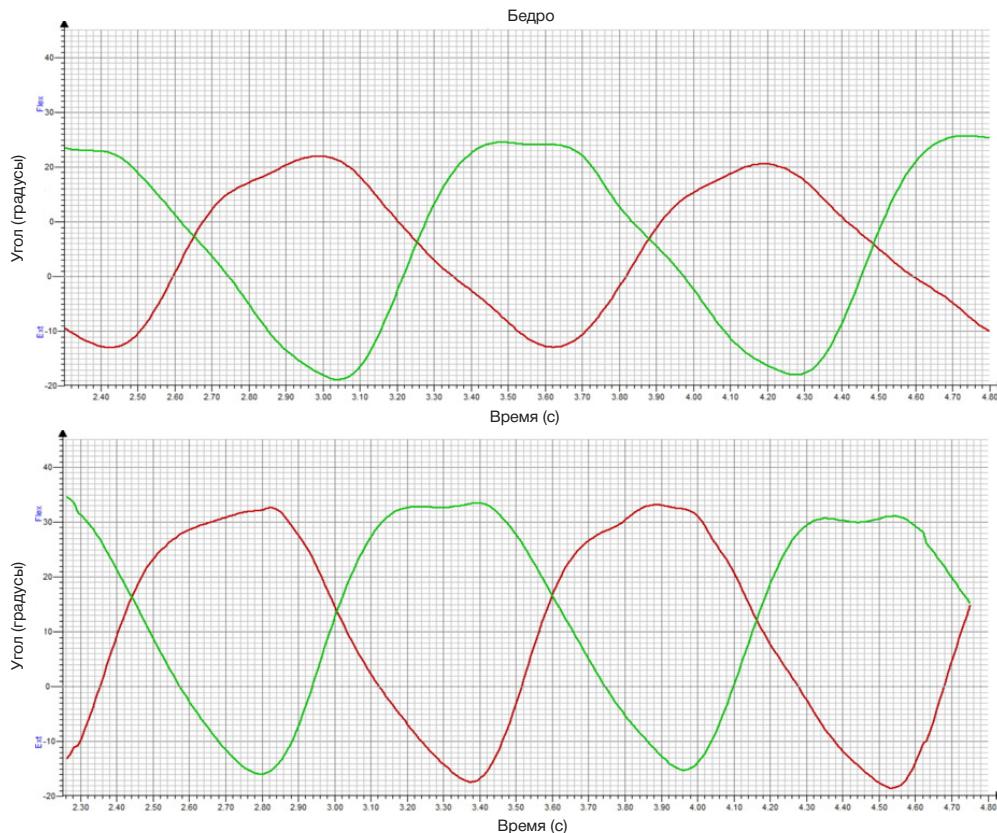


Рис. 1. Сгибание-разгибание бедра в тазобедренном суставе за один цикл ходьбы: у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава (вверху); у здорового человека (внизу)

Процедура обследования состояла из нескольких этапов. На первом этапе проводили антропометрию с целью «привязки» индивидуальных размеров регистрируемых сегментов тела пациента к компьютерной модели. Далее маркеры прикрепляли на костные ориентиры исследуемого. Пациенту и исследуемому предлагали пройти в обычном темпе по трем силовым платформам. Во время ходьбы камеры фиксировали положение маркеров в пространстве, а платформы регистрировали реакцию опоры. Каждый совершил как минимум 10 шаговых циклов по трем силовым платформам.

У пациента с повреждением передней крестообразной связки в сравнении со здоровым человеком зарегистрировали следующие изменения параметров ходьбы: значимое замедление смены шагов (темперы ходьбы) и скорости ходьбы при укорочении длины одиночного и двойного шага; увеличение времени одиночного и двойного шага, одиночной и двойной опоры; уменьшение момента отрыва контактной и противоположной ноги (табл. 1).

Таблица 2. Средние значения углов и амплитуды сгибания-разгибания бедра в тазобедренном суставе у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава и здорового пациента за один цикл ходьбы

	Пациент с повреждением связочного аппарата коленного сустава		Здоровый человек	
	Левая нога	Правая нога	Левая нога	Правая нога
	Ме [ $P_{25}$ ; $P_{75}$ ]			
Угол 1	-13,71 [-15,03; -13,0]	-18,08 [-18,59; -17,63]	-17,79 [-16,79; -15,26]	-16,28 [-16,63; -15,93]
	23,3 [22,27; 24,48]	24,43 [23,62; 25,84]	34,52 [33,16; 35,19]	32,66 [31,07; 33,16]
$\Delta$	37,62 [35,51; 38,56]	42,68 [41,09; 43,83]	50,1 [49,57; 50,72]	48,84 [47,86; 49,67]

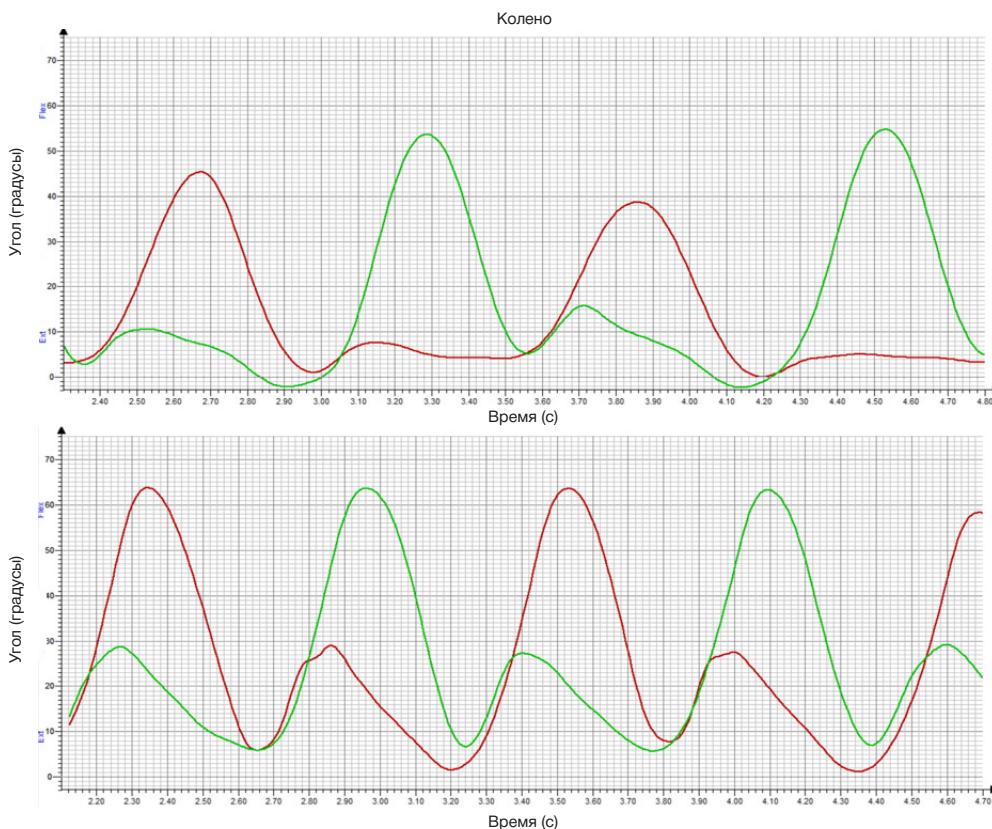


Рис. 2. Сгибание-разгибание голени в коленном суставе за один цикл ходьбы: у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава (вверху); у здорового человека (внизу)

С помощью метода трехмерного ВАД возможна оценка амплитуды движений различных частей тела в разные моменты цикла шага, а также сопоставление полученных данных с показателями подометрии.

Показатели величины амплитуды движения в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава и здорового человека наглядно представлены на графиках (рис. 1–4). Во время ходьбы у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава амплитуда сгибания-разгибания оперированной (левой) ноги в тазобедренном суставе меньше, чем правой (рис. 1, табл. 2).

При анализе показателей сгибания-разгибания голени в коленном суставе во время одного шагового цикла у пациента с травмой связочного аппарата левого коленного сустава выявлено снижение амплитуды сгибания-разгибания в левом коленном суставе (рис. 2, табл. 3).

Во время ходьбы у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава амплитуда сгибания-

разгибания оперированной ноги в голеностопном суставе меньше, чем правой (рис. 3, табл. 4).

Сниженная амплитуда движений в суставах нижних конечностей обусловлена как нарушенным паттерном ходьбы, так и снижением пассивного и активного объемов движений в данном регионе, что опять же обусловлено определенным периодом иммобилизации (ортез/туттор) после оперативного лечения и недостатком адекватного двигательного стереотипа. Можно также отметить тот факт, что на объем движений в том или ином суставе может влиять то место, где производят забор трансплантата для пластики передней крестообразной связки. Необходимы дальнейшие исследования.

Выявлено также, что ротация в левом коленном суставе у пациента с травмой значительно меньше, чем в правом (рис. 4, табл. 5). Незначительная асимметрия ротации в коленном суставе отмечена и у здорового исследуемого, однако она незначительна.

Таблица 3. Средние значения углов и амплитуды сгибания-разгибания голени в коленном суставе у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава и здорового пациента за один цикл ходьбы

	Пациент с повреждением связочного аппарата коленного сустава		Здоровый человек	
	Левая нога	Правая нога	Левая нога	Правая нога
	Ме [ $P_{25}$ ; $P_{75}$ ]			
Угол 1	1,39	-2,89	1,7	5,3
	[1,04; 2,37]	[-3,32; -2,36]	[1,33; 2,26]	[5,02; 5,67]
Угол 2	45,07	52,82	61,89	63,73
	[42,61; 48,18]	[51,2; 54,59]	[60,82; 63,34]	[63,4; 64,86]
$\Delta$	43,16	56,01	60,85	58,39
	[40,54; 46,55]	[54,89; 57,09]	[58,47; 61,57]	[57,73; 59,17]

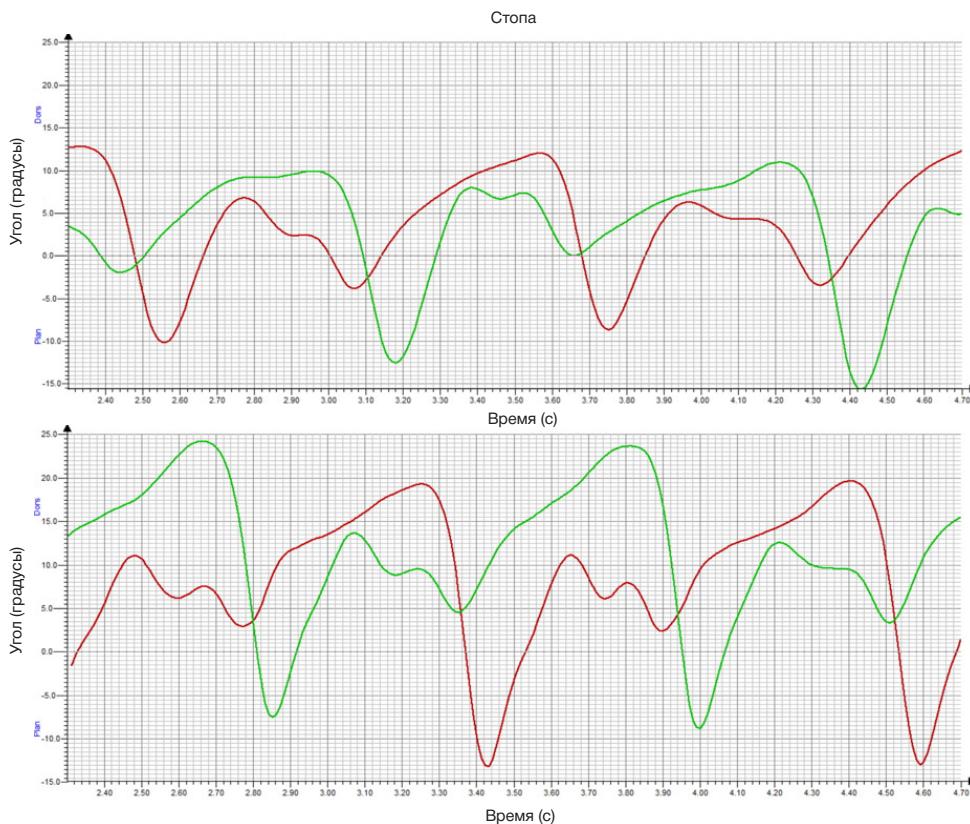


Рис. 3. Сгибание-разгибание стопы в голеностопном суставе за один цикл ходьбы: у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава (вверху); у здорового человека (внизу)

#### Обсуждение клинического случая

Метод ВАД рассматривали для оценки восстановления статолокомоторных функций у спортсменов после реконструкции передних крестообразных связок при помощи теста прыжка на одной ноге [12]. Авторы работы учитывали: сгибание колена при первоначальном контакте, пиковое сгибание колена, диапазон движений при сгибании колена и вальгусную деформацию колена во фронтальной и сагиттальной плоскостях. Темпо-ритмовые показатели ходьбы не исследовали. По результатам исследования ВАД рекомендован как простой и более точный метод для оценки стабильности коленного сустава, а также возможности возвращения пациентов в спорт после операции по поводу разрыва передней крестообразной связки коленного сустава [12].

Другие авторы исследовали ВАД спортсменов после пластики передней крестообразной связки коленных суставов с целью устранения возможности наступления

раннего травматизма [13]. Ими был применен ВАД ног «Motion analysis» с оценкой нестабильности коленного сустава во время ходьбы, бега, удара по мячу со средней силой и хлыстообразного. В данном исследовании помимо темпо-ритмовых показателей ходьбы были оценены отношение углов сгибания и разгибания оперированного колена и здорового при беге и ударе по мячу. Угловые показатели движения не исследовали. Сделан вывод, что ВАД можно применять как самостоятельный метод и в дополнение к другим методам исследования параметров ходьбы [13].

При исследовании спортсменок с повреждением передней крестообразной связки коленного сустава при помощи ВАД были зафиксированы средний угол сгибания колена при начальном контакте, средний вальгусный угол при начальном контакте, угол наружной и внутренней ротации коленного сустава; средняя пиковая вертикальная сила реакции опоры. Выявлено, что причиной возникновения травмы передней крестообразной связки

Таблица 4. Средние значения углов и амплитуды сгибания-разгибания стопы в голеностопном суставе у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава и здорового пациента за один цикл ходьбы

	Пациент с повреждением связочного аппарата коленного сустава		Здоровый человек	
	Левая нога	Правая нога	Левая нога	Правая нога
	Ме [ $P_{25}$ ; $P_{75}$ ]			
Угол 1	-8,24 [-9,41; -7,01]	-15,65 [-17,19; -14,37]	-9,59 [-12,05; -7,8]	-9,18 [-10,39; -8,52]
	13,48 [12,99; 14,71]	10,79 [9,25; 11,47]	19,76 [18,26; 20,49]	23,52 [22,11; 24,22]
$\Delta$	21,9 [20,98; 22,85]	26,21 [25,16; 27,07]	29,33 [28,58; 30,28]	32,26 [30,83; 33,91]

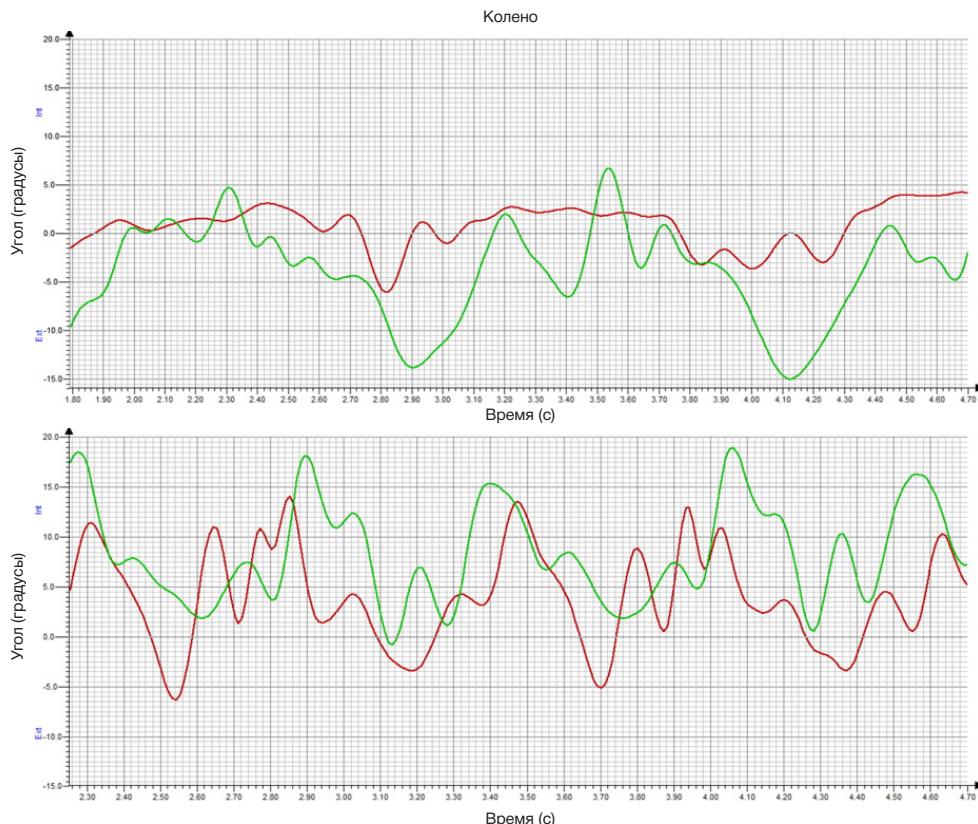


Рис. 4. Ротация коленного сустава за один цикл ходьбы: у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава (вверху); у здорового человека (внизу)

является сочетание вальгусной нагрузки и внутренней ротации коленного сустава [14].

Авторы другой работы изучали механизм травмы «slip-catch» передней крестообразной связки у спортсменов посредством ВАД с оценкой угла сгибания в коленном суставе, угла внутренней ротации большеберцовой кости; вальгусного угла колена. Темпо-ритмовые показатели и угловые показатели движения в тазобедренном, голеностопном суставах не исследовали. Обнаружено, что причинами травмы передней крестообразной связки по типу «slip-catch» являются вальгусная нагрузка и внутренняя ротация в сочетании с отведением колена [15].

Полученные в представленном клиническом случае результаты изменения параметров движений оперированной конечности в виде уменьшения амплитуды сгибания-

разгибания в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах, снижения ротации в левом коленном суставе коррелируют с полученными ранее данными [16, 17].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трехмерный ВАД — ценный метод анализа тонких изменений биомеханики ходьбы у пациентов с травмами передней крестообразной связки. Помимо амплитудных и угловых показателей движения здоровой и оперированной конечностей получены особенности темпо-ритмовых параметров ходьбы.

Необходимы дальнейшие исследования для уточнения длительности патологических изменений и возможности целенаправленной коррекции данных нарушений использованием реабилитационных вмешательств.

Таблица 5. Средние значения углов и амплитуды ротации коленного сустава у пациента с повреждением связочного аппарата коленного сустава и у здорового пациента за один цикл ходьбы

	Пациент с повреждением связочного аппарата коленного сустава		Здоровый человек	
	Левая нога	Правая нога	Левая нога	Правая нога
	Ме [ $P_{25}; P_{75}$ ]			
Угол 1	-5,83 [-7,48; -4,96]	-14,55 [-15,73; -13,37]	-7,28 [-8,23; -5,12]	0,57 [-0,64; 1,16]
	2,41 [1,78; 2,79]	4,12 [3,13; 5,54]	14,27 [13,91; 15,17]	17,78 [17,02; 18,9]
$\Delta$	8,15 [7,04; 9,58]	19,01 [17,2; 20,69]	21,59 [19,54; 22,75]	17,05 [16,03; 18,8]

## Литература

- Повреждение связок коленного сустава. Клинические рекомендации. Общероссийская общественная организация «Ассоциация травматологов-ортопедов России (АТОР)». 2020; 36 с.
- Королев А. В., Афанасьев А. П., Ильин Д. О., Герасимов Д. О., Рязанцев М. С., Каданцев П. М. Повреждения задней крестообразной связки: биомеханика, основные направления диагностики, лечения и профилактики вторичного остеоартрита. Гений ортопедии. 2020; 26 (3): 413–8. DOI: 10.17116/hirurgia2020091130.
- Федурова Д. В., Ямалетдинова Г. А. Методы оценки процесса восстановления после реконструкции передних крестообразных связок коленного сустава. Научно-спортивный вестник Урала и Сибири. 2018; 1 (17): 68–85.
- Разваляева Д. В., Разваляев А. С., Еремушкин М. А., Стяжкина Е. М. Сравнительная оценка эффективности консервативной и оперативной тактики лечения пациентов после травмы передней крестообразной связки с использованием роботизированной механотерапевтической системы "CONTREX". Вестник восстановительной медицины. 2019; 5: 35–39.
- Валиев Э. Ю., Хакимов Р. Н., Убайдуллаев Б. С. Современный взгляд на лечение комплексных поврежденных связок коленного сустава. Вестник экстренной медицины. 2015; 2: 81–84.
- Ma Y, Soatto S, Košecká J, Sastry SS. An invitation to 3D vision. From Images to Geometric Models. Interdisciplinary Applied Mathematics. New York: Springer, 2004.
- Wang I, Hu W, Tan T. Recent developments in human motion analysis. Pattern Recognition. 2003; 36 (3): 585–601. DOI: 10.1016/S0031-3203(02)00100-0.
- Скворцов Д. В. Методика исследования кинематики движений и современные стандарты. Видеоанализ. Лечебная физкультура и спортивная медицина. 2012; 12: 4–10.
- Cappozzo A, Cappello A, Croce UD, Pensalfini F. Surface-marker cluster design criteria for 3-D bone movement reconstruction. IEEE Transactions on Biomedical Engineering. 1997; 44 (12): 1165–74. DOI: 10.1109/10.649988.
- Hewett TE, Torg JS, Boden BP. Video analysis of trunk and knee motion during non-contact anterior cruciate ligament injury in female athletes: lateral trunk and knee abduction motion are combined components of the injury mechanism. British Journal of Sports Medicine. 2009; 49 (6): 417–22. DOI: 10.1136/bjsm.2009.059162.
- Asaeda M, Nakamae A, Hirata K, Kono Y, Uenishi H, Adachi N. Factors associated with dynamic knee valgus angle during single-leg forward landing in patients after anterior cruciate ligament reconstruction. Asia-Pacific Journal of Sports Medicine, Arthroscopy, Rehabilitation and Technology. 2020; 24 (22): 56–61. DOI: 10.1016/j.asmart.2020.07.002.
- Welling W, Benjaminse A, Seil R, Lemmink K, Gokeler A. Altered movement during single leg hop test after ACL reconstruction: implications to incorporate 2-D video movement analysis for hop tests. Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy. 2018; 26 (10): 3012–9. DOI: 10.1007/s00167-018-4893-7.
- Преображенский В. Ю., Зиновьев О. В., Сидоренко Е. В., Галухин В. В., Внуков Д. В., Преображенский А. В., и др. Оценка физического состояния спортсменов после пластики передней крестообразной связки с целью предупреждения повторных травм. Доктор.ру. 2011; 8 (67): 38–41.
- Koga H, Nakamae A, Shima Yo, Iwasa J, Myklebust G, Engebretsen L, et al. Mechanisms for noncontact anterior cruciate ligament injuries: knee joint kinematics in 10 injury situations from female team handball and basketball. The American journal of sports medicine. 2010; 38 (11): 2218–25. DOI: 10.1177/0363546510373570.
- Bere T, Mok K, Koga H, Krosshaug T, Nordsletten L, Bahr R. Kinematics of anterior cruciate ligament ruptures in World Cup alpine skiing: 2 case reports of the slip-catch mechanism. The American journal of sports medicine. 2013; 41 (5): 1067–73. DOI: 10.1177/0363546513479341.
- Clark N, Forshey T, Mulligan I, Kindel C. Knee mechanics during a change of direction movement in division I athletes following full return to sport from anterior cruciate ligament reconstruction. Physical Therapy in Sport. 2018; 35 (4): 75–78. DOI: 10.1016/j.ptsp.2018.11.008.
- Sharifmoradi K, Karimi M, Hoseini Y. Evaluation of the Asymmetry of Leg Muscles Forces in the Subjects with Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. The Journal of Knee Surgery. 2019; 34 (4): 357–62. DOI: 10.1055/s-0039-1695703.

## References

- Povrezhdenie sviazok kolennogo sustava. Klinicheskie rekomendacii. Obshherossijskaja obshhestvennaja organizacija «Asociacija travmatologov-ortopedov Rossii (ATOR)». 2020; 36 s. Russian.
- Korolev AV, Afanasev AP, Ilin DO, Gerasimov DO, Ryazancev MS, Kadancev PM. Povrezhdenija zadnej krestoobraznoj sviazki: biomehanika, osnovnye napravlenija diagnostiki, lechenija i profilaktiki vtorichnogo osteoartrita. Genij ortopedii. 2020; 26 (3): 413–8. DOI: 10.17116/hirurgia2020091130. Russian.
- Fedulova DV, Yamaletdinova GA. Metody ocenki processa vosstanovlenija posle rekonstrukcii perednih krestoobraznyh sviazok kolennogo sustava. Nauchno-sportivnyj vestnik Urala i Sibiri. 2018; 1 (17): 68–85. Russian.
- Razvalyaeva DV, Razvalyaev AS, Eremushkin MA, Styazhkina EM. Sravnitel'naja ocenka jekfektivnosti konservativnoj i operativnoj taktiki lechenija pacientov posle travmy perednej krestoobraznoj sviazki s ispol'zovaniem robotizirovannoj mehanoterapevticheskoy sistemy "CONTREX". Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. 2019; 5: 35–39. Russian.
- Valiev YeYu, Hakimov RN, Ubajdullaev BS. Sovremennyj vzgled na lechenie kompleksnyh povrezhdenij sviazok kolennogo sustava. Vestnik jekstrennoj mediciny. 2015; 2: 81–84. Russian.
- Ma Y, Soatto S, Košecká J, Sastry SS. An invitation to 3D vision. From Images to Geometric Models. Interdisciplinary Applied Mathematics. New York: Springer, 2004.
- Wang I, Hu W, Tan T. Recent developments in human motion analysis. Pattern Recognition. 2003; 36 (3): 585–601. DOI: 10.1016/S0031-3203(02)00100-0.
- Skvorcov DV. Metodika issledovaniija kinematiki dvizhenij i sovremennoe standarty. Videoanaliz. Lechebnaja fizkul'tura i sportivnaja medicina. 2012; 12: 4–10. Russian.
- Cappozzo A, Cappello A, Croce UD, Pensalfini F. Surface-marker cluster design criteria for 3-D bone movement reconstruction. IEEE Transactions on Biomedical Engineering. 1997; 44 (12): 1165–74. DOI: 10.1109/10.649988.
- Hewett TE, Torg JS, Boden BP. Video analysis of trunk and knee motion during non-contact anterior cruciate ligament injury in female athletes: lateral trunk and knee abduction motion are combined components of the injury mechanism. British Journal of Sports Medicine. 2009; 49 (6): 417–22. DOI: 10.1136/bjsm.2009.059162.
- Asaeda M, Nakamae A, Hirata K, Kono Y, Uenishi H, Adachi N. Factors associated with dynamic knee valgus angle during single-leg forward landing in patients after anterior cruciate ligament reconstruction. Asia-Pacific Journal of Sports Medicine, Arthroscopy, Rehabilitation and Technology. 2020; 24 (22): 56–61. DOI: 10.1016/j.asmart.2020.07.002.
- Welling W, Benjaminse A, Seil R, Lemmink K, Gokeler A. Altered movement during single leg hop test after ACL reconstruction: implications to incorporate 2-D video movement analysis for hop tests. Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy. 2018; 26 (10): 3012–9. DOI: 10.1007/s00167-018-4893-7.
- Preobrazhenskij VYu, Zinovev OV, Sidorenko EV, Galuhin WV, Vnukov DV, Preobrazhenskij AV, i dr. Ocenka fizicheskogo sostojaniija sportsmenov posle plastiki perednej krestoobraznoj

- sviazki s cel'ju preduprezhdenija povtornyh travm. Doktor.ru. 2011; 8 (67): 38–41. Russian.
- 14. Koga H, Nakamae A, Shima Yo, Iwasa J, Myklebust G, Engebretsen L, et al. Mechanisms for noncontact anterior cruciate ligament injuries: knee joint kinematics in 10 injury situations from female team handball and basketball. *The American journal of sports medicine*. 2010; 38 (11): 2218–25. DOI: 10.1177/0363546510373570.
  - 15. Bere T, Mok K, Koga H, Krosshaug T, Nordsletten L, Bahr R. Kinematics of anterior cruciate ligament ruptures in World Cup alpine skiing: 2 case reports of the slip-catch mechanism. *The American journal of sports medicine*. 2013; 41 (5): 1067–73. DOI: 10.1177/0363546513479341.
  - 16. Clark N, Forshay T, Mulligan I, Kindel C. Knee mechanics during a change of direction movement in division I athletes following full return to sport from anterior cruciate ligament reconstruction. *Physical Therapy in Sport*. 2018; 35 (4): 75–78. DOI: 10.1016/j.ptsp.2018.11.008
  - 17. Sharifmoradi K, Karimi M, Hoseini Y. Evaluation of the Asymmetry of Leg Muscles Forces in the Subjects with Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *The Journal of Knee Surgery*. 2019; 34 (4): 357–62. DOI: 10.1055/s-0039-1695703.

## БИОИМПЕДАНСНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ТЕЛА В ДИАГНОСТИКЕ НАРУШЕНИЙ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

М. Ю. Гаврюшин<sup>✉</sup>, О. В. Сазонова, Д. О. Горбачев, Л. М. Бородина, О. В. Фролова, Д. С. Тупикова, О. В. Бережнова, С. Р. Трубецкая

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

В клинической практике для диагностики избыточной массы тела и ожирения традиционно используют антропометрический метод. Ожирение — это избыточное развитие прежде всего висцеральной и подкожной жировой ткани, которое может быть диагностировано методом биоимпедансометрии (БИА). Целью исследования было оценить роль биоимпедансного анализа состава тела в диагностике нарушений физического развития детей и подростков. Проведено антропометрическое и биоимпедансометрическое обследование 431 самарского школьника I и II групп здоровья в возрасте 12–16 лет (230 мальчиков и 201 девочка). Анализ результатов проводили по региональным шкалам регрессии, показателю BAZ и доле жировой массы. Результаты оценки по шкалам регрессии выявили 22,61% мальчиков и 23,43% девочек с избыточной массой тела, при этом более 2/3 выборки имели нормальное физическое развитие. Показатель BAZ выявил значительно большее число детей с избыточной массой тела среди мальчиков (25,7%), чем среди девочек (11,5%,  $p < 0,01$ ). Отклонения доли жировой массы по данным БИА определены не только среди детей с дисгармоничным физическим развитием, но и среди 60% детей с нормальной массой тела. При этом выявленные по шкалам регрессии отклонения массы тела данные БИА подтверждали в большем числе случаев, нежели диагнозы избыточной или недостаточной массы тела, полученные по индексу BAZ. Исходя из этого, первоначально, для своевременной диагностики нарушений нутритивного статуса у детей, может быть использован антропометрический анализ с применением региональных шкал регрессии. Для подтверждения избыточной массы тела и ожирения у детей, а также для дальнейшей терапии необходим достоверный метод оценки жировой составляющей организма, в качестве которого может выступать метод БИА.

**Ключевые слова:** гигиена детей и подростков, физическое развитие, индекс массы тела, шкалы регрессии, биоимпедансный анализ

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МК-5809.2021.3).

**Вклад авторов:** М. Ю. Гаврюшин — инициатор исследования, дизайн, сбор материала; О. В. Сазонова — научное руководство; Д. О. Горбачев, Л. М. Бородина — анализ литературы, подготовка и редактирование рукописи; О. В. Фролова, Д. С. Тупикова, О. В. Бережнова — сбор материала, обработка результатов; С. Р. Трубецкая — обработка результатов, подготовка рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 24 февраля 2021 г.). Добровольное информированное согласие было получено для каждого участника (его законного представителя).

**Для корреспонденции:** Михаил Юрьевич Гаврюшин  
ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099, Россия; m.yu.gavryushin@samsmu.ru

**Статья получена:** 01.12.2021 **Статья принята к печати:** 15.12.2021 **Опубликована онлайн:** 28.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.062

## BIOIMPEDANCE ANALYSIS OF BODY COMPOSITION IN THE DIAGNOSIS OF PHYSICAL DEVELOPMENT DISORDERS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

Gavryushin MYu<sup>✉</sup>, Sazonova OV, Gorbachev DO, Borodina LM, Frolova OV, Tupikova DS, Berezhnova OV, Trubetskaya SR

Samara State Medical University, Samara, Russia

Traditionally, anthropometric method is used in clinical practice for the diagnosis of excess body weight. Obesity is the excess development of primarily visceral and subcutaneous adipose tissue, which can be diagnosed by bioimpedance analysis (BIA). The study was aimed to assess the role of BIA of body composition in the diagnosis of the physical development disorders in children and adolescents. Anthropometric assessment and BIA were performed in 431 Samara school students aged 12–16 of the health status groups I and II (230 boys and 201 girls). The results were analyzed with the use of the regional regression scores, BAZ indices, and the body fat percentage values. The results of estimation using the regression scores showed that 22.61% of boys and 23.43% of girls were overweight, while more than 2/3 of the sample had a normal pattern of physical development. The BAZ indices revealed a significantly higher proportion of overweight children among boys (25.7%), than among girls (11.5%,  $p < 0.01$ ). The body fat percentage fluctuations based on the BIA data were found not only in children with disharmonious physical development, but also in 60% of children with normal body weight. Moreover, the data of BIA confirmed the body weight fluctuations, revealed with the use of the regression scores, in the significantly larger number of cases compared to the low body weight and excess body weight, diagnosed based on the BAZ indices. Accordingly, anthropometric analysis with the use of the regional regression scores may be used at the baseline for the early diagnosis of the nutritional status disorders in children. To confirm overweight and obesity in children, as well as to provide further treatment, the reliable method for estimation of the body fat content is required, which may be the method of BIA.

**Keywords:** hygiene of children and adolescents, physical development, body mass index, regression scales, bioimpedance analysis

**Funding:** the study was supported by the grant from the President of the Russian Federation (МК-5809.2021.3).

**Author contribution:** Gavryushin MYu — research initiator, design, data acquisition; Sazonova OV — scientific management; Gorbachev DO, Borodina LM — literature analysis, manuscript writing and editing; Frolova OV, Tupikova DS, Berezhnova OV — data acquisition, processing of the results; Trubetskaya SR — processing of the results, manuscript writing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Samara State Medical University (protocol № 2 dated February 24, 2021). The informed consent was obtained from all participants (their legal representatives).

**Correspondence should be addressed:** Mikhail Yu. Gavryushin  
Chapayevskaya, 89, Samara, 443099, Russia; m.yu.gavryushin@samsmu.ru

**Received:** 01.12.2021 **Accepted:** 15.12.2021 **Published online:** 28.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrsmu.2021.062

Физическое развитие является неотъемлемым критерием проводимой в ходе профилактических осмотров детей и подростков комплексной оценки состояния здоровья, отражающим влияние комплекса факторов [1–3]. По данным исследований, проведенных в регионах нашей страны, гармоничное физическое развитие имеют чуть более 60% мальчиков и около 67% девочек. Дисгармоничное физическое развитие в большей степени обусловлено избыточной массой тела, которую имеют 18% мальчиков и 14% девочек [3–6]. Значимость проблемы избыточной массы тела определяют высокая частота развития патологических состояний и осложнений, высокий риск развития ожирения с сопутствующей патологией и последующей инвалидизацией пациентов молодого возраста [7, 8]. Традиционно, в клинической практике для диагностики избыточной массы тела и ожирения используют антропометрический метод, предполагающий анализ результатов стандартных измерений длины и массы тела, а также расчет оценочных индексов, главным образом ИМТ [9]. Для анализа результатов расчета Всемирной организацией здравоохранения были разработаны карты ИМТ для детей и подростков в возрасте от 2 до 19 лет [10]. Помимо этого, оценку соответствия массы длине тела можно проводить по шкалам регрессии, центильным шкалам и сигмальным отклонениям [10].

Ожирение — это избыточное развитие не столько жировой массы тела в целом, сколько жировой ткани висцерального и подкожного типа [11–13]. Несмотря на то что индекс массы тела прямо коррелирует с антропометрическими данными ребенка, он не отражает фактическую долю жировой составляющей в организме, которая подвержена сильным изменениям у детей в различные возрастные периоды. Таковым, к примеру, является период интенсивного роста у детей, когда ИМТ может указывать на нормальное отношение общей массы тела к длине тела, а фактическое количество жировой массы может быть недооценено, что приведет к ошибочной интерпретации результатов исследований [8, 14]. В этой связи применение исключительно антропометрического метода в качестве диагностического критерия избыточной массы тела и ожирения может вызывать сомнения. При этом следствием использования разных антропометрических диагностических признаков может быть малая сопоставимость результатов исследований [3, 6, 9, 15].

Биофизические же методы обеспечивают более точные результаты измерений характеристик массы тела. Наиболее широкое применение получил метод биоимпедансного анализа состава тела. Метод биоимпедансометрии (БИА) основан на разнице электрического сопротивления (импеданса) жировой и безжировой (тощей) массы тела, содержании воды и компонентах тела. Результаты исследования используют в клинической практике для анализа пищевого статуса, состояния питания, риска развития метаболического синдрома, ожирения, патологии сердечно-сосудистой и других систем организма, а также в качестве диагностического критерия эффективности проводимой терапии при различных заболеваниях [16–19]. В свою очередь сопоставление результатов биоимпедансной оценки жировой массы в процентах от массы тела и ИМТ у здоровых детей показывает, что одним и тем же значениям ИМТ соответствует широкий диапазон значений процента жировой массы [20]. Таким образом, использование результатов биоимпедансного анализа состава тела в совокупности с антропометрическими данными в качестве диагностических критериев нарушений в физическом развитии ребенка требует изучения.

Целью исследования было оценить роль биоимпедансного анализа состава тела в диагностике нарушений физического развития детей и подростков.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное когортное исследование распространенности нарушений физического развития по данным антропометрических и биоимпедансометрических измерений среди учащихся средних классов общеобразовательных учреждений г. Самары. Обследование детей проводили в общеобразовательных учреждениях по месту учебы с марта по май 2021 г. с перерывами на весенние каникулы (с 22 по 28 марта) и официальные нерабочие дни. Всего обследованы 431 ребенок в возрасте 12–16 лет (медиана 13 лет 8 месяцев): 230 мальчиков (53,4%) и 201 девочка (46,6%), обучавшиеся в 5–9 классах общеобразовательных школ.

Критерии включения детей в исследование: возраст 12–16 лет, постоянное проживание на территории Самарской области; соответствие I или II группе здоровья по данным медицинской документации; наличие добровольного информированного согласия родителей (законных представителей) на участие в исследовании. Критерии исключения: возраст на момент обследования менее 11 лет 6 месяцев 1 дня и более 16 лет 6 месяцев 1 дня; наличие хронических заболеваний; прием лекарственных препаратов; наличие выраженных отеков конечностей; постоянное проживание за пределами Самарской области; отсутствие добровольного информированного согласия (отказ) родителей (законных представителей) на участие в исследовании.

Измерение антропометрических показателей проводили следующим образом: длину тела измеряли с помощью ростометра МСК-233 («Медстальконструкция»; Россия) с точностью до 5 мм, а массу тела — на медицинских весах ВЭМ-150-А1 («Масса-К»; Россия) с точностью до 50 г. Компонентный состав тела определяли методом БИА с использованием анализатора внутренних сред организма АВС-01 («Медасс»; Россия) на частоте зондирующего тока 50 кГц по тетраполярной схеме наложения электродов в область лучезапястного и голеностопного суставов при нахождении испытуемого в положении лежа на спине. Обследованию не предшествовали интенсивные физические нагрузки, прием пищи или напитков. В помещениях, где проводили исследования, контролировали соблюдение нормального температурного режима.

Физическое развитие детей оценивали по соотношению длины и массы тела ребенка двумя способами. Оценку физического развития первым способом проводили по региональным шкалам регрессии массы тела по длине тела для Самарской области [21]. Второй способ предполагал расчет числа Z-score индекса массы тела (ИМТ) по отношению к возрасту (BMI for age, BAZ), значение которого анализировали по стандартам ВОЗ [10] с использованием компьютерной программы WHO AnthroPlus (2009) (ВОЗ; Швейцария) [22]. Расчет ИМТ осуществляли путем деления массы тела ребенка (кг) на длину тела ( $m^2$ ). Нутритивный статус дополнительного оценивали по данным биоимпедансного анализа состава тела, по показателю доли жировой массы (%ЖМ). Критерии оценки результатов исследования представлены в табл. 1.

Для сбора и хранения первичных данных использовали программу Microsoft Excel 2013 (Microsoft; США).

Таблица 1. Критерии оценки физического развития детей

Показатель	Методы оценки		
	BAZ, SDS [10]	Шкалы регрессии, σR [22]	БИА, %ЖМ [23]
Недостаточная масса тела	< -2,0	< -1,0	< 15-го перцентиля
Нормальное развитие	от -2,0 до +1,0	от +1,0 до +1,5	от 25-го до 75-го перцентиля
Избыточная масса тела	от +1,0 до +2,0	≥ + 1,5	от 85-го до 97-го перцентиля
Ожирение	≥ + 2,0	-	≥ 97-го перцентиля

Статистическую обработку результатов исследования проводили методами вариационной статистики с помощью пакета программ Statistica 13.1 (StatSoft Inc.; США). Анализ статистической значимости различий показателей проведен с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Различия результатов считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ антропометрических признаков в исследуемой группе детей показал, что в возрастном периоде с 12 до 16 лет происходит постепенное увеличение длины тела как среди мальчиков, так и среди девочек. Ввиду того, что масса тела является динамическим показателем, зависящим в первую очередь от фактического питания и уровня физической активности, анализ динамики изменений этого признака среди обследованных детей не выявил равномерного увеличения с возрастом и отражал зависимость средних значений от доли детей с нарушениями физического развития в указанной возрастной группе (рис. 1).

Так, при оценке физического развития по региональным шкалам регрессии было выявлено, что среди обследованных школьников более 2/3 составляли дети с нормальным физическим развитием, в то время как доля детей с отклонениями массы тела от нормативных значений составила 30,44% среди мальчиков и 38,36% среди девочек. При этом доля детей с избыточной массой тела среди мальчиков и девочек не отличалась (22,61% и 23,43%), а доля детей с недостаточной массой тела в группе девочек была выше (14,93%), чем в группе мальчиков (7,83%,  $p < 0,01$ ).

Оценка физического развития по критерию BAZ показала, что в исследуемой группе преобладали дети с нормальной массой тела (70,2%) как среди мальчиков (147/230, 63,9%), так и среди девочек (157/201, 77,6%). Недостаточная масса тела выявлена у семи детей (1,6%) в исследованной выборке — у четырех мальчиков и трех девочек. Избыточная масса тела и ожирение выявлены чуть менее чем у трети обследованных детей — у 19,1% и 9,1% соответственно. При этом доля детей с ожирением среди мальчиков и девочек значимо не отличалась ( $p = 0,207$ ), в то время как доля детей с избыточной массой тела была значимо выше среди мальчиков, чем среди девочек ( $p < 0,01$ ). Тяжелая форма ожирения (BAZ > +3,0) выявлена у трех мальчиков и двух девочек (табл. 2).

Таблица 2. Распределение антропометрических показателей по индексу BAZ в изучаемой выборке школьников

Изучаемая группа	Z-score				
	< -2,0	от -2,0 до -1,0	от -1,0 до +1,0	от +1,0 до +2,0	≥ + 2,0
Мальчики, абр. (%)	4 (1,7)	16 (7)	131 (56,9)	59 (25,7)	20 (8,7)
Девочки, абр. (%)	3 (1,5)	32 (15,9)	124 (61,7)	23 (11,5)	19 (9,4)
Все обследованные, абр. (%)	7 (1,6)	48 (11,1)	255 (59,1)	82 (19,1)	39 (9,1)

Примечание: цветом выделены нормальные значения.

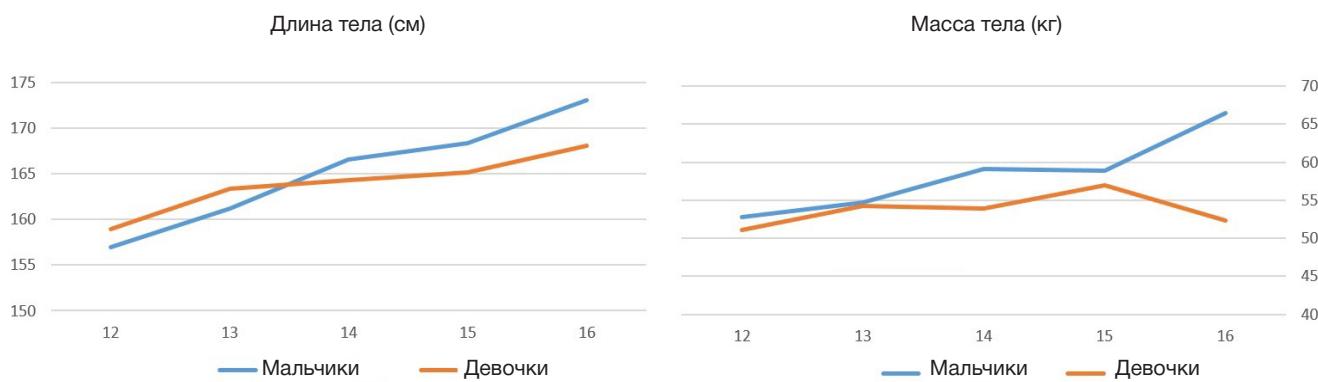


Рис. 1. Изменения антропометрических показателей физического развития изучаемой выборки детей в зависимости от возраста

Таким образом, диагностированные по региональным шкалам регрессии отклонения показателя массы тела от нормальных значений были подтверждены данными БИА в значимо большем числе случаев, нежели результаты оценки, полученные по индексу BAZ (82/431, 19,7% и 61/431, 14,15%,  $p < 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование, направленное на изучение антропометрических показателей с оценкой по шкалам регрессии, расчетом индекса BAZ и %ЖМ у школьников 12–16 лет, выявило значительное число детей с избыточной массой тела и ожирением. При использовании антропометрических методов диагностики наиболее выраженные отклонения показателя массы тела, в том числе в сторону избыточной и недостаточной массы, установлены методом оценки по шкалам регрессии. Интересно отметить, что при использовании в качестве критерия избыточной массы тела не результатов оценки по региональным нормативам или ИМТ, а процента жировой массы по данным БИА, значимо изменяется доля детей, которым могут быть диагностированы избыточная масса тела и ожирение. Значимых различий по числу детей с нормальным развитием или отклонениями массы тела по показателю %ЖМ между мальчиками и девочками не выявлено. При этом биоимпедансный анализ позволил

выявить значительную долю детей с избыточной массой тела и ожирением среди лиц, у которых как методом по шкалам регрессии, так и по индексу BAZ было установлено нормальное физическое развитие.

Период развития в возрасте 12–16 лет является критическим периодом, когда риск развития ожирения возрастает в несколько раз [7, 24]. При этом до 60% детей, имеющих избыточную массу тела в подростковом периоде, будут страдать ожирением и во взрослом возрасте, причем с более тяжелым течением, выраженным увеличением массы тела и высокой частотой сопутствующих заболеваний — в отличие от ожирения, которое дебютировало в зрелом возрасте [7, 25]. Поэтому важнейшим этапом системы медицинской профилактики в сфере предупреждения развития ожирения является своевременное выявление преморбидных состояний с целью коррекции рациона питания и режима дня ребенка. Как показало настоящее исследование, результаты которого согласуются с результатами других авторов [5, 6, 9], важнейшими критериями при профилактических осмотрах, позволяющими направить ребенка на консультацию к эндокринологу и диетологу и, при необходимости, на дальнейшую терапию, могут выступать результаты оценки антропометрических признаков.

Однако результаты настоящего исследования показали, что только 2/3 школьников, у которых антропометрическими методами диагностирована избыточная масса тела, имеют

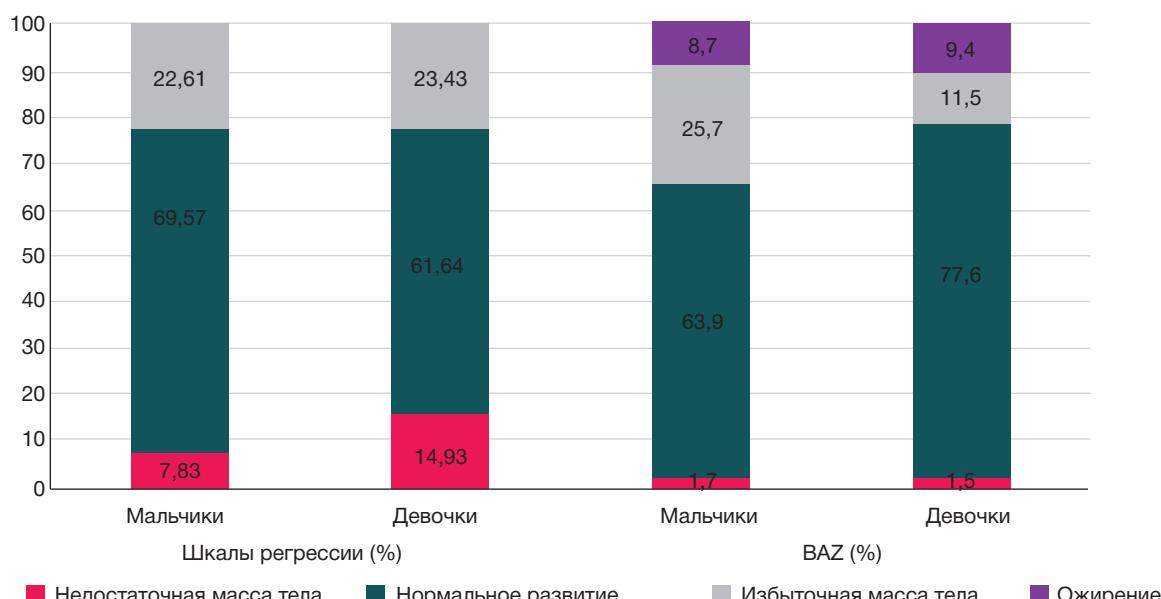


Рис. 2. Сравнение распределений результатов оценки физического развития при применении шкал регрессии и индекса BAZ в группах мальчиков и девочек изучаемой выборки

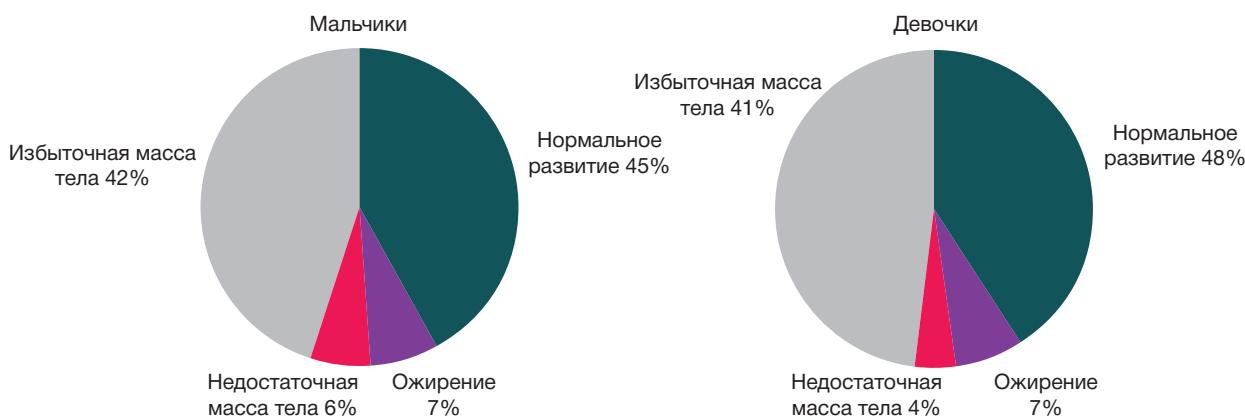


Рис. 3. Распределение показателя %ЖМ в группах мальчиков и девочек изучаемой выборки

избыточное содержание жировой составляющей в организме. При этом у трети детей из обследованной выборки доля жировой массы тела была нормальной, а терапевтические вмешательства не требовались. Исходя из этого, диагностическим методом, позволяющим специалистам приступить к лечению, в том числе диетотерапии, избыточной массы тела и ожирения у детей, а также динамически контролировать эффективность проводимых мероприятий, может служить метод биомпедансного анализа состава тела, который позволяет выявить изменения не только жировой массы тела, но и всех составляющих тойщей (безжировой) массы организма.

Тесные практические связи биомпедансного анализа состава тела с антропометрическим обследованием пациентов молодого возраста неоднократно обсуждали в научной литературе [19, 26, 27] с указанием высокой достоверности биофизического метода. К сожалению, диагностическая значимость и критерии интерпретации результатов биомпедансного анализа состава тела в совокупности с антропометрическими данными не находят

отражения в федеральных клинических рекомендациях по диагностике и лечению ожирения, что затрудняет практическое применение метода.

#### ВЫВОДЫ

Проведенное исследование антропометрических признаков самарских школьников 12–16 лет выявило значительную долю детей с нарушениями физического развития. Наибольшее число детей с отклонениями массы тела выявляют при использовании оценки по региональным возрастно-половым шкалам регрессии массы тела по длине тела. Анализ жировой составляющей организма у детей с различным уровнем физического развития позволил выявить избыточное содержание жировой массы тела среди детей с нормальным (гармоничным) развитием. Таким образом, биомпедансный анализ состава тела в совокупности с антропометрическими данными может быть использован в качестве достоверного метода диагностики нарушений нутритивного статуса среди детей и подростков.

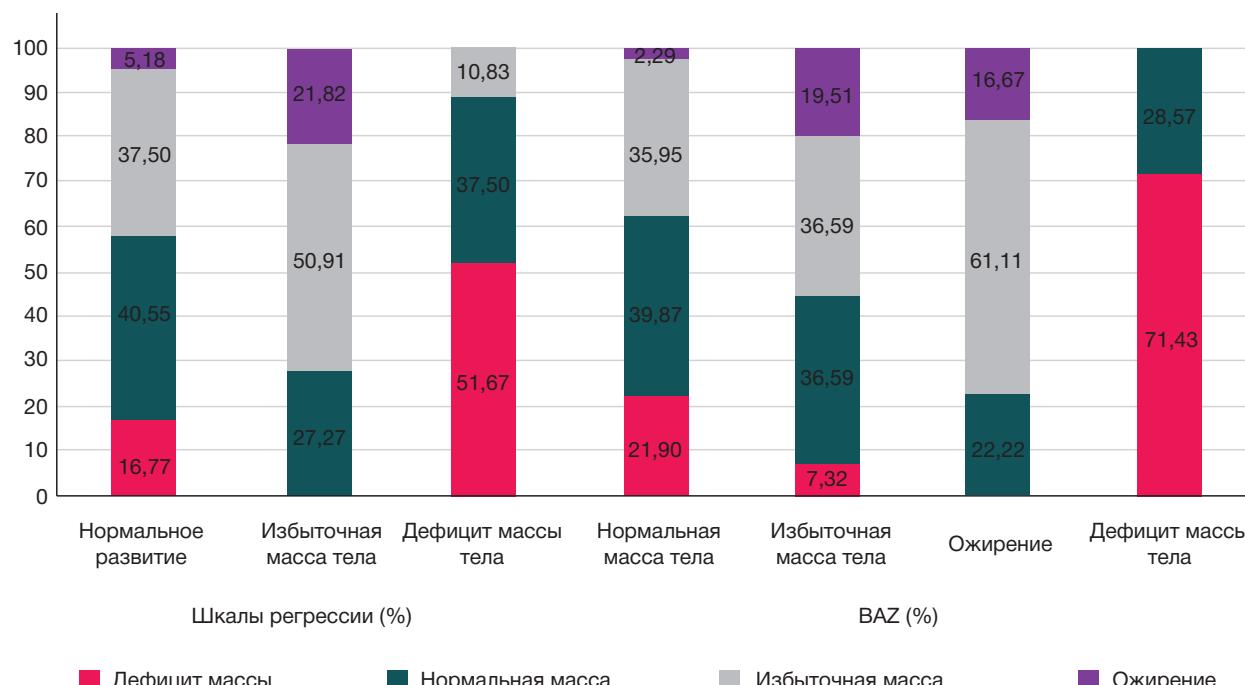


Рис. 4. Сравнение распределений показателя %ЖМ в зависимости от уровня физического развития при применении шкал регрессии и индекса BAZ в изучаемой выборке

## Литература

- Черных А. М., Кремлева А. С., Белова А. И. Мониторинг физического развития школьников города Курска в динамике двадцати лет наблюдения. *Российский вестник гигиены*. 2021; (1): 42–6. DOI: 10.24075/rbh.2021.008.
- Милушкина О. Ю., Скоблина Н. А., Маркелова С. В., Татаринчик А. А., Мелихова Е. П., Либина И. И. и др. Влияние электронных устройств на физическое развитие современной молодежи и рекомендации по регламенту их использования. *Вестник РГМУ*. 2019; (4): 87–94. DOI: 10.24075/vrgmu.2019.046.
- Новикова И. И., Гавриш С. М., Романенко С. П., Сорокина А. В., Серенко В. В., Креймер М. А. Сравнительная оценка информативности методов индикации избыточной массы тела. *Санитарный врач*. 2021; (4) 67–8.
- Шестёра А. А., Хмельницкая Е. А., Кику П. Ф., Переломова О. В., Каерова Е. В., Сабирова К. М. Физическое развитие и функциональные возможности молодежи города Владивостока. *Здоровье населения и среда обитания*. 2019; 11 (320): 61–5. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-320-11-61-65>.
- Латышевская Н. И., Яцышн В. В., Давыденко Л. А., Яцышна Т. Л. Динамика физического развития детей и подростков города Волгограда в 1976–2016 гг. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(9): 844–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-9-844-847>.
- Цукарева Е. А., Авчинников А. В., Алимова И. Л. Оценка физического развития и режима питания детей младшего школьного возраста, проживающих в Смоленске. *Вопросы питания*. 2019; 88 (4): 34–40. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10039.
- Гаврюшин М. Ю., Сазонова О. В., Милушкина О. Ю., Скоблина Н. А., Бородина Л. М., Горбачев Д. О. Актуальные проблемы оценки и коррекции пищевого статуса современных детей. В книге: Герасименко Н. Ф., Глыбочки П. В., Есауленко И. Э., Попов В. И., Стародубов В. И., Тутельян В. А., редакторы. *Здоровье молодежи: новые вызовы и перспективы: монография в 5 т. Т. 3: Технологии снижения рисков здоровью. Профилактика и диспансеризация. Здоровое питание*. М., 2019; с. 250–70.
- Гирш Я. В., Герасимчик О. А. Роль и место биомедицинского анализа в оценке состава тела детей и подростков с различной массой тела. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (2): 121–32. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-121-132.
- Намазова-Баранова Л. С., Елецкая К. А., Кайтукова Е. В., Макарова С. Г. Оценка физического развития детей среднего и старшего школьного возраста: анализ результатов одномоментного исследования. *Педиатрическая фармакология*. 2018; 15 (4): 333–42. DOI: 10.15690/pf.v15i4.1948.
- De Onis M, Onyango AW, Borghi E, et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bulletin of the World Health Organization*. 2007; (85): 660–7. DOI: 10.2471/blt.07.043497.
- Бородкина Д. А., Груздева О. В., Квиткова Л. В., Барбараши О. Л. Распределение жировых отложений: разгадка кажущегося парадокса ожирения в кардиологии? *Ожирение и метаболизм*. 2017; 14 (2): 3–8. DOI: 10.14341/omet201723-8.
- Демьяненко И. А., Ткач А. В. Функциональная морфология жировой ткани и ее роль в формировании метаболического синдрома. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2021; 11 (1): 51–60. DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-1-51-60.
- Галимов О. В., Ханов В. О., Зиангиров Р. А., Галимова Е. С., Минигалин Д. М., Галимов Д. О. Изменения в стенке желудка после гастропликации у пациентов с морбидным ожирением. *Вестник РГМУ*. 2020; (4): 70–5. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.041.
- Grossman DC, Bibbins-Domingo K, Curry SJ, et al. Screening for obesity in children and adolescents us preventive services task force recommendation statement. *Journal of the American Medical Association*. 2017; 317 (23): 2417–26. DOI: 10.1001/jama.2017.6803.
- Грицинская В. Л. Оценка физического развития мальчиков школьного возраста г. Санкт-Петербурга с использованием антропометрического калькулятора ВОЗ. *Здоровье населения и среды обитания*. 2018; (2): 16–19.
- Almeida Y, Costa Maia C, Barros N, Moreno L, Carioca A, Loureiro A. Is bioelectrical impedance vector analysis a good indicator of nutritional status in children and adolescents? *Public Health Nutrition*. 2021; 24 (14): 4408–16. DOI: 10.1017/S1368980021002226.
- Karanikas I, Karayiannis D, Karachalioi A, Papanikolaou A, Chourdakis M, Kakavas S. Body composition parameters and functional status test in predicting future acute exacerbation risk among hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical Nutrition*. 2021; 40 (11): 5605–14. DOI: 10.1016/j.cnu.2021.09.035.
- Carfell OJ, Littlewood R, Wright ORL, Walker JL. Clinical relevance and validity of tools to predict infant, childhood and adulthood obesity: A systematic review. *Public Health Nutrition*. 2018; 21 (17): 3135–47. DOI: 10.1017/S1368980018001684.
- Перевощикова Н. К., Селиверстов И. А., Дракина С. А., Черных Н. С. Биомедицинский анализ в клинической практике. *Мать и Дитя в Кузбассе*. 2021; 3 (86): 11–20. DOI: 10.24412/2686-7338-2021-3-11-20.
- Смирнова Г. А., Андриянов А. И., Кравченко Е. В., Коновалова И. А. Выбор оптимальных методик определения идеальной массы тела для оценки состояния питания. *Вопросы питания*. 2019; 88 (5): 39–44. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10052.
- Вдовенко С. А., Сазонова О. В., Пономарев В. А., Мазур Л. И., Гаврюшин М. Ю., Бородина Л. М. Оценочные таблицы физического развития детей и подростков школьного возраста Самарской области. *Методические рекомендации*. Самара, 2018; 46 с.
- Growth reference 5–19 years. Application tools. WHO AnthroPlus software [Internet]. [cited 2021 Aug 12]. Available from: <https://www.who.int/toolkits/growth-reference-data-for-5to19-years-application-tools>.
- Руднев С. Г., Соболева Н. П., Стерликов С. А., Николаев Д. В., Старунова О. А., Черных С. П. и др. Биомедицинское исследование состава тела населения России. М.: РИО ЦНИИОИЗ МЗ РФ, 2014; 493 с.
- Васюкова О. В. Ожирение у детей и подростков: критерии диагноза. *Ожирение и метаболизм*. 2019; 16 (1): 70–3. DOI: <https://doi.org/10.14341/omet10170>.
- Дадаева В. А., Александров А. А., Драпкина О. М. Профилактика ожирения у детей и подростков. *Профилактическая медицина*. 2020; 23 (1): 142–7. DOI: <https://doi.org/10.17116/profmed202023011142>.
- Лир Д. Н., Перевалов А. Я. Эффективность оздоровления школьников за время пребывания в летнем загородном учреждении отдыха. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2017; 94 (4): 48–53. DOI: <https://doi.org/10.17116/kurort201794448-53>.
- Гаврюшин М. Ю., Маркелова С. В., Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю., Сазонова О. В. Оценка эффективности оздоровления детей в лагерях: современные проблемы и пути решения. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2021; 98 (4): 32–41. DOI: <https://doi.org/10.17116/kurort2019804132>.

## References

- Chernykh AM, Kremleva AS, Belova AI. 20-year monitoring of physical developmental characteristics in school-age children and adolescents living in Kursk. *Russian Bulletin of Hygiene*. 2021; (1): 42–6. DOI: 10.24075/rbh.2021.008.
- Milushkina OYu, Skobolina NA, Markelova SV, Tatarinchik AA, Melikhova EP, Libina II, et al. The impact of electronic devices on the physical growth and development of modern youth and recommendations on their safe use. *Bulletin of RSMU*. 2019; (4): 83–9. DOI: 10.24075/brsmu.2019.046.
- Novikova II, Gavrish SM, Romanenko SP, Sorokina AV, Serenko VV, Kreimer MA. Comparative assessment of the informativity of indication methodsexcess body weight. *Sanitary doctor*. 2021; (4): 67–8. DOI: 10.33920/med-08-2104-07. Russian.
- Shestera AA, Khmelnitskaya EA, Kiku PF, Perelomova OV, Kaerova EV, Sabirova KM. Physical development and functional possibilities of youth of Vladivostok. *Public Health and Life Environment*. 2019; (11): 61–5. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-320-11-61-65>. Russian.
- Latyshevskaya NI, Yatsyshen VV, Davidenko LA, Yatsyshen TL. Dynamics of anthropometric indices of children and adolescents in the city of Volgograd (1976–2016). *Hygiene and Sanitation*. 2018; 97(9): 844–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-9-844-847>. Russian.
- Tsukareva EA, Avchinnikov AV, Alimova IL. Assessment of physical development and diet of primary school children in Smolensk. *Voprosy pitaniia*. 2019; 88 (4): 34–40. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10039. Russian.
- Gavryushin MYu, Sazonova OV, Milushkina OYu, Skobolina NA, Borodina LM, Gorbachev DO. Actual problems of assessment and correction of the nutritional status of modern children. In: Gerasimenko NF, Glybochko PV, Esaulenko IE, Popov VI, Starodubov VI, Tuteyan VA, editors. *Youth health: new challenges and prospects: a monograph in 5 vols. Vol. 3: Technologies for reducing health risks. Prevention and medical examination. Healthy eating*. Moscow; 2019. p. 250–70. Russian.
- Girsh YaV, Gerasimchik OA. The role and place of bioimpedance analysis assessment of body composition of children and adolescents with different body mass. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (2): 121–32. DOI: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-2-121-132>. Russian.
- Namazova-Baranova LS, Yeletskaya KA, Kaytukova EV, Makarova SG. Evaluation of the physical development of children of secondary school age: an analysis of the results of a cross-sectional study. *Pediatric pharmacology*. 2018; 15 (4): 333–42. DOI: <https://doi.org/10.15690/pf.v15i4.1948>. Russian.
- De Onis M, Onyango AW, Borghi E, et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bulletin of the World Health Organization*. 2007; (85): 660–7. DOI: 10.2471/blt.07.043497.
- Borodkina DA, Gruzdeva OV, Kvirkova LV, Barbarash OL. Body fat distribution: the answer to the apparent paradox of obesity in cardiology? *Obesity and metabolism*. 2017; 14 (2): 3–8. DOI: 10.14341/omet201723-8. Russian.
- Demyanenko IA, Tkach AV. Functional morphology of adipose tissue and its role in the formation of metabolic syndrome. *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2021; 11 (1): 51–60. DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-1-51-60. Russian.
- Galimov OV, Khanov VO, Ziangirov RA, Galimova ES, Minigalin DM, Galimov DO. Stomach wall changes after gastroplication in patients with morbid obesity. *Bulletin of RSMU*. 2020; (4): 67–71. DOI: 10.24075/brsmu.2020.041.
- Grossman DC, Bibbins-Domingo K, Curry SJ, et al. Screening for obesity in children and adolescents us preventive services task force recommendation statement. *Journal of the American Medical Association*. 2017; 317 (23): 2417–26. DOI: 10.1001/jama.2017.6803.
- Gritsinskaya VL. Evaluation of physical development of school-age boys in Saint Petersburg with the use of the anthropometric calculator of WHO. *Public Health and Life Environment*. 2018; (2): 16–19. Russian.
- Almeida Y, Costa Maia C, Barros N, Moreno L, Carioca A, Loureiro A. Is bioelectrical impedance vector analysis a good indicator of nutritional status in children and adolescents? *Public Health Nutrition*. 2021; 24 (14): 4408–16. DOI: 10.1017/S1368980021002226.
- Karanikas I, Karayiannis D, Karachaliou A, Papanikolaou A, Chouridakis M, Kakavas S. Body composition parameters and functional status test in predicting future acute exacerbation risk among hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical Nutrition*. 2021; 40 (11): 5605–14. DOI: 10.1016/j.clnu.2021.09.035.
- Canfell OJ, Littlewood R, Wright ORL, Walker JL. Clinical relevance and validity of tools to predict infant, childhood and adulthood obesity: A systematic review. *Public Health Nutrition*. 2018; 21 (17): 3135–47. DOI: 10.1017/S1368980018001684.
- Perevoshchikova NK, Seliverstov IA, Drakina SA, Chernykh NS. Bioelectrical impedance analysis in clinical practice. *Mother and Baby in Kuzbass*. 2021; 3 (86): 11–20. DOI: 10.24412/2686-7338-2021-3-11-20. Russian.
- Smirnova GA, Andriyanov AI, Kravchenko EV, Konovalova IA. The selection of optimal methods for determining the perfect body weight for the assessment of the nutritional status. *Problems of Nutrition*. 2019; 88 (5): 39–44. DOI: 10.24411/0042-8833-2019-10052. Russian.
- Vdovenko SA, Sazonova OV, Ponomarev VA, Mazur LI, Gavryushin MYu, Borodina LM. Ocenochnye tablitsy fizicheskogo razvitiya detej i podrostkov shkol'nogo vozrasta Samarskoj oblasti. *Metodicheskie rekomendacii*. Samara, 2018; 46 p. Russian.
- Growth reference 5–19 years. Application tools. WHO AnthroPlus software [Internet]. [cited 2021 Aug 12]. Available from: <https://www.who.int/toolkits/growth-reference-data-for-5to19-years/application-tools>.
- Rudnev SG, Soboleva NP, Sterlikov SA, Nikolaev DV, Starunova OA, Chernyh SP et al. Bioimpedansnoe issledovanie sostava tela naselenija Rossii. M.: RIO CNIIOIZ MZ RF, 2014; 493 p. Russian.
- Vasyukova OV. Obesity in children and adolescents: diagnosis criteria. *Obesity and metabolism*. 2019; 16 (1): 70–3. DOI: <https://doi.org/10.14341/omet10170>. Russian.
- Dadaeva VA, Aleksandrov AA, Drapkina OM. Prevention of obesity in children and adolescents. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2020; 23 (1): 142–7. DOI: <https://doi.org/10.17116/profmed202023011142>. Russian.
- Lir DN, Perevalov AYa. The effectiveness of the improvement of health in the schoolchildren staying in a country summer camp. *Voprosy kurortologii, fizioterapii, i lechebnoi fizicheskoi kultury*. 2017; 94 (4): 48–53. DOI: <https://doi.org/10.17116/kurort201794448-53>. Russian.
- Gavryushin MYu, Markelova SV, Skobolina NA, Milushkina OYu, Sazonova OV. Evaluation of the effectiveness of children's health improvement in camps: actual problems and its solutions. *Problems of balneology, physiotherapy, and exercise therapy*. 2021; 98 (4): 32–41. DOI: <https://doi.org/10.17116/kurort20219804132>. Russian.

## КОНСОЛИДАЦИЯ-РЕКОНСОЛИДАЦИЯ ЗРИТЕЛЬНО-ОБРАЗНОЙ И СЕМАНТИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

В. Б. Никишина<sup>1</sup>, Е. А. Петраш<sup>1</sup>✉, А. А. Кузнецова<sup>2</sup>, Т. В. Шутеева<sup>2</sup>, И. А. Захарова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

Когнитивные и мнестические нарушения играют существенную роль в снижении качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона (БП). Нарушения памяти приводят к изменению (трансформации) механизмов переработки информации. Целью работы было изучить особенности трансформации зрительно-образного и семантического содержания, подлежащего запоминанию, в процессах консолидации и реконсолидации у пациентов с БП. Объем выборки составил 32 пациента мужского пола с диагнозом G20 «болезнь Паркинсона»: 12 пациентов со смешанной (акинетико-риgidодрожательной) формой, 9 пациентов с акинетико-риgidной формой и 11 пациентов с дрожательной формой болезни Паркинсона. Объем кратковременной памяти оценивали с помощью методик «10 слов» и «Зрительная память» А. Р. Лурдия. Стимульный материал для экспериментального этапа исследования представлял собой символическое изображение буквы древнегреческого алфавита, напоминающего сову, а также текст из эпоса индейцев Канады на русском языке. Установлено, что вне зависимости от формы заболевания при БП фиксируется изменение качества запоминаемой информации либо ее полная потеря. Механизмы потери информации имеют качественные различия при разных формах заболевания. Трансформация сохраняется информации при целенаправленном и при нецеленаправленном запоминании происходит либо в форме искажения (подмены исходного содержания конфабуляторным), либо в форме сокращения (упрощения структурно-семантической организации). Консолидируется значительно меньший объем информации как слухоречевой ( $p = 0,018$ ), так и зрительно-образной ( $p = 0,029$ ). Данная тенденция соотносится с выраженным искажением в процессе извлечения информации.

**Ключевые слова:** зрительно-образная память, семантическая память, целенаправленное запоминание, нецеленаправленное запоминание, консолидация, реконсолидация, болезнь Паркинсона

**Вклад авторов:** В. Б. Никишина — формирование концепции исследования, интерпретация и обобщение полученного эмпирического материала; Е. А. Петраш — формирование концепции исследования, обработка, интерпретация и обобщение полученного эмпирического материала; А. А. Кузнецова — интерпретация и обобщение полученного эмпирического материала; Т. В. Шутеева — проведение исследования, сбор первичного эмпирического материала; И. А. Захарова — проведение исследования, сбор первичного эмпирического материала.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Пирогова (протокол № 207 от 19 апреля 2021 г.), проведено в соответствии с требованиями Основ законодательства «Об охране здоровья граждан»; все участники подписали информированное согласие на обследование.

✉ Для корреспонденции: Екатерина Анатольевна Петраш  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; petrash@mail.ru

Поступила: 02.12.2021 Статья принята к печати: 20.12.2021 Опубликована онлайн: 31.12.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.069

## CONSOLIDATION AND RECONSOLIDATION OF VISUAL AND SEMANTIC MEMORY IN PARKINSON'S DISEASE

Nikishina VB<sup>1</sup>, Petrash EA<sup>1</sup>✉, Kuznetsova AA<sup>2</sup>, Shuteeva TV<sup>2</sup>, Zakharova IA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Cognitive and mnemonic impairments have a significant negative impact on the quality of parkinsonian patients' life. Memory impairment causes changes in the mechanisms of information processing. The aim of this study was to investigate the characteristics of transformations undergone by memorized visual and semantic content during memory consolidation and reconsolidation in patients with Parkinson's disease. The study was conducted on 32 male patients with PD (ICD code: G20). Among the patients, 9 had rigidity/bradykinesia-dominant PD, 11 had tremor-dominant PD, and 12 suffered from a mixed type of PD. Short-term memory span was assessed using the 10 words and the visual memory tests proposed by Luria. As stimulus materials we used a symbolic representation of the old Greek letter resembling an owl and a translated excerpt from a Canadian aboriginal epic. Regardless of the PD form, the quality of the memorized information was either altered or completely lost. The mechanisms underlying such transformations differed quantitatively depending on the PD form. Transformation of the memorized information occurred in the conditions of both incidental and deliberate memorization and was represented by distortions (substitution of the original content with confabulations) and simplifications of the structural and semantic organization. We consolidated significantly lesser amount of auditory verbal ( $p = 0.018$ ) and visual ( $p = 0.029$ ) information. This trend was consistent with the pronounced distortion of content during its retrieval.

**Keywords:** visual memory, semantic memory, deliberate memorization, incidental memorization, consolidation, reconsolidations, Parkinson's disease

**Author contributions:** Nikishina VB — study concept; interpretation and summarization of the obtained empirical data; Petrash EA — study concept; processing, interpretation and summarization of the obtained empirical data; Kuznetsova AA — interpretation and summarization of the obtained empirical data; Shuteeva TV — implementation of the experiment, collection of primary empirical data; Zakharova IA — implementation of the experiment, collection of primary empirical data.

**Compliance with ethical standards:** the study complied with the legislation on public health protection; informed consent was obtained from all study participants (Protocol of the Ethics Committee No. 207 dated April 19, 2021).

✉ Correspondence should be addressed: Екатерина А. Петраш  
Островитянова, 1, Москва, 117997, Россия; petrash@mail.ru

Received: 02.12.2021 Accepted: 20.12.2021 Published online: 31.12.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.069

Болезнь Паркинсона (БП) — возраст-ассоциированное прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся высоким процентом инвалидизации и неблагоприятным прогнозом дожития. Заболевание занимает второе место по распространенности среди патологий нейродегенеративного профиля и представляет собой серьезную медико-социальную проблему.

Многообразие клинических проявлений БП обусловлено гибелью дофаминергических нейронов стриопаллидарной системы. Наряду с моторными нарушениями, занимающими одно из ведущих мест в клинической картине БП, обращает на себя внимание многообразие немоторных нарушений: нарушения вегетативных и сенсорных функций, болевые и аффективные нарушения, а также когнитивные нарушения. Разнообразие проявлений и высокая частота когнитивных расстройств оказывают существенное негативное влияние на качество жизни пациентов и их родных и акцентируют внимание клиницистов.

Память, во всем многообразии процессов и видов, в которых она реализуется и функционирует, обладает ресурсом адаптационного потенциала, который обеспечивает качество жизни пациентов с БП.

Результаты изучения когнитивных функций в целом, а также конкретно мнестических функций при БП представлены в работах как отечественных [1], так и зарубежных авторов [2–21].

Описано существенное снижение качества жизни пациентов с БП [2]. Авторы отмечают отсутствие взаимосвязи между когнитивным статусом (по шкале MMSE) и затруднениями со стороны внимания и памяти, на которые жаловались пациенты.

Характерной особенностью БП является длительность доклинической стадии протекания до 20–30 лет. Пороговой для проявления клинической картины является дегенерация 50–60% нейронов в черной субстанции и 70–80% аксонов этих нейронов в стриатуме [11]. Наряду с нигростриатными DA-ergicическими нейронами, дегенерируют и DA-ergicические нейроны в других отделах мозга, в частности в тубероинфундабуллярной системе. Ключевая роль в постоянном обновлении информации в рабочей памяти принадлежит нарушению дофаминергического пути в полосатом теле [7]. Нейродегенеративный процесс сначала охватывает дорсальное моторное ядро вагуса и переднее обонятельное ядро, затем распространяется последовательно на голубое пятно, черную субстанцию и базальные отделы переднего мозга и только в поздней клинической стадии захватывает неокортикс, особенно лимбическую кору и мультимодальную ассоциативную кору лобной и височной долей [18].

В основе БП лежит интранейрональная экспансия патологических форм белка альфа-синуклеина — основного компонента телец Леви. При нейродегенеративных заболеваниях хроническая активация микроглии и астроглии приводит к реактивному микроглиозу и астроглиозу (при БП не только с вовлечением астроглии, но и олигодендроцитов, что указывает на влияние на проводящую систему). Кроме того, при нейродегенерации глиоз препятствует передаче нервных импульсов и затрудняет формирование новых нейронных связей, составляющих морффункциональную основу процессов консолидации и реконсолидации. Нарушение временной обработки связано с апоптозом нейронов, который затрудняет процессы перевода информации из кратковременного хранилища в долговременное, и наоборот [6]. Кроме общей зрительно-

пространственной дисфункции при БП отмечают также нарушения в вербальной памяти пациентов. Выявлена прямая взаимосвязь между длительностью заболевания и нарушениями в образной памяти [13].

Методологическим основанием представляемого исследования процессов консолидации-реконсолидации зрительно-образной и семантической памяти при болезни Паркинсона служили положения концепции рабочей памяти Б. Б. Величковского (2015). Рабочая память (РП) представляет собой систему когнитивных процессов, обеспечивающих оперативное хранение и переработку информации. Она обладает гетерогенной структурой, включающей компоненты оперативного хранения и переработки информации с различными функциональными характеристиками, а также систему функциональных механизмов. Рабочая память является многокомпонентной системой, функциональная организация которой обеспечивает реализацию функций хранения и переработки информации [20, 21]. По своему назначению РП не является видоспецифической. Ее содержание определяется видом памяти. По функциональному результату память подразделяется на образную (зрительно-образную, образно-символическую, слухоречевую) и семантическую. В качестве механизма памяти выступает вид регуляции: произвольный (при целенаправленном запоминании) и непроизвольный (при нецеленаправленном запоминании).

Вне зависимости от условий, задаваемых изначально (как при целенаправленном, так и при нецеленаправленном запоминании), на этапе сохранения информации происходит ее трансформация в направлении упрощения («свертывания»). В процессе переработки информации трансформируется в первичный мнестический образ либо первичное семантическое содержание. Хранение информации в РП осуществляется при помощи механизмов кратковременного и долговременного хранения. Механизмы кратковременного хранения используются для оперативного хранения информации, имеющей особую значимость для решения текущей познавательной задачи [20, 21].

Схема процессов консолидации-реконсолидации зрительно-образной и семантической информации представлена на рис. 1.

В процессе консолидации, обеспечивающем переход из кратковременной памяти в долговременную, также происходит дальнейшая трансформация сохраненной информации (как зрительно-образной, так и семантической) в соответствии с имеющимся опытом. Осуществляется сопоставление вновь сохраненной информации с уже имеющейся в долговременной системе информации. Долговременная система используется для хранения информации, активированной при решении текущей познавательной задачи. Последующее извлечение информации (обозначаемое как процесс реконсолидации) осуществляется из долговременной системы (включающей систему образов, систему символов и знаков, а также семантическую систему, организованные в целостный опыт). При этом первично реконсолидируется упроченная в предшествующем опыте информация (как зрительно-образная, так и семантическая), которая в процессе извлечения трансформируется с учетом зафиксированных объектозначимых идентификационных признаков.

Отмечается, что любые нарушения РП приводят к редукции возможностей человека по переработке информации, принятию неоптимальных решений и, в целом, к снижению адаптационного потенциала [20, 21].

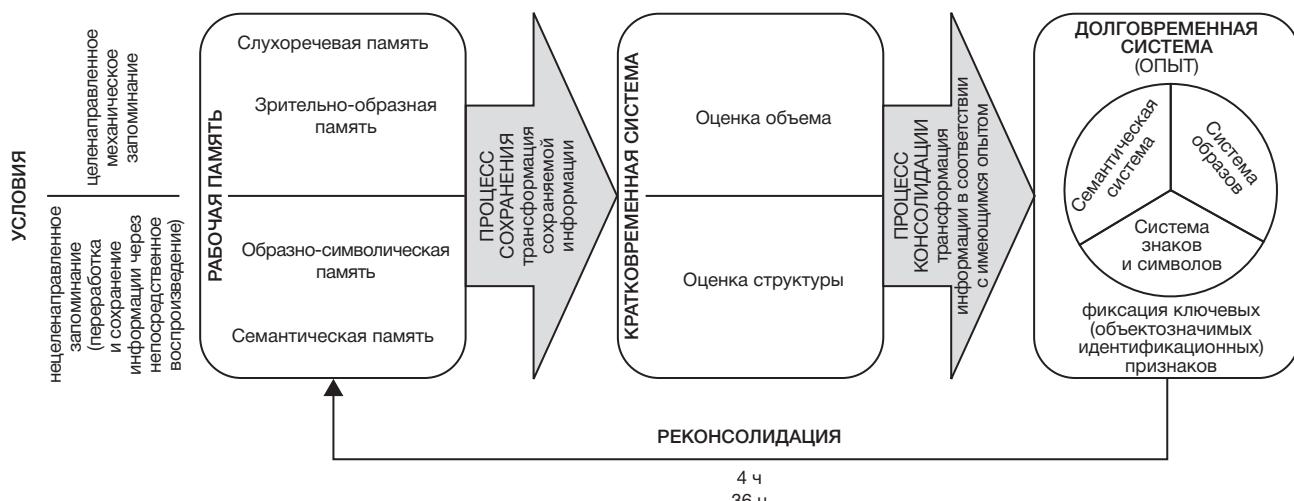


Рис. 1. Схема процессов консолидации-реконсолидации зрительно-образной и семантической информации

Цель исследования: изучение особенностей трансформации зрительно-образного и семантического содержания в процессах консолидации и реконсолидации у пациентов с БП.

Гипотеза исследования состоит в том, что у пациентов с БП при отсутствии выраженных когнитивных нарушений вне зависимости от формы заболевания (акинетико-риgidная, смешанная, дрожательная), происходит трансформация (искажение) сохраняющей информации (как при целенаправленном, так и при нецеленаправленном запоминании) вплоть до полной ее потери.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие пациенты ( $n = 32$ , мужчины) с диагнозом G20 «болезнь Паркинсона» (по МКБ-10). Клинические проявления по шкале Хен и Яра на момент исследования соответствовали второй стадии болезни Паркинсона (БП). По критерию формы заболевания были сформированы три исследовательские группы: группа 1 ( $n = 12$ ) — пациенты со смешанной (акинетико-риgidно-дрожательной) формой БП, группа 2 ( $n = 9$ ) — пациенты с акинетико-риgidной формой заболевания, группа 3 ( $n = 11$ ) — пациенты с дрожательной формой БП. Критерии включения пациентов с БП в исследовательские группы: возраст пациентов 60–65 лет (средний возраст  $62,4 \pm 2,1$  года); длительность заболевания не более трех лет (средняя длительность заболевания  $2,2 \pm 0,57$  года); отсутствие когнитивных нарушений (по шкале краткого исследования психического статуса MMSE количественные показатели составляли не менее 24 баллов). В качестве базового лечения все испытуемые получали препараты леводопы (среднесуточная доза составляла  $594,2 \pm 236,2$  мг).

Критерии исключения: наличие тяжелых хронических соматических заболеваний, туберкулеза, вирусного гепатита, ВИЧ-инфекций и других рецидивирующих инфекций.

Исследование осуществляли последовательно в три этапа. На первом этапе в рамках клинического обследования оценивали соматический и неврологический статусы пациентов.

На втором этапе оценивали объем кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти при целенаправленном запоминании. Оценку объема кратковременной слухоречевой памяти проводили

с использованием методики «10 слов» А. Р. Лурия. Согласно процедуре исследования, пациентам на слух предъявляется набор вербальных стимулов — зачитывается перечень из 10 однозначных одно- или двусложных слов, семантически не связанных между собой, обозначающих конкретные объекты. Пациенту необходимо было воспроизвести предъявленные слова-стимулы непосредственно после предъявления. Данную процедуру повторяли 5 раз. Регистрировали количество верно воспроизведенных слов-стимулов, количество неоднократно повторяющихся слов в каждом предъявлении, количество привнесенных слов. Объем кратковременной зрительно-образной памяти оценивали с использованием методики А. Р. Лурия «Зрительная память». Пациентам предъявляли таблицу, состоящую из 16 клеток с контурными изображениями отдельных объектов (геометрических фигур и схематических изображений предметов). Время предъявления таблицы составляло 2 мин. Стимульный материал также предъявляли 5 раз, после чего испытуемый называл объекты, которые он запомнил после каждого предъявления таблицы. После каждого предъявления фиксировали количество верно воспроизведенных зрительно-образных стимулов, также количество неоднократно повторяющихся образов в каждом предъявлении и количество привнесенных слов.

Задача третьего этапа исследования состояла в экспериментальном изучении процессов консолидации, реконсолидации зрительно-образной и семантической памяти у пациентов с БП при нецеленаправленном запоминании. В качестве методического основания организации экспериментального этапа исследования был взят эксперимент Ф. Бартлетта по реконструкции памяти при ее активном извлечении. При исследовании памяти пациентов инструктировали индивидуально.

Стимульный материал включал в себя зрительно-образный стимул — символическое изображение. Основанием выбора данного стимула (рис. 2) было его достоверное отсутствие в предшествующем опыте (стимульное изображение — буква древнегреческого алфавита, напоминающая сову). Символическое изображение (символ) состояло из четырех частей: «голова», «туловище с ногой», «крыло», «нога». В каждой из частей символического изображения выделяли элементы (например, часть «голова» содержит два элемента — сама голова и внутренняя часть в виде «галочки»).



Рис. 2. Стимульное изображение для исследования имплицитной памяти

Стимульным материалом для исследования семантической памяти был текст из эпоса индейцев Канады на русском языке. Предъявляемый пациентам текст содержал 79 смысловых единиц (33 предложения, 295 слов, 1427 знаков). Смысловые единицы рассматривали как грамматические формы, характеризующиеся семантическим содержанием и реализующиеся в различных сочетаниях существительных как основной лингвистической формы с другими формами (прилагательными, глаголами, местоимениями). Семантическую память оценивали по следующим критериям: количество сохранных предложений, количество сохранных семантических единиц, количество искажений предложений, количество искажений семантических единиц, количество нарушений последовательности предложений, количество нарушений последовательности семантических единиц. Данные регистрировали в специально разработанной семантической карте.

Пациентам предлагали инструкцию непосредственного воспроизведения предъявляемого стимульного материала: образный стимул необходимо было срисовать по визуальному образцу. После прослушивания текста (из эпоса индейцев Канады) пациентам также предлагали его воспроизвести непосредственно после прослушивания. После воспроизведения, обеспечивающего процесс сохранения информации, согласно процедуре эксперимента, пациентам необходимо было по памяти

воспроизвести стимульное изображение и семантическое содержание текста через 40 мин, 4 ч и 36 ч.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием методов описательной (показатели средних значений, стандартное отклонение), сравнительной (непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни; Т-критерий Уилкоксона) статистики. Применение статистических методов оценки осуществляли с применением абсолютных статистических показателей.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявили снижение объема кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти у пациентов с БП вне зависимости от формы заболевания. Графическое представление результатов исследования показателей объема кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти у пациентов с БП отражает количество достоверно совпадающих ответов с предъявляемыми словами-стимулами (рис. 3).

Не обнаружили статистически значимых различий в показателях объема обоих исследуемых видов кратковременной памяти в ходе сравнительного анализа показателей объема кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти у пациентов с разными формами БП методом попарного сравнения (с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни;  $p \leq 0,05$ ). При этом следует отметить качественные различия.

У пациентов с акинетико-риgidной формой БП ошибки воспроизведения при исследовании объема кратковременной слухоречевой памяти и зрительно-образной памяти наблюдали преимущественно в персевераторном (многократном) воспроизведении предъявляемых стимулов (как зрительно-образных, так и вербально-логических) без привнесения новых (конфабуляторных — ложных воспоминаний) стимулов. При исследовании объема кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти у пациентов со смешанной формой БП в качестве специфической особенности выявили привнесение большого количества новых слов и зрительных образов, которые при воспроизведении многократно повторяются. Доля привнесения в процентном соотношении составила  $51,18 \pm 6,34\%$ . Около половины воспроизводимых стимулов, как зрительно-

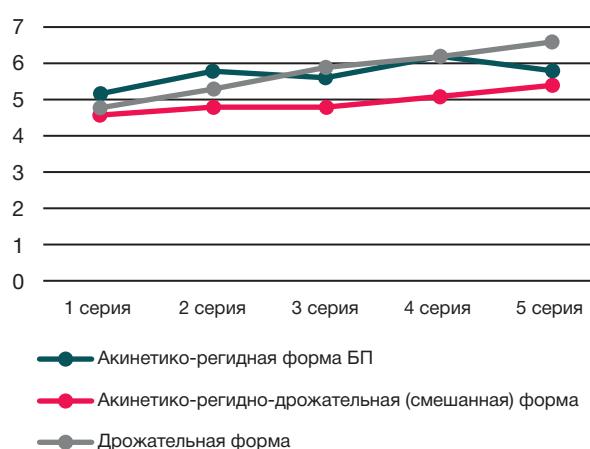
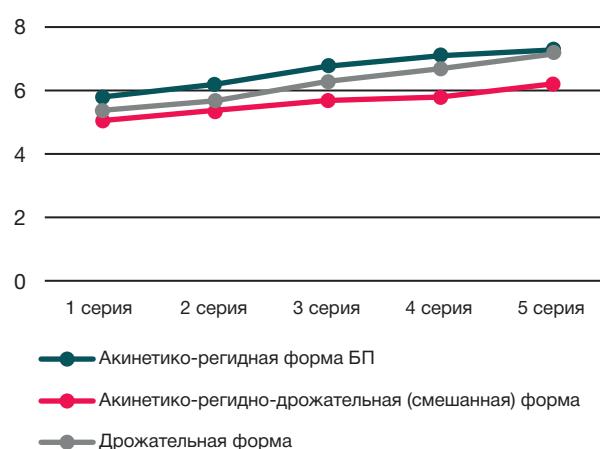


Рис. 3. Кривые запоминания слухоречевой и зрительно-образной информации пациентов с БП с учетом формы заболевания



образных, так и вербальных, составили привнесенные, семантически не связанные с исходным стимульным материалом. При дрожательной форме БП доля привнесения конфабуляций также была существенной (34,44 ± 5,12%). Однако, в отличие от смешанной формы БП, привнесенные («придуманные») пациентами ответы на слухоречевые стимулы выражались в форме глаголов, семантически связанных с предъявляемыми словами-стимулами. Ответные реакции пациентов на предъявляемые зрительно-образные стимулы были в форме словосочетаний двух типов: существительное + прилагательное, существительное + глагол. Описанные формы ответных реакций у пациентов с дрожательной формой БП наблюдали как при воспроизведении предъявляемых стимулов, так и конфабуляторных.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что на этапе целенаправленного сохранения (при запоминании предъявляемых стимулов) как зрительно-образной, так и слухоречевой информации, происходила ее трансформация (искажение) вне зависимости от формы БП. При этом, при каждом последующем предъявлении стимулов и их непосредственном воспроизведении пациенты не корректировали допущенные ошибки. При каждом последующем воспроизведении участники исследования устойчиво воспроизводили ошибочные (ложные, конфабуляторные) воспоминания. Это свидетельствует об их упрочивании в системах памяти через перевод в хранилище долговременной системы памяти.

Следующим этапом исследования стало изучение нецеленаправленного запоминания через экспериментальное исследование процессов консолидации-реконсолидации зрительно-образной и семантической памяти. Установлена полная потеря семантического содержания вербальной информации у пациентов с БП при нецеленаправленном запоминании. Искажение запоминаемой семантической информации происходило уже на этапе ее сохранения, при непосредственном пересказе только что прослушанного текста. Утрата семантического содержания составляла 23–28%. При пересказывании текста участники исследования утрачивали значительную часть семантических единиц. При воспроизведении текстового содержания пациентами через 40 мин наблюдали увеличение доли потери семантического содержания до 50–53% семантических единиц. Увеличение времени отсроченного воспроизведения до 4 ч привело к тому, что пациенты с БП, вне зависимости от формы заболевания, смогли воспроизвести лишь 1/4 семантического содержания (21–23%) услышанного текста. При этом происходило упрощение лингвосемантической структуры воспроизведимого текста: пациенты упрощали структуру предложений, ограничиваясь названием объектов и их действий. Часть предложений сводилась к описанию объектов, что выражалось в речевом построении односложной структуры существительное + прилагательное. Пересказ текста строился на описании объектов и их действий, причинно-следственные связи отсутствовали в полном объеме. Вне зависимости от формы заболевания у пациентов с БП через 36 ч наблюдали полную утрату семантического содержания. Преобладающими ошибками при этом были замены: пациенты называли объекты, описывали их действия и характеристики, но не выстраивали причинно-следственные связи. Однако воспроизведение даже «придуманного» текста приводило к троекратному

снижению его количественной и качественной структуры: количество слов уменьшилось до 81 по сравнению с исходными 295, количество семантических единиц сократилось с 79 в исходном предъявляемом тексте до 23 в воспроизведимом вне зависимости от формы БП. Пациенты демонстрировали односложное припоминание, не связанное с текстом. Полученные результаты позволяют сделать вывод о подавлении вербальной информации у пациентов с БП.

При непосредственном воспроизведении пациенты с акинетико-риgidной формой БП существенно сократили исходный предъявляемый текст, сохраняя его основную мысль. Искажения при пересказе текста непосредственно после его предъявления практически отсутствовали. Участники исследования с дрожательной формой БП также передавали семантическое содержание верно, однако с существенным его сокращением и привнесением новых объектов. Пациенты выстраивали логические связи существующих и привнесенных объектов. Участники исследования с дрожательной формой БП — простые короткие, предложения, состоящие не более чем из четырех слов без искажений семантического содержания. Пациенты со смешанной формой (акинетико-риgidной-дрожательной) БП искажали некоторые семантические единицы при непосредственном воспроизведении текста (24 из 79 исходных при адекватной передаче общего смысла воспроизведимого текста). В частности, зарегистрировали упрощение языковых структур, как и при дрожательной форме БП: пациент пересказывал текст, используя простые нераспространенные предложения, что осложняло понимание семантического содержания.

Воспроизведение текста через 40 мин после предъявления пациентами с БП, вне зависимости от формы заболевания свидетельствовало о дальнейшей потере семантического содержания. При смешанной форме БП исходному тексту соответствовало семантическое содержание лишь части предложений, составляющих пересказ (6 предложений). Остальные семантические единицы, описывающие преимущественно объекты и действия, происходящие с ними, были искажены, либо заменены. Пациенты с акинетико-риgidной формой БП в процессе пересказа сохраняли исходное семантическое содержание воспроизведимого текста в 11–13 предложениях. При этом наблюдали неоднократное (2–3 раза) персевераторное повторение предложений. При дрожательной форме БП количество предложений в пересказе составляло 8. Преобладающими были описания объектов при минимальном указании на их действия и описание. Причинно-следственная связь указывалась лишь в одном-двух предложениях. Также зафиксированы искажения и подмены семантического содержания.

Через 4 ч пациенты вне зависимости от формы БП смогли воспроизвести 22–25% семантического содержания услышанного текста. В пересказе преобладало перечисление объектов и их действий. Четко зафиксирована подмена объектов исходного текста собственным содержанием. Тексты пересказа состояли из простых односложных предложений из подлежащего и сказуемого. Построение предложений не было грамматически правильным, в частности, зарегистрировали несогласованность членов предложения. Наблюдали персевераторную тенденцию у пациентов со смешанной и акинетико-риgidной формами БП: при воспроизведении текста участники исследования неоднократно воспроизводили составленные предложения



Рис. 4. Распределение по типам семантических единиц у пациентов с разными формами БП при воспроизведении семантической информации

(кратность составила до четырех повторений). Причинно-следственные связи отсутствовали в полном объеме.

Выявили полную утрату семантического содержания при воспроизведении текста у всех пациентов через 36 ч. Количество причинно-следственных связей составило 1–4. Количество привнесенных объектов (5–7) соотносилось с исходными (6–8) (рис. 4).

У пациентов с акинетико-ригидной формой БП по истечении 36 ч выявили воспроизведение 18 семантических единиц, 6 из них соответствовали семантическому содержанию исходно предъявляемого текста, 4 семантические единицы были конфабуляторными (привнесение новых объектов, их характеристик, причинно-следственных связей). Подавляющее количество представленных в пересказе пациентов семантических единиц были персевераторными, т. е. повторялись неоднократно в разных частях воспроизводимого семантического содержания текста. У пациентов со смешанной формой БП среди воспроизведенных в пересказе семантических единиц преобладающими были конфабуляторные семантические единицы (ложно воспроизводимые, отсутствующие в исходном тексте), неоднократно повторяющиеся в процессе пересказа. Пациенты с дрожательной формой БП верно воспроизводили только 5 семантических единиц из исходного текста, содержащего 79 семантических единиц. При этом конфабуляторные семантические единицы, содержащие информацию об объектах и их действиях из исходного текста, пациенты использовали в другом семантическом поле. Например, в исходном тексте было предложение об охоте на тюленей: «Однажды ночью двое молодых мужчин из Эгулака отправились к реке, чтобы поохотиться на тюленей». При пересказе об охоте на тюленей речи не было. Воспроизводимое предложение выглядело следующим образом: «Мужчинам очень нравились тюлени — большие и красивые животные. Они отдыхали на берегу — грелись на солнышке». Приведенный пример указывает на то, что смысловое содержание исходного и содержание воспроизводимого пациентом предложения не соответствовали друг другу. Информация о тюленах была представлена в разных смысловых значениях.

В ходе исследования процессов консолидации, реконсолидации зрительно-образной памяти выявили следующие особенности (рис. 5).

Установлена трансформация изображения в конкретный образ при извлечении образной информации у пациентов с БП вне зависимости от формы заболевания (дрожательная,

акинетико-ригидная, смешанная). Уже на этапе сохранения информации при копировании (воспроизведении символа по зрительному образцу) фиксировалась тенденция трансформации символа в конкретный образ («птица», «сова»), которая усиливалась от этапа к этапу. Возникали не только искажения воспроизводимой информации вплоть до полной ее потери, но и упрощение. Происходило уменьшение количества частей изображения, снижалась точность их воспроизведения (количество элементов; их месторасположение как в общей композиции изображения, так и относительно друг друга; искажались форма и размер элементов), дорисовывались новые элементы, отсутствующие в исходном изображении.

На этапе нецеленаправленного сохранения символического изображения в качестве общей тенденции вне зависимости от формы БП наблюдали трансформацию из символического изображения в образное. Это приводило к тому, что изначально фиксировался искаженный образ.

У пациентов с акинетико-ригидной формой БП выявлены минимальные искажения зрительного образа при срисовывании. Пациенты верно воспроизводили количество деталей изображения, их размер и расположение относительно друг друга. У участников исследования с дрожательной формой БП на этапе срисовывания отмечали потерю элементов изображения и искажения их размера при сохранении общего плана изображения. У пациентов со смешанной формой БП уже на этапе срисовывания зарегистрировали как искажение силуэта в целом, так и отдельных его деталей.

При воспроизведении зрительного образа по памяти через 40 мин после предъявления, у пациентов с БП выявили дальнейшее искажение сохраненного конкретизированного образа (не символ, а изображение птицы, совы), касающееся преимущественно количества элементов. Вне зависимости от формы заболевания наблюдали упрощение образа, характеризующееся искажением частей изображения при уменьшении количества элементов. Зарегистрировали новые (привнесенные) элементы, располагающиеся преимущественно в нижней части изображения. Пациенты рисовали новые элементы в частях изображения, при этом исходные элементы из стимульного изображения на рисунках пациентов с БП отсутствовали. При акинетико-ригидной форме БП привнесенные элементы наблюдали в форме дополнительных линий, частично или полностью наложенных друг на друга.

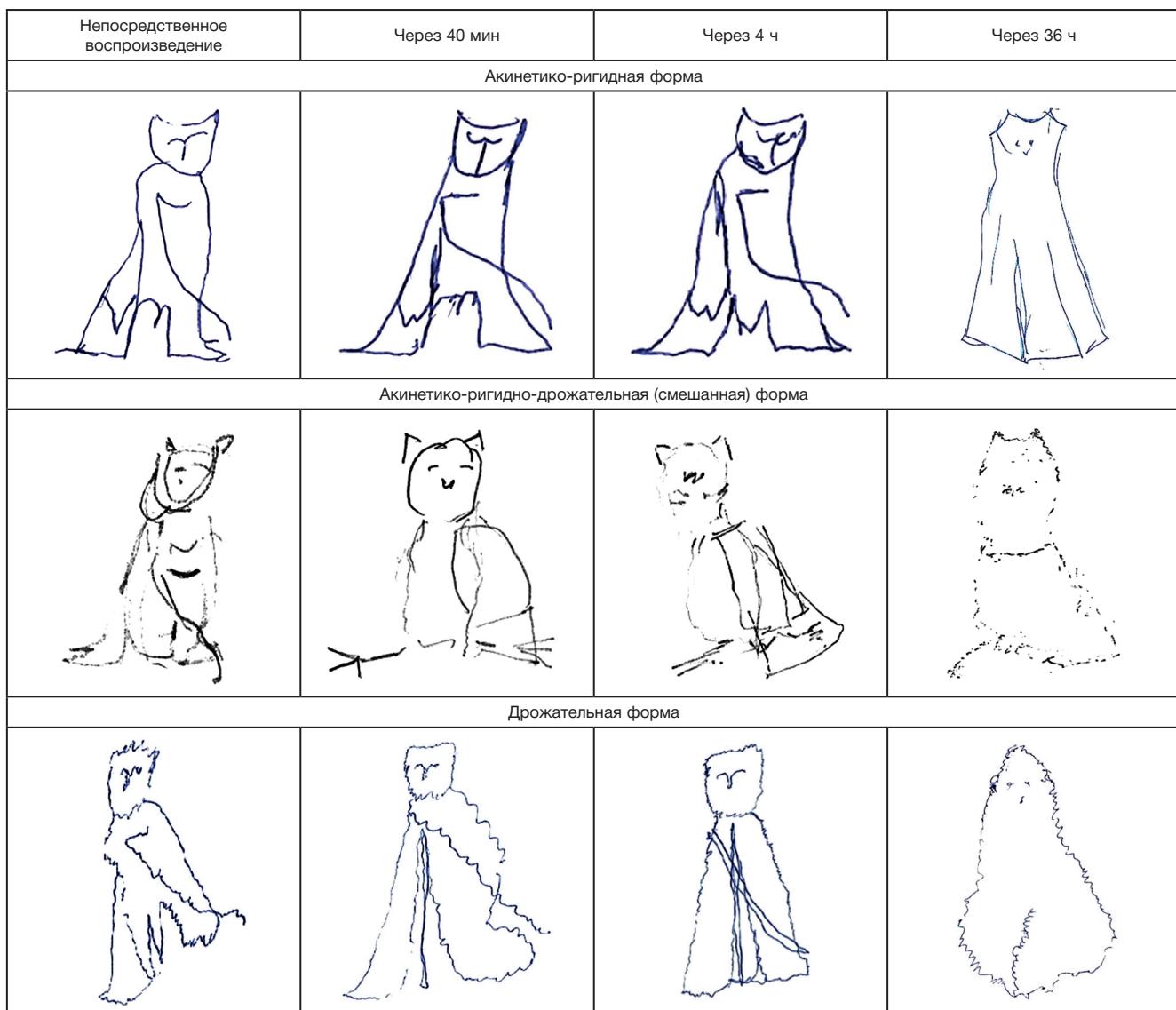


Рис. 5. Примеры изображений пациентов с разными формами БП при непосредственном воспроизведении, при извлечении информации через 40 мин, 4 ч, 36 ч

Пациенты с дрожательной формой БП упрощали элементы и их рядоположное расположение. Также отмечали множественность элементов, обусловленную частичным наложением линий. Пациенты со смешанной формой БП добавляли в изображение новые элементы, привнося их из уже имеющегося образа памяти реалистичной птицы. При этом были четко выделены части образа: голова, уши, клюв и глаза, крыло, лапы, с прорисовкой мелких деталей, например пальцев.

Воспроизведение образного стимула пациентами с разной формой БП через 4 ч указывало на трансформацию образа памяти (его реконструкцию, по терминологии Бартлетта) с утратой исходных элементов: наблюдали объединение нескольких элементов в один (при дрожательной форме БП) и привнесение новых дополнительных элементов (при акинетико-риgidной и дрожательной формах БП). В качестве общей тенденции у пациентов вне зависимости от формы заболевания зарегистрировали упрощение образа, характеризующееся уменьшением количества частей при увеличении количества элементов: увеличение количества линий, которые значительно усиливают границы деталей изображения. При смешанной форме БП наблюдали

одновременное наложение друг на друга новых элементов изображения, отсутствующих в исходном стимуле.

По истечении 36 ч у всех пациентов зарегистрировали полную утрату формы исходного символа: количество частей уменьшилось до одного (контур самой фигуры), количество частей уменьшилось до 1–2.

Не выявили статистически значимых различий между группами пациентов с разными формами БП при попарном сравнении в ходе оценки количества верно воспроизведенных семантических единиц (при воспроизведении текста) и количества верно воспроизведенных деталей символического изображения через 36 ч при нецеленаправленном запоминании (рис. 6).

Проведенная процедура статистического анализа значимости различий по каждой группе пациентов с БП позволила установить следующее. В качестве общей тенденции вне зависимости от формы заболевания у пациентов с БП при отсутствии когнитивных нарушений зарегистрировали полную утрату как образного, так и семантического содержания, что указывает на нарушение процессов консолидации–реконсолидации следов памяти при БП. Данная тенденция может быть обусловлена тем, что уже на этапе сохранения

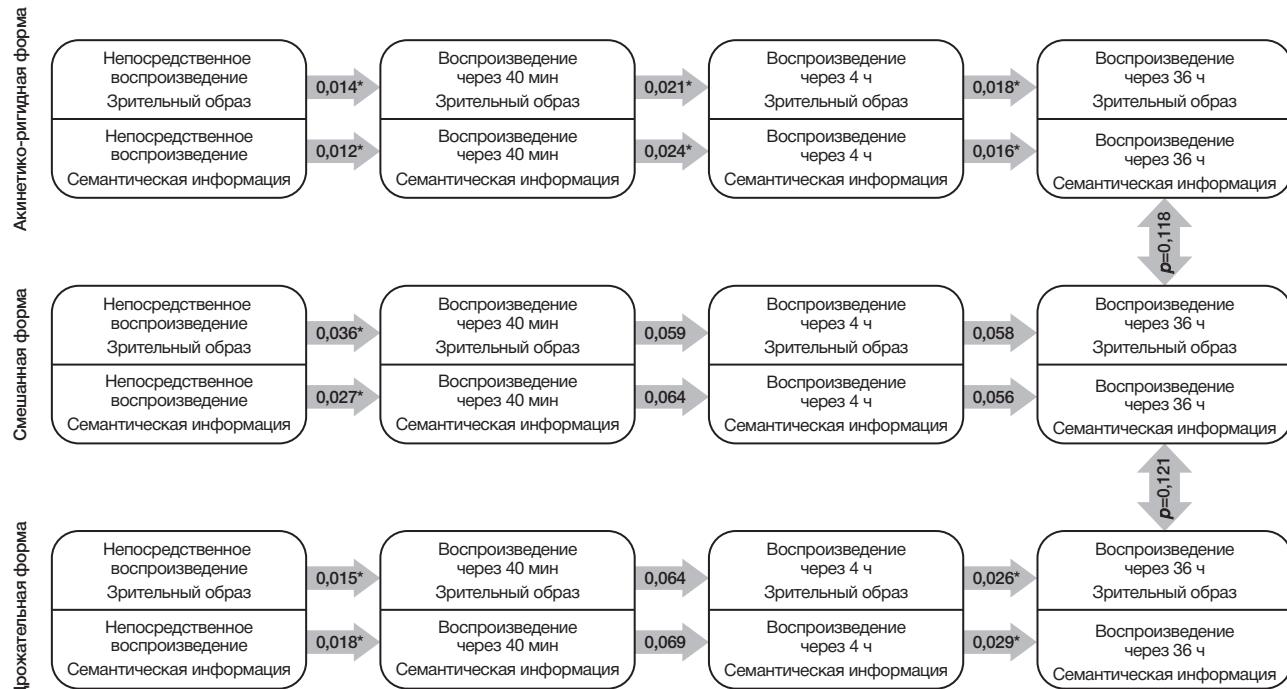


Рис. 6. Графическое представление показателей значимости различий количества воспроизведимых семантических единиц пациентами с БП с учетом формы заболевания

информации (при копировании символа по зрительному образцу, а также при непосредственном воспроизведении текстового семантического содержания) происходит ее трансформация (искажение и конкретизация символа; упрощение лингвосемантической структуры исходного текста; упрощение и сокращение предложений, подмена предложений словосочетаниями).

У пациентов с БП достоверно изменяется качество (объем и точность) извлекаемой информации или происходит ее полная потеря. Вне зависимости от формы заболевания (дрожательная, акинетико-риgidная или смешанная) консолидируется значительно меньший объем информации (как слухоречевой, так и зрительно-образной). Данная тенденция соотносится с выраженным искажением информации в процессе ее извлечения.

Результаты значимости различий в процессе извлечения информации (непосредственное воспроизведение, воспроизведение через 40 мин, через 4 и 36 ч) указывают на специфические особенности трансформации информации при каждой форме заболевания. При акинетико-риgidной форме БП происходит преимущественная потеря части сохраняемой информации (как образно-символической, так и семантической). Происходит упрощение информации с восполнением недостающего объема (до исходного стимула) через персевераторные повторения упрощенных конструкций. Пациенты со смешанной формой БП уже на этапе сохранения информации трансформируют ее через внесение конфабуляторного («придуманного») содержания с последующим его многократным повторением (персеверированием). У пациентов с дрожательной формой БП так же, как и у пациентов со смешанной формой, искажение сохраняемой информации начинается уже на этапе сохранения через внесение конфабуляторного содержания, содержательно близкого исходному стимульному материалу. Указанная тенденция, выявленная при исследовании процессов консолидации-реконсолидации образно-символической и семантической

памяти, также подтверждается результатами исследования объема кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти. При общем снижении объема вне зависимости от формы заболевания у пациентов с БП специфическими особенностями были допущенные ошибки.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты исследования кратковременной слухоречевой и зрительно-образной памяти, фиксирующие снижение объема вне зависимости от формы заболевания при БП согласуются с результатами других авторов, которые также указывают на нарушения кратковременной памяти, трудности концентрации внимания, а также забывание в повседневных делах у пациентов с БП [5]. В тестах на исследование памяти установлено, что пациенты страдают в большей степени трудностями припомнения, нежели узнавания [5]. Выявление специфических нарушений памяти у пациентов с БП посвящена и более ранняя работа [16]. Ее автор указывает на спонтанную организацию запоминаемого материала, что также согласуется с полученными нами результатами исследования целенаправленного и нецеленаправленного запоминания и воспроизведения информации.

## ВЫВОДЫ

В результате исследования достоверно установлено, что наличие мnestических изменений вследствие патологического процесса при БП, вне зависимости от формы заболевания (акинетико-риgidной, акинетико-риgidной-дрожательной, дрожательной) изменяет качественно-количественные характеристики процессов консолидации и реконсолидации (трансформирует как в границах объема, так и точности) или приводит к тому, что при запросе на воспроизведение реконсолидированное содержание не представляется. Особенности искажения

имеют качественные отличия при разных формах заболевания: объединение нескольких элементов в один (при дрожательной форме заболевания), привнесение новых дополнительных элементов (при акинетико-риgidной и дрожательной формах заболевания), одновременное наложение друг на друга новых элементов зрительно-образной информации, отсутствующих в исходном стимуле (при смешанной форме БП). Трансформация консолидируемо-реконсолидированной информации как при целенаправленном, так и при нецеленаправленном запоминании происходит либо в форме подмены исходного содержания конфабуляторным, либо в форме сокращения (упрощения структурно-семантической организации содержания). Консолидируется значимо меньший объем информации (как слухоречевой, так и зрительно-образной). При каждой реактивации памяти происходит ее активная реконструкция, которая сопровождается рекатегоризацией.

Реконсолидация всегда следует за рекатегоризацией. Данная тенденция соотносится с выраженным искажением в процессе реконсолидации информации.

В аспекте практической значимости, ориентируясь на повышение качества жизни, в разрабатываемые программы социальной адаптации необходимо включать приемы мнемотехники. Включение приемов мнемотехники, в которых процессы консолидации и реконсолидации как зрительно-образной, так и семантической информации, вне зависимости от формы заболевания, будут способствовать на морфофункциональном уровне вовлечению структур головного мозга (как корковых, так и подкорковых) через образование новых нейронных связей. Оптимизация мнестических процессов консолидации и реконсолидации, в свою очередь, позволит повысить компенсаторно-адаптационные возможности и качество жизни пациентов с БП.

## Литература

1. Никишина В. Б., Шутеева Т. В., Запесоцкая И. В., Петраш Е. А. Субъективная оценка боли в структуре немоторных проявлений болезни Паркинсона. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2017; 4: 67–76.
2. Barone P, Antonini A, Colosimo C, et al. A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2009; 24 (11): 1641–9. DOI: 10.1002/mds.22643.
3. Berganzo K, Tijero B, González-Eizaguirre A, Somme J, Lezcano E, Gabilondo I, et al. Motor and nonmotor symptoms of Parkinson's disease and their impact on quality of life and on different clinical subgroups. *Neurologia*. 2016; 31 (9): 585–591. DOI: 10.1016/j.nrleng.2014.10.016.
4. Brefel-Courbon C, Ory-Magne F, Thalamas C, Payoux P, Rascol O. Nociceptive brain activation in patients with neuropathic pain related to Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2013; 19 (5): 548–52. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2013.02.003.
5. Brown RG, Marsden CD. Cognitive function in Parkinson's disease: from description to theory. *Psychology, Medicine. Trends in Neurosciences*. 1990; 13 (1): 21–29. DOI: 10.1016/0166-2236(90)90058-I.
6. D'Iorio A, Maggi G, Vitale C, Amboni M, Di Meglio D, Trojano L, et al. Prospective memory in Parkinson's disease: the role of the motor subtypes. *J Neurol*. 2019; 266 (10): 2505–11. DOI: 10.1007/s00415-019-09448-0.
7. Fellman D, Salmi J, Ritakallio L, Elffolk U, Rinne JO, Laine M. Training working memory updating in Parkinson's disease: A randomised controlled trial. *Neuropsychol Rehabil*. 2020; 30 (4): 673–708. DOI: 10.1080/09602011.2018.1489860.
8. Flowers KA, Pearce I, Pearce JM. Recognition memory in Parkinson's disease. *Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 1984; 47: 1174–81. DOI: 10.1136/jnnp.47.11.1174.
9. Gabrieli JDE, Singh J, Stebbins GT, Goetz CG. Reduced working memory span in Parkinson's disease: Evidence for the role of a frontostriatal system in working and strategic memory. *Neuropsychology*. 1996; 10 (3): 322–32. DOI: 10.1037/0894-4105.10.3.321.
10. Hou J-GG, Lai EC. Non-motor symptoms of Parkinson's disease. *International Journal of Gerontology*. 2007; 1 (7): 53–64. DOI: 10.1016/S1873-9598(08)70024-3.
11. Jeon BS, Jackson-Lewis V, Burke RE. 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration*. 1995; 4: 131–7.
12. Pourzinal D, Yang JHJ, Bakker A, McMahon KL, Byrne GJ, Pontone GM, et al. Hippocampal correlates of episodic memory in Parkinson's disease: A systematic review of magnetic resonance imaging studies. *Journal of Neuroscience Research*. 2021; 99 (9): 2079–116. DOI: 10.1002/jnr.24863.
13. Ramos AA, Machado L. A Comprehensive meta-analysis on short-term and working memory dysfunction in Parkinson's disease. *Neuropsychol Rev*. 2021; 31 (2): 288–311. DOI: 10.1007/s11065-021-09480-w.
14. Siciliano M, Trojano L, Micco RD, Sant'Elia V, Giordano A, Russo A, et al. Correlates of the discrepancy between objective and subjective cognitive functioning in non-demented patients with Parkinson's disease. *Journal of Neurology*. 2021; 268: 3444–55.
15. Schmidt N, Tödt I, Berg D, Schlenstedt C, Folkerts A-K, Ophey A, et al. Memory enhancement by multidomain group cognitive training in patients with Parkinson's disease and mild cognitive impairment: long-term effects of a multicenter randomized controlled trial. *Journal of neurology*. 2021; 268: 4655–66.
16. Taylor AE, Saint-Cyr JA, Lang AE. Memory and learning in early Parkinson's disease: Evidence for a "Frontal Lobe Syndrome". *Brain and cognition*. 1990; 13 (2): 21–32. DOI: 10.1016/0278-2626(90)90051-O.
17. Tweedy J, Langer K, McDowell F. The effect of semantic relations on the memory deficit associated with Parkinson's disease. *Journal of Clinical Neuropsychology*. 1982; 4 (3): 235–47. DOI: 10.1080/01688638208401132.
18. Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci*. 2005; 6: 626–40.
19. Weingartner H, Burns S, Diebel R, Le Witt P A. Cognitive impairments in Parkinson's disease: Distinguishing between effort-demanding and automatic cognitive processes. *Psychiatry Research*. 1984; 11 (3): 223–35. DOI: 10.1016/0165-1781(84)90071-4.
20. Величковский Б. Б. Рабочая память человека: структура и механизмы. М.: Когито-центр, 2015; 247 с.
21. Величковский Б. Б. Тестирование рабочей памяти: от простого к сложному и снова к простому. *Теоретическая и экспериментальная психология*. 2014; 7 (2): 133–42.

## References

1. Никишина В.Б., Шутеева Т.В., Запесоцкая И.В., Петраш Е.А. Субъективная оценка боли в структуре немоторных проявлений болезни Паркинсона. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2017; 4: 67–76. Russia.
2. Barone P, Antonini A, Colosimo C, et al. A multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2009; 24 (11): 1641–9. DOI: 10.1002/mds.22643.

3. Berganzo K, Tijero B, González-Eizaguirre A, Somme J, Lezcano E, Gabilondo I, et al. Motor and nonmotor symptoms of Parkinson's disease and their impact on quality of life and on different clinical subgroups. *Neurologia*. 2016; 31 (9): 585–591. DOI: 10.1016/j.nrleng.2014.10.016.
4. Brefel-Courbon C, Ory-Magne F, Thalamas C, Payoux P, Rascol O. Nociceptive brain activation in patients with neuropathic pain related to Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders*. 2013; 19 (5): 548–52. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2013.02.003.
5. Brown RG, Marsden CD. Cognitive function in Parkinson's disease: from description to theory. *Psychology, Medicine. Trends in Neurosciences*. 1990; 13 (1): 21–29. DOI: 10.1016/0166-2236(90)90058-1.
6. D'Iorio A, Maggi G, Vitale C, Amboni M, Di Meglio D, Trojano L, et al. Prospective memory in Parkinson's disease: the role of the motor subtypes. *J Neurol*. 2019; 266 (10): 2505–11. DOI: 10.1007/s00415-019-09448-0.
7. Fellman D, Salmi J, Ritakallio L, Ellfolk U, Rinne JO, Laine M. Training working memory updating in Parkinson's disease: A randomised controlled trial. *Neuropsychol Rehabil*. 2020; 30 (4): 673–708. DOI: 10.1080/09602011.2018.1489860.
8. Flowers KA, Pearce I, Pearce JM. Recognition memory in Parkinson's disease. *Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 1984; 47: 1174–81. DOI: 10.1136/jnnp.47.11.1174.
9. Gabrieli JDE, Singh J, Stebbins GT, Goetz CG. Reduced working memory span in Parkinson's disease: Evidence for the role of a frontostriatal system in working and strategic memory. *Neuropsychology*. 1996; 10 (3): 322–32. DOI: 10.1037/0894-4105.10.3.321.
10. Hou J-GG, Lai EC. Non-motor symptoms of Parkinson's disease. *International Journal of Gerontology*. 2007; 1 (7): 53–64. DOI: 10.1016/S1873-9598(08)70024-3.
11. Jeon BS, Jackson-Lewis V, Burke RE. 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration*. 1995; 4: 131–7.
12. Pourzinal D, Yang JHJ, Bakker A, McMahon KL, Byrne GJ, Pontone GM, et al. Hippocampal correlates of episodic memory in Parkinson's disease: A systematic review of magnetic resonance imaging studies. *Journal of Neuroscience Research*. 2021; 99 (9): 2097–116. DOI: 10.1002/jnr.24863.
13. Ramos AA, Machado L. A Comprehensive meta-analysis on short-term and working memory dysfunction in Parkinson's disease. *Neuropsychol Rev*. 2021; 31 (2): 288–311. DOI: 10.1007/s11065-021-09480-w.
14. Siciliano M, Trojano L, Micco RD, Sant'Elia V, Giordano A, Russo A, et al. Correlates of the discrepancy between objective and subjective cognitive functioning in non demented patients with Parkinson's disease. *Journal of Neurology*. 2021; 268: 3444–55.
15. Schmidt N, Tödt I, Berg D, Schlenstedt C, Folkerts A-K, Ophey A, et al. Memory enhancement by multidomain group cognitive training in patients with Parkinson's disease and mild cognitive impairment: long term effects of a multicenter randomized controlled trial. *Journal of neurology*. 2021; 268: 4655–66.
16. Taylor AE, Saint-Cyr JA, Lang AE. Memory and learning in early Parkinson's disease: Evidence for a "Frontal Lobe Syndrome". *Brain and cognition*. 1990; 13 (2): 21–32. DOI: 10.1016/0278-2626(90)90051-O.
17. Tweedy J, Langer K, McDowell F. The effect of semantic relations on the memory deficit associated with Parkinson's disease. *Journal of Clinical Neuropsychology*. 1982; 4 (3): 235–47. DOI: 10.1080/01688638208401132.
18. Volterra A, Meldolesi J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci*. 2005; 6: 626–40.
19. Weingartner H, Burns S, Diebel R, Le Witt P. A. Cognitive impairments in Parkinson's disease: Distinguishing between effort-demanding and automatic cognitive processes. *Psychiatry Research*. 1984; 11 (3): 223–35. DOI: 10.1016/0165-1781(84)90071-4.
20. Velichkovsky BB. *Rabochaja pamjat' cheloveka: ctruktura i mehanizmy*. M.: Kogito-centr, 2015; 247 s. Russia.
21. Velichkovsky BB. *Testirovanie rabochej pamjati: ot prostogo k slozhnomu i snova k prostomu*. Teoreticheskaja i eksperimental'naja psihologija. 2014; 7 (2): 133–42.

## ФАКТОРЫ, ВЗАИМОСВЯЗАННЫЕ С РОСТОМ ПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ В ПЕРВЫЕ МЕСЯЦЫ ПАНДЕМИИ COVID-19 СРЕДИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ СОЦИАЛЬНЫХ ОНЛАЙН-СЕТЕЙ В РОССИИ

А. Ю. Гиль , А. К. Дёмин

Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Значительная часть населения активно пользуется социальными онлайн-сетями, однако изменения потребления алкоголя в этой целевой группе в период пандемии COVID-19 малоизучены. Целью исследования было оценить изменения потребления алкоголя и факторов, связанных с ростом его потребления, в первые месяцы пандемии COVID-19 среди пользователей социальных онлайн-сетей в России. В период с июня по сентябрь 2020 г. 1518 пользователей наиболее популярных в России социальных онлайн-сетей прошли опрос в отношении изменений потребления алкоголя в первые месяцы пандемии COVID-19. Выявлено, что в первые месяцы пандемии 35,4% мужчин и 25,6% женщин увеличили частоту употребления алкоголя; 24,9% мужчин и 17,7% женщин увеличили разовый объем потребления алкоголя, и 28,5% мужчин и 27,9% женщин увеличили частоту случаев эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах. На многофакторном уровне возраст 18–29 лет (ОШ = 1,710; 95% ДИ = 1,002–2,917), очень сильные ограничения в повседневной жизни (3,127; 1,011–9,675) и очень сильные негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2 (2,247; 1,131–4,465) были положительно взаимосвязаны с ростом частоты потребления алкоголя. Шансы увеличения частоты эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах были более чем в два раза выше (2,329; 1,001–5,428) среди лиц, испытавших очень сильные негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации. Более высокие привычные частота употребления алкоголя, разовый объем употребляемого алкоголя и частота эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах до пандемии были положительно статистически значимо связаны с ростом этих параметров потребления алкоголя в первые месяцы пандемии.

**Ключевые слова:** алкоголь, COVID-19, коронавирус, пандемия, социальные сети, Facebook, ВКонтакте, Одноклассники, Twitter, Россия

**Вклад авторов:** А. Ю. Гиль — планирование исследования, разработка электронной формы сбора данных; сбор, обработка и статистический анализ данных; интерпретация результатов, написание статьи; А. К. Дёмин — интерпретация результатов исследования, написание статьи.

**Благодарности:** авторы благодарят Ю. Я. Гиль и Р. Г. Гиль за помощь в распространении информации об опросе в социальных сетях, за ценные критические замечания в отношении интерпретации и обсуждения результатов исследования.

 **Для корреспонденции:** Артем Юрьевич Гиль  
ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119991; gil.artym@gmail.com

**Поступила:** 21.11.2021 **Статья принята к печати:** 19.12.2021 **Опубликована онлайн:** 30.12.2021

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2021.064

## FACTORS ASSOCIATED WITH INCREASE IN ALCOHOL CONSUMPTION DURING FIRST MONTHS OF COVID-19 PANDEMIC AMONG ONLINE SOCIAL MEDIA USERS IN RUSSIA

Gil AU , Demin AK

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

The significant proportion of the Russian population are active online social media users. Changes in alcohol consumption in this target group during the COVID-19 pandemic remain understudied. The aim of this survey was to investigate changes in alcohol consumption and factors associated with the increase in alcohol use among online social media users in Russia during the first months of the COVID-19 pandemic. An online survey was conducted among 1,518 users of online social networking services popular in Russia from June to September 2020. The survey revealed that 35.4% of men and 25.6% of women started drinking more frequently during the first months of the pandemic; 24.9% of men and 17.7% of women increased their usual consumption (volume) of alcohol on a typical drinking occasion, whereas 28.5% of men and 27.9% of women increased the frequency of heavy episodic drinking. Adjusted binary logistic regression analysis revealed a positive association between the increase in the frequency of alcohol consumption and the following factors: age from 18 to 29 years (OR: 1.710; 95% CI: 1.002–2.917), severe restrictions in everyday private life (OR: 3.127; 95% CI: 1.011–9.675) and severe negative professional or financial consequences due to the spread of SARS-CoV-2 (OR: 2.247; 95% CI: 1.131–4.465). The odds of an increase in the frequency of heavy episodic drinking were more than twice higher (OR: 2.329; 95% CI: 1.001–5.428) among those who had experienced severe negative consequences of the pandemic to their professional and financial situation. Higher typical frequency and usual consumption (volume) of alcohol on a typical drinking occasion and higher typical frequency of heavy episodic drinking before the pandemic were positively significantly associated with the increase in these parameters of alcohol consumption during the first months of the pandemic. In times of large-scale epidemics and public health crises, it is advisable to consider the possibility of implementing screening and brief interventions, including via online social media, to prevent problems associated with alcohol use.

**Keywords:** alcohol, COVID-19, coronavirus, pandemic, social media, Facebook, VKontakte, Odnoklassniki, Twitter, Russia

**Author contributions:** Gil AU planned the study, designed the electronic questionnaire form, collected data, performed statistical analysis, interpreted the results and wrote the manuscript; Demin AK interpreted the results and wrote the manuscript.

**Acknowledgements:** the authors thank Uri and Raisa Gil for their help in disseminating information about the survey in online social media, for their critical comments on the interpretation and discussion of the results.

 **Correspondence should be addressed:** Artyom U. Gil  
Trubetskaya, 8, str. 2, Moscow, 119991, Russia; gil.artym@gmail.com

**Received:** 21.11.2021 **Accepted:** 19.12.2021 **Published online:** 30.12.2021

**DOI:** 10.24075/brsmu.2021.064

Решительные меры, принятые в России и за рубежом в первые месяцы пандемии для сдерживания COVID-19, привели не только к замедлению распространения инфекции SARS-CoV-2, но и к значительным изменениям различных аспектов жизни населения. Так, в России во втором квартале 2020 г., когда был введен режим «самоизоляции», уровень зарегистрированной безработицы увеличился на 2,1% и составил 6,4%, а реальные располагаемые доходы населения снизились на 8,4% по сравнению с аналогичным периодом 2019 г. [1]. 61% населения России отметили снижение доходов, 13,5% сообщили о полной потере дохода, а 9,8% полностью потеряли работу [2]. Новые исследования последствий ограничений, введенных для контроля распространения SARS-CoV-2, проведенные в разных странах, свидетельствуют о повышенных показателях депрессии, беспокойства и стресса у некоторых групп населения, особенно у женщин, молодых людей и лиц с хроническими заболеваниями [3, 4]. Установлено, что употребление алкоголя в периоды кризиса зачастую происходит для того, чтобы справиться с психо-эмоциональным стрессом, что в краткосрочной и долгосрочной перспективе может отразиться на увеличении риска разнообразных негативных последствий [5, 6]. Наблюдаемое увеличение употребления психоактивных веществ после крупномасштабных бедствий часто отражает стратегию самолечения для выхода из эмоционального дистресса [7–9]. Предполагается, что пандемия COVID-19 может привести к среднесрочному и долгосрочному увеличению потребления алкоголя, особенно среди мужчин [10]. Ранние исследования пандемии COVID-19 выявили связь между общим плохим психическим здоровьем и увеличением потребления алкоголя [11]. Согласно исследованию, проведенному в Канаде, стресс был третьей по частоте причиной (44%) среди увеличивших потребление алкоголя лиц в период пандемии. В США эмоциональный стресс вследствие COVID-19 был связан с увеличением частоты употребления алкоголя и чрезмерного употребления алкоголя как у мужчин, так и у женщин [12]. Исследования показывают, что хотя часть взрослого населения увеличивает количество потребляемого алкоголя в период пандемии, аналогичная доля населения снижает свое потребление, при этом для 50–70% населения уровень употребления алкоголя остается неизменным [11, 13]. Так как изменения употребления алкоголя во время пандемии COVID-19 могут иметь долгосрочные социальные и экономические последствия для отдельных лиц, определенных групп населения и общества в целом [14, 15], возникает необходимость мониторинга этих изменений и оценки сопутствующих факторов, взаимосвязанных с ними в периоды крупномасштабных кризисов.

В России значительная часть населения активно пользуется социальными онлайн-сетями, что позволяет проводить быструю оценку потребления алкоголя и открывает возможность осуществлять краткие вмешательства для профилактики заболеваний и проблем, связанных с употреблением алкоголя, которые могут быть реализованы дистанционно посредством сети Интернет. Целью настоящего исследования стала оценка изменений потребления алкоголя и факторов, связанных с ростом его потребления, в первые месяцы пандемии COVID-19 среди пользователей социальных онлайн-сетей в России для изучения возможности проведения скрининга и профилактических вмешательств, в том числе реализуемых посредством сети Интернет, направленных

на выявление и предотвращение проблем, связанных с употреблением алкоголя, в периоды крупномасштабных эпидемий и кризисов общественного здоровья.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с 18 июня по 30 сентября 2020 г. в режиме онлайн был проведен анонимный опрос пользователей наиболее популярных в России социальных сетей, таких как Одноклассники, ВКонтакте, Facebook и Twitter. Критериями включения в исследование были: возраст от 18 лет и старше, статус зарегистрированного или незарегистрированного пользователя социальной сети в Интернет, добровольное информированное согласие на участие в анонимном конфиденциальном онлайн-опросе. Критерии невключения: постоянное проживание респондента за пределами России. Критерии исключения: отказ от участия в опросе и от обработки данных на любом этапе проведения исследования; дача парадоксальных взаимоисключающих ответов. Респонденты могли по собственному желанию прекратить участие в опросе на любом этапе его проведения. Ссылку на вопросник размещали непосредственно в социальных сетях: в различных группах пользователей, на популярных массово посещаемых страницах и в новостных сообщениях. Используемый вопросник был заимствован из европейского исследования потребления алкоголя в период пандемии COVID-19 [10] и модифицирован для оценки употребления алкоголя за последние три месяца, предшествовавших опросу. Вопросник был дополнен вопросами, оценивающими употребление незарегистрированного алкоголя, к которому относится алкоголь домашнего производства (самогон, домашнее вино, брага), алкоголь, привезенный из заграницы, поддельные и фальсифицированные алкогольные напитки, спиртосодержащие жидкости, не предназначенные для употребления в качестве напитков, и другие разновидности незарегистрированного алкоголя. Изменения в потреблении алкоголя в первые месяцы пандемии оценивались по изменению объема и частоты употребления алкоголя, а также частоты эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (шесть и более порций алкоголя или 60 г и более чистого этанола за раз). Статистический анализ данных включал проведение описательного анализа с расчетом долей респондентов, у которых произошло снижение или увеличение частоты и объема потребления алкоголя со стратификацией по социо-демографическим и другим оцениваемым в исследовании характеристикам. Проводилась также оценка взаимосвязи между увеличением частоты и объема потребления алкоголя в первые месяцы пандемии (зависимые переменные) и социо-демографическими факторами, привычными частотой и объемом употребления алкоголя за последние 12 месяцев, предшествовавших пандемии, оценкой респондентами силы ограничений собственной повседневной и общественной жизни, стрессом, негативными изменениями в отношении профессиональной и финансовой ситуаций и другими неблагоприятными последствиями пандемии (независимые переменные). Наличие, направление, сила и статистическая значимость взаимосвязей оценивались в однофакторном и многофакторном статистическом анализе с применением бинарной логистической регрессии. В качестве показателей взаимосвязи рассчитывались соотношения шансов (ОШ) и соответствующие им 95%-е доверительные

интервалы (95% ДИ). Обработка и статистический анализ данных проводились с применением пакета статистических программ SPSS v.22 (Chicago, IL; USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За период проведения исследования 1518 человек приняли участие в опросе, среди которых было несколько больше женщин (57,9%), чем мужчин (42,1%). Подавляющее большинство респондентов (87,1%) являлись потребителями алкоголя (т. е. употребляли алкоголь как минимум раз за последние 12 месяцев перед проведением опроса) (табл. 1). Больше половины опрошенных принадлежали к возрастной группе 30–49 лет (55,9%) и почти две трети имели законченное или незаконченное высшее образование (63,8%). В сравнении с женщинами, опрошенные мужчины чаще проживали в более крупных населенных пунктах ( $p = 0,010$ ), в домохозяйствах с более высоким уровнем дохода ( $p < 0,001$ ), который в первые месяцы пандемии реже изменялся, в том числе в меньшую сторону, чем у женщин ( $p = 0,014$ ). Привычные частота употребления алкоголя, число стандартных порций, выпиваемых в типичный день, частота эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах и доля лиц, употреблявших

незарегистрированный алкоголь, среди мужчин были больше, чем среди женщин ( $p < 0,001$ ). В целом, мужчины реже сообщали о том, что столкнулись в первые месяцы пандемии с ограничениями общественной ( $p = 0,007$ ) и личной повседневной жизни ( $p = 0,003$ ), чем женщины. Тем не менее, почти четвертая часть мужчин (23,2%) и почти третья часть женщин (30,8%), а также пятая часть мужчин (19,9%) и четвертая часть женщин (25,4%) сообщили о том, что столкнулись с очень сильными ограничениями общественной и повседневной жизни, соответственно. Мужчины в первые месяцы пандемии статистически значимо реже испытывали негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2, чем женщины ( $p = 0,005$ ). Однако лишь 30,4% мужчин и 23,5% женщин сообщили, что не испытывали совсем никаких негативных последствий для профессиональной или финансовой ситуации в связи с пандемией. Для половины мужчин (50,4%) и более двух третей женщин (69,5%) пандемия стала источником стресса ( $p < 0,001$ ). Инфекция SARS-CoV-2 у кого-либо из близких людей или у самого респондента была диагностирована у пятой части опрошенных (21,9%) при отсутствии статистически значимых различий по полу (табл. 1). В первые месяцы пандемии COVID-19 35,4% мужчин и 25,6% женщин

**Таблица 1.** Социо-демографические характеристики опрошенных респондентов и характеристики, связанные с типичным употреблением алкоголя и пандемией SARS-CoV-2

Характеристика	Мужчины	Женщины	Оба пола	$p^*$
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	
Возраст				
18–29	150 (23,5)	172 (19,6)	322 (21,2)	0,159
30–49	351 (54,9)	497 (56,5)	848 (55,9)	
50 и старше	138 (21,6)	210 (23,9)	348 (22,9)	
Образование				
Полное среднее или ниже	143 (22,4)	161 (18,3)	304 (20,0)	0,108
Начальное/среднее профессиональное или среднее специальное	95 (14,9)	151 (17,2)	246 (16,2)	
Законченное или незаконченное высшее	401 (62,8)	567 (64,5)	968 (63,8)	
Размер населенного пункта				
Сельское поселение, малый город, поселок	111 (17,4)	196 (22,3)	307 (20,2)	0,010
Средний, большой или крупный город	251 (39,3)	362 (41,2)	613 (40,4)	
Крупнейший или сверхкрупный город	277 (43,3)	321 (36,5)	598 (39,4)	
Доход на одного члена домохозяйства (рублей)				
9 999 и меньше	130 (20,3)	221 (25,1)	351 (23,1)	< 0,001
10 000–19 999	157 (24,6)	225 (25,6)	382 (25,2)	
20 000–39 999	136 (21,3)	226 (25,7)	362 (23,8)	
40 000–59 999	116 (18,2)	128 (14,6)	244 (16,1)	
60 000 и больше	100 (15,6)	79 (9,0)	179 (11,8)	
Изменение среднего месячного дохода домохозяйства с момента начала пандемии SARS-CoV-2				
Не изменился или увеличился	341 (53,4)	402 (45,7)	743 (48,9)	0,014
Немного снизился	124 (19,4)	187 (21,3)	311 (20,5)	
Умеренно снизился	79 (12,4)	149 (17,0)	228 (15,0)	
Сильно снизился	95 (14,9)	141 (16,0)	236 (15,5)	
Типичная частота употребления алкоголя за последние 12 месяцев				
Никогда	84 (13,4)	108 (12,6)	192 (12,9)	< 0,001
Раз в месяц или реже	121 (19,3)	314 (36,5)	435 (29,3)	
2–4 раза в месяц	183 (29,2)	227 (26,4)	410 (27,6)	
2–3 раза в неделю	118 (18,8)	116 (13,5)	234 (15,7)	
Чаще, чем 2–3 раза в неделю	121 (19,3)	95 (11,0)	216 (14,5)	

Продолжение таблицы 1

Характеристика	Мужчины	Женщины	Оба пола	p*
	n (%)	n (%)	n (%)	
Число стандартных порций алкоголя, выпиваемых в типичный день употребления алкоголя в последние 12 месяцев до пандемии**				
1–2	136 (26,0)	424 (57,1)	560 (44,2)	< 0,001
3–6	256 (48,9)	256 (34,5)	512 (40,4)	
7+	131 (25,0)	63 (8,5)	194 (15,3)	
Частота эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (шесть или более стандартных порций алкоголя за один раз) в последние 12 месяцев до пандемии				
Никогда	191 (31,3)	446 (52,3)	637 (43,6)	< 0,001
Менее 1 раза в месяц	124 (20,3)	176 (20,7)	300 (20,5)	
Один раз в месяц	96 (15,7)	102 (12,0)	198 (13,5)	
Раз в неделю	136 (22,3)	96 (11,3)	232 (15,9)	
Каждый день или почти каждый день	63 (10,3)	32 (3,8)	95 (6,5)	
Употребляют незарегистрированный алкоголь				
Да	320 (51,3)	359 (41,9)	679 (45,8)	< 0,001
Нет	304 (48,7)	498 (58,1)	802 (54,2)	
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями общественной жизни, которые были введены для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	61 (9,7)	65 (7,5)	126 (8,4)	0,007
В какой-то степени	222 (35,3)	267 (30,8)	489 (32,7)	
Достаточно сильно	200 (31,8)	267 (30,8)	467 (31,2)	
Очень сильно	146 (23,2)	267 (30,8)	413 (27,6)	
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями в личной повседневной жизни в результате мер, принятых для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	81 (12,8)	72 (8,3)	153 (10,2)	0,003
В какой-то степени	255 (40,3)	317 (36,6)	572 (38,2)	
Достаточно сильно	171 (27,0)	257 (29,7)	428 (28,6)	
Очень сильно	126 (19,9)	220 (25,4)	346 (23,1)	
За последние три месяца испытывали негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2				
Совсем нет	189 (30,4)	203 (23,5)	392 (26,4)	0,005
В какой-то степени	235 (37,8)	336 (38,9)	571 (38,5)	
Достаточно сильно	114 (18,4)	163 (18,9)	277 (18,7)	
Очень сильно	83 (13,4)	161 (18,7)	244 (16,4)	
За последние три месяца диагностирована инфекция SARS-CoV-2 у респондента или кого-либо из близких людей респондента (например, супруга, супруги, родственника или близкого друга)				
Да	137 (22,1)	186 (21,8)	323 (21,9)	0,949
Нет	484 (77,9)	667 (78,2)	1151 (78,1)	
За последние три месяца воспринимали ситуацию, связанную с распространением SARS-CoV-2, как стрессовую				
Да	292 (50,4)	574 (69,5)	866 (61,6)	< 0,001
Нет	287 (49,6)	252 (30,5)	539 (38,4)	

Примечание: \* — статистическая значимость межгрупповых различий оценена с применением критерия  $\chi^2$ ; \*\* — среди респондентов, употребляющих алкоголь (употребляли алкоголь как минимум 1 раз за последние 12 месяцев).

увеличили частоту употребления алкоголя; 24,9% мужчин и 17,7% женщин увеличили разовый объем потребления алкоголя, и 28,5% мужчин и 27,9% женщин увеличили частоту случаев эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах.

Результаты однофакторного и многофакторного анализа представлены в табл. 2–4.

#### Факторы, взаимосвязанные с увеличением частоты потребления алкоголя, в первые месяцы пандемии

На многофакторном уровне, после взаимной статистической корректировки эффекта вмешивающихся

факторов, с увеличением частоты потребления алкоголя в первые месяцы пандемии были статистически значимо положительно взаимосвязаны следующие факторы: принадлежность к возрастной группе 18–29 лет (ОШ — 1,710; 95% ДИ — 1,002–2,917), более частое привычное употребление спиртных напитков (ОШ — от 3,190; 95% ДИ — 1,887–5,392 для употребления с частотой 2–4 раза в месяц, до 18,727; 9,639–36,383 для употребления с частотой чаще чем 2–3 раза в неделю), употребление большего числа стандартных порций алкогольных напитков в типичный день выпивки (от ОШ — 1,941; 95% ДИ — 1,244–3,029 до ОШ — 2,234; 95% ДИ — 1,180–4,233), привычное эпизодическое употребление алкоголя в

**Таблица 2.** Взаимосвязь социо-демографических факторов, типичных частоты и объема употребления алкоголя, употребления незарегистрированного алкоголя, негативных последствий пандемии COVID-19 с увеличением частоты потребления алкоголя в первые месяцы пандемии COVID-19, 2020 г.

Переменная	Увеличившие частоту потребления алкоголя		Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	n / N	%	ОШ (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)
Пол				
Мужской	191/539	35,4	1,511 (1,188–1,921)	0,946 (0,664–1,348)
Женский	198/743	26,6	1,0	1,0
Возраст (лет)				
18–29	91/267	34,1	1,559 (1,076–2,257)	1,710 (1,002–2,917)
30–49	228/734	31,1	1,358 (0,994–1,856)	1,082 (0,690–1,698)
50 и старше	70/281	24,9	1,0	1,0
Образование				
Полное среднее или ниже	69/236	29,2	1,610 (1,027–2,525)	1,514 (0,807–2,839)
Начальное/среднее профессиональное или среднее специальное	39/191	20,4	1,0	1,0
Законченное или незаконченное высшее	281/855	32,9	1,908 (1,305–2,789)	1,644 (0,952–2,842)
Размер населенного пункта				
Сельское поселение, малый город, поселок	54/240	22,5	0,506 (0,356–0,718)	0,952 (0,576–1,574)
Средний, большой или крупный город	141/510	27,6	0,666 (0,512–0,865)	1,272 (0,871–1,858)
Крупнейший или сверхкрупный город	194/532	36,5	1,0	1,0
Доход на одного члена домохозяйства (рублей)				
9 999 и меньше	73/276	26,4	0,622 (0,409–0,944)	1,048 (0,561–1,957)
10 000–19 999	83/305	27,2	0,646 (0,430–0,972)	1,009 (0,569–1,791)
20 000–39 999	101/321	31,5	0,794 (0,533–1,181)	1,222 (0,705–2,117)
40 000–59 999	73/219	33,3	0,864 (0,564–0,324)	0,934 (0,528–1,650)
60 000 и больше	59/161	36,6	1,0	1,0
Изменение среднего месячного дохода домохозяйства с момента начала пандемии SARS-CoV-2				
Не изменился или увеличился	166/628	26,4	1,0	1,0
Немного снизился	84/258	32,6	1,344 (0,980–1,841)	1,074 (0,687–1,680)
Умеренно снизился	58/194	29,9	1,187 (0,832–1,693)	0,822 (0,485–1,393)
Сильно снизился	81/202	40,1	1,863 (1,336–2,598)	1,432 (0,803–2,552)
Типичная частота употребления алкоголя за последние 12 месяцев до пандемии				
Раз в месяц или реже	32/430	7,4	1,0	1,0
2–4 раза в месяц	110/404	27,2	4,653 (3,053–7,093)	3,190 (1,887–5,392)
2–3 раза в неделю	115/233	49,4	12,121 (7,788–18,865)	7,017 (3,898–12,632)
Чаще, чем 2–3 раза в неделю	132/215	61,4	19,780 (12,576–31,110)	18,727 (9,639–36,383)
Число стандартных порций алкоголя, выпиваемых в типичный день употребления алкоголя в последние 12 месяцев до пандемии				
1–2	84/517	16,2	1,0	1,0
3–6	198/505	39,2	3,325 (2,477–4,461)	1,941 (1,244–3,029)
7+	91/186	48,9	4,938 (3,409–7,152)	2,234 (1,180–4,233)
Типичная частота эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (6 или более стандартных порций алкогольных напитков за один раз) в последние 12 месяцев до пандемии				
Никогда	61/441	13,8	1,0	1,0
Менее раза в месяц	69/289	23,9	1,954 (1,333–2,864)	1,184 (0,712–1,969)
Один раз в месяц	77/192	40,1	4,171 (2,809–6,194)	2,061 (1,157–3,671)
Раз в неделю	119/229	52,0	6,739 (4,634–9,801)	2,012 (1,081–3,746)
Каждый день или почти каждый день	51/92	55,4	7,749 (4,738–12,674)	1,094 (0,444–2,695)
Употребляют незарегистрированный алкоголь				
Да	221/642	34,4	1,498 (1,174–1,912)	1,246 (0,897–1,730)
Нет	158/609	25,9	1,0	1,0

Продолжение таблицы 2

Переменная	Увеличившие частоту потребления алкоголя		Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	n / N	%	ОШ (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями общественной жизни, которые были введены для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	17/87	19,5	1,0	1,0
В какой-то степени	84/407	20,6	1,071 (0,598–1,916)	0,703 (0,250–1,977)
Достаточно сильно	133/413	32,2	1,956 (1,108–3,454)	1,068 (0,349–3,270)
Очень сильно	151/363	41,6	2,933 (1,659–5,184)	1,020 (0,315–3,299)
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями в личной повседневной жизни в результате мер, принятых для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	18/111	16,2	1,0	1,0
В какой-то степени	101/470	21,5	1,414 (0,815–2,453)	1,636 (0,622–4,304)
Достаточно сильно	133/385	34,5	2,727 (1,579–4,711)	2,594 (0,890–7,564)
Очень сильно	134/304	44,1	4,073 (2,342–7,081)	3,127 (1,011–9,675)
За последние три месяца испытывали негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2				
Совсем нет	65/318	20,4	1,0	1,0
В какой-то степени	142/492	28,9	1,579 (1,129–2,208)	1,240 (0,772–1,990)
Достаточно сильно	87/239	36,4	2,228 (1,525–3,255)	1,524 (0,848–2,739)
Очень сильно	89/211	42,2	2,839 (1,930–4,177)	2,247 (1,131–4,465)
За последние три месяца диагностирована инфекция SARS-CoV-2 у респондента или кого-либо из близких людей респондента (например, супруга, супруги, родственника или близкого друга)				
Да	82/278	29,5	0,956 (0,714–1,280)	0,846 (0,575–1,245)
Нет	295/969	30,4	1,0	1,0
За последние три месяца воспринимали ситуацию, связанную с распространением SARS-CoV-2, как стрессовую				
Да	254/746	34,0	1,587 (1,218–2,068)	1,306 (0,892–1,911)
Нет	108/440	24,5	1,0	1,0

больших разовых количествах с частотой один раз в месяц (ОШ — 2,061; 95% ДИ — 1,157–3,671) и раз в неделю (ОШ — 2,012; 95% ДИ — 1,081–3,746), очень сильные ограничения в повседневной жизни в результате мер, принятых для сдерживания распространения SARS-CoV-2 (ОШ — 3,127; 95% ДИ — 1,011–9,675) и очень сильные негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2 (ОШ — 2,247; 95% ДИ — 1,131–4,465) (табл. 2).

#### Факторы, взаимосвязанные с увеличением разового объема потребления алкоголя, в первые месяцы пандемии

Типичная частота употребления спиртных напитков до пандемии на уровне от двух раз в месяц и чаще (от ОШ — 2,587; 95% ДИ — 1,360–4,918 до ОШ — 12,021; 95% ДИ — 5,712–25,300), три и больше стандартных порций алкогольных напитков, выпиваемых в типичный день употребления алкоголя до пандемии (три–шесть порций: ОШ — 2,145; 95% ДИ — 1,270–3,623; семь и больше порций: ОШ — 2,922; 95% ДИ — 1,448–5,894) и повышенная частота (раз в неделю) эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (ОШ — 2,380; 95% ДИ — 1,180–4,800) были статистически значимо положительно взаимосвязаны с увеличением

разового объема потребления алкоголя в первые месяцы пандемии (табл. 3).

#### Факторы, взаимосвязанные с увеличением частоты случаев эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах в первые месяцы пандемии

Типичная частота употребления спиртных напитков до пандемии на уровне 2–3 раза в неделю (ОШ — 2,756; 95% ДИ — 1,137–6,679) и чаще (ОШ — 6,581; 95% ДИ — 2,585–16,749), семь и больше стандартных порций алкогольных напитков, выпиваемых в типичный день употребления алкоголя до пандемии (ОШ — 2,202; 95% ДИ — 1,014–4,779) и более частое эпизодическое употребление алкоголя в больших разовых количествах до пандемии на уровне от одного раза в месяц и чаще (от ОШ — 2,561; 95% ДИ — 1,341–4,893 до ОШ — 2,647; 95% ДИ — 1,030–6,803) были положительно взаимосвязаны с увеличением частоты эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах в первые месяцы пандемии (табл. 4). Шансы увеличения частоты эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах были статистически значимо более чем в 2 раза выше среди лиц, которые испытали очень сильные негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2 в первые месяцы пандемии (ОШ — 2,329; 95% ДИ — 1,001–5,428).

**Таблица 3.** Взаимосвязь социо-демографических факторов, типичных частоты и объема употребления алкоголя, употребления незарегистрированного алкоголя, негативных последствий пандемии COVID-19 с увеличением объема потребления алкоголя за один раз в первые месяцы пандемии COVID-19, 2020 г.

Переменная	Увеличившие разовый объем потребления алкоголя		Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	n / N	%	ОШ (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)
Пол				
Мужской	129/519	24,9	1,537 (1,166–2,026)	0,875 (0,592–1,295)
Женский	127/717	17,7	1,0	1,0
Возраст (лет)				
18–29	55/261	21,1	1,353 (0,872–2,100)	1,609 (0,875–2,961)
30–49	157/708	22,2	1,444 (0,999–2,088)	1,396 (0,838–2,325)
50 и старше	44/267	16,5	1,0	1,0
Образование				
Полное среднее или ниже	49/244	21,9	1,680 (0,990–2,851)	1,810 (0,884–3,703)
Начальное/среднее профессиональное или среднее специальное	25/175	14,3	1,0	1,0
Законченное или незаконченное высшее	182/837	21,7	1,667 (1,059–2,625)	1,797 (0,950–3,398)
Размер населенного пункта				
Сельское поселение, малый город, поселок	39/232	16,8	0,614 (0,412–0,915)	0,986 (0,568–1,709)
Средний, большой или крупный город	90/491	18,3	0,682 (0,503–0,925)	1,017 (0,664–1,558)
Крупнейший или сверхкрупный город	127/513	24,8	1,0	1,0
Доход на одного члена домохозяйства (рублей)				
9 999 и меньше	54/259	20,8	0,926 (0,573–1,497)	1,300 (0,647–2,609)
10 000–19 999	60/295	20,3	0,897 (0,561–1,436)	1,434 (0,755–2,723)
20 000–39 999	66/310	21,3	0,951 (0,598–1,511)	1,473 (0,794–2,734)
40 000–59 999	41/214	19,2	0,833 (0,502–1,383)	0,887 (0,460–1,710)
60 000 и больше	35/158	22,2	1,0	1,0
Изменение среднего месячного дохода домохозяйства с момента начала пандемии SARS-CoV-2				
Не изменился или увеличился	102/603	16,9	1,0	1,0
Немного снизился	50/255	19,6	0,417 (0,288–0,603)	0,917 (0,550–1,528)
Умеренно снизился	41/186	22,0	0,499 (0,324–0,769)	0,990 (0,559–1,753)
Сильно снизился	63/192	32,8	0,579 (0,366–0,916)	1,686 (0,915–3,104)
Типичная частота употребления алкоголя за последние 12 месяцев до пандемии				
Раз в месяц или реже	21/421	5,0	1,0	1,0
2–4 раза в месяц	66/386	17,1	3,929 (2,353–6,559)	2,587 (1,360–4,918)
2–3 раза в неделю	70/225	31,1	8,602 (5,105–14,494)	4,617 (2,309–9,233)
Чаще, чем 2–3 раза в неделю	99/204	48,5	17,959 (10,703–30,136)	12,021 (5,712–25,300)
Число стандартных порций алкоголя, выпиваемых в типичный день употребления алкоголя, в последние 12 месяцев до пандемии				
1–2	44/509	8,6	1,0	1,0
3–6	132/492	26,8	3,875 (2,682–5,598)	2,145 (1,270–3,623)
7+	76/186	40,9	7,302 (4,771–11,174)	2,922 (1,448–5,894)
Типичная частота эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (шесть или более стандартных порций алкоголя за один раз) в последние 12 месяцев до пандемии				
Никогда	32/440	7,3	1,0	1,0
Менее 1 раза в месяц	45/284	15,8	2,401 (1,485–3,882)	1,434 (0,781–2,632)
Один раз в месяц	43/192	22,4	3,680 (2,244–6,034)	1,876 (0,956–3,681)
Раз в неделю	90/228	39,5	8,315 (5,317–13,004)	2,380 (1,180–4,800)
Каждый день или почти каждый день	46/92	50,0	12,750 (7,397–21,978)	2,376 (0,905–6,240)
Употребляют незарегистрированный алкоголь				
Да	145/620	23,4	1,385 (1,046–1,834)	0,906 (0,628–1,308)
Нет	106/587	18,1	1,0	1,0
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями общественной жизни, которые были введены для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	13/84	15,5	1,0	1,0
В какой-то степени	49/378	13,0	0,813 (0,419–1,579)	1,092 (0,341–3,497)

Продолжение таблицы 3

Достаточно сильно	88/408	21,6	1,502 (0,795–2,839)	1,472 (0,409–5,298)
Очень сильно	104/357	29,1	2,245 (1,191–4,231)	1,539 (0,407–5,820)
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями в личной повседневной жизни в результате мер, принятых для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	16/108	14,8	1,0	1,0
В какой-то степени	55/449	12,2	0,803 (0,440–1,464)	0,809 (0,282–2,318)
Достаточно сильно	93/374	24,9	1,903 (1,065–3,400)	1,767 (0,550–5,681)
Очень сильно	91/296	30,7	2,552 (1,421–4,584)	1,737 (0,509–5,931)
За последние три месяца испытывали негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2				
Совсем нет	42/308	13,6	1,0	1,0
В какой-то степени	83/472	17,6	1,351 (0,903–2,021)	0,976 (0,566–1,683)
Достаточно сильно	60/232	25,9	2,209 (1,425–3,425)	1,453 (0,761–2,776)
Очень сильно	67/205	32,7	3,075 (1,986–4,761)	2,072 (0,983–4,369)
За последние три месяца диагностирована инфекция SARS-CoV-2 у респондента или кого-либо из близких людей респондента (например, супруга, супруги, родственника или близкого друга)				
Да	47/270	17,4	0,772 (0,544–1,098)	0,686 (0,442–1,064)
Нет	200/933	21,4	1,0	1,0
За последние три месяца воспринимали ситуацию, связанную с распространением SARS-CoV-2, как стрессовую				
Да	168/726	23,1	1,523 (1,116–2,077)	1,265 (0,819–1,952)
Нет	69/418	16,5	1,0	1,0

**Таблица 4.** Взаимосвязь социо-демографических факторов, типичных частоты и объема употребления алкоголя, употребления незарегистрированного алкоголя, негативных последствий пандемии COVID-19 с увеличением частоты случаев эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (шесть стандартных порций или более) в первые месяцы пандемии COVID-19, 2020 г.\*

Переменная	Увеличившие частоту эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах		Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	n / N	%		
Пол				
Мужской	117/411	28,5	1,028 (0,755–1,400)	0,759 (0,497–1,159)
Женский	108/387	27,9	1,0	1,0
Возраст (лет)				
18–29	50/173	28,9	1,370 (0,831–2,260)	1,732 (0,867–3,462)
30–49	140/472	29,7	1,422 (0,929–2,176)	1,363 (0,762–2,437)
50 и старше	35/153	22,9	1,0	1,0
Образование				
Полное среднее или ниже	47/171	27,5	1,401 (0,792–2,477)	1,487 (0,700–3,157)
Начальное/среднее профессиональное или среднее специальное	23/108	21,3	1,0	1,0
Законченное или незаконченное высшее	155/519	29,9	1,574 (0,957–2,588)	1,476 (0,753–2,894)
Размер населенного пункта				
Сельское поселение, малый город, поселок	36/153	23,5	0,698 (0,451–1,080)	1,043 (0,567–1,918)
Средний, большой или крупный город	81/292	27,7	0,871 (0,619–1,226)	1,534 (0,944–2,493)
Крупнейший или сверхкрупный город	108/353	30,6	1,0	1,0
Доход на одного члена домохозяйства (рублей)				
9 999 и меньше	53/177	29,9	1,187 (0,688–2,047)	1,458 (0,680–3,130)
10 000–19 999	48/184	26,1	0,980 (0,566–1,698)	1,210 (0,589–2,488)
20 000–39 999	57/195	29,2	1,147 (0,670–1,964)	1,299 (0,650–2,596)
40 000–59 999	40/140	28,6	1,111 (0,627–1,970)	1,218 (0,593–2,501)
60 000 и больше	27/102	26,5	1,0	1,0
Изменение среднего месячного дохода домохозяйства с момента начала пандемии SARS-CoV-2				
Не изменился или увеличился	90/380	23,7	1,0	1,0
Немного снизился	43/167	25,7	1,117 (0,734–1,700)	1,087 (0,618–1,914)
Умеренно снизился	41/130	31,5	1,484 (0,957–2,303)	1,246 (0,664–2,337)

Продолжение таблицы 4

Переменная	Увеличившие частоту эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах		Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	n / N	%		
Сильно снизился	51/121	42,1	2,348 (1,525–3,614)	1,624 (0,812–3,246)
Типичная частота употребления алкоголя за последние 12 месяцев до пандемии				
Раз в месяц или реже	13/142	9,2	1,0	1,0
2–4 раза в месяц	56/277	20,2	2,514 (1,324–4,775)	1,315 (0,566–3,056)
2–3 раза в неделю	64/192	33,3	4,962 (2,605–9,451)	2,756 (1,137–6,679)
Чаще, чем 2–3 раза в неделю	92/187	49,2	9,610 (5,076–18,194)	6,581 (2,585–16,749)
Число стандартных порций алкоголя, выпиваемых в типичный день употребления алкоголя в последние 12 месяцев до пандемии				
1–2	21/171	12,3	1,0	1,0
3–6	122/403	30,3	3,101 (1,874–5,132)	1,583 (0,836–2,999)
7+	78/184	42,4	5,256 (3,056–9,040)	2,202 (1,014–4,779)
Типичная частота эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах (шесть или более стандартных порций алкоголя за один раз) в последние 12 месяцев до пандемии				
Менее 1 раза в месяц	38/288	13,2	1,0	1,0
Один раз в месяц	46/190	24,2	2,102 (1,306–3,383)	2,561 (1,341–4,893)
Раз в неделю	94/228	41,2	4,615 (2,998–7,104)	3,411 (1,746–6,665)
Каждый день или почти каждый день	47/92	51,1	6,871 (4,034–11,703)	2,647 (1,030–6,803)
Употребляют незарегистрированный алкоголь				
Да	127/430	29,5	1,166 (0,851–1,599)	0,897 (0,596–1,349)
Нет			1,0	1,0
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями общественной жизни, которые были введены для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	12/62	19,4	1,0	1,0
В какой-то степени	48/266	18,0	0,917 (0,454–1,854)	0,943 (0,263–3,379)
Достаточно сильно	79/239	33,1	2,057 (1,037–4,082)	1,553 (0,381–6,329)
Очень сильно	81/224	36,2	2,360 (1,188–4,689)	0,820 (0,187–3,599)
Столкнулись за последние три месяца с ограничениями в личной повседневной жизни в результате мер, принятых для сдерживания распространения SARS-CoV-2				
Совсем нет	12/83	14,5	1,0	1,0
В какой-то степени	57/295	19,3	1,417 (0,720–2,787)	1,513 (0,467–4,899)
Достаточно сильно	78/222	35,1	3,205 (1,638–6,269)	2,690 (0,720–10,055)
Очень сильно	75/191	39,3	3,825 (1,944–7,530)	3,889 (0,969–15,608)
За последние три месяца испытывали негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2				
Совсем нет	40/195	20,5	1,0	1,0
В какой-то степени	72/306	23,5	1,192 (0,771–1,845)	0,699 (0,383–1,275)
Достаточно сильно	54/153	35,3	2,114 (1,307–3,417)	1,280 (0,625–2,621)
Очень сильно	57/132	43,2	2,945 (1,805–4,804)	2,329 (1,001–5,428)
За последние три месяца диагностирована инфекция SARS-CoV-2 у респондента или кого-либо из близких людей респондента (например, супруга, супруги, родственника или близкого друга)				
Да	48/171	28,1	0,986 (0,676–1,438)	0,893 (0,554–1,439)
Нет	171/603	28,4	1,0	1,0
За последние три месяца воспринимали ситуацию, связанную с распространением SARS-CoV-2, как стрессовую				
Да	140/423	33,1	1,749 (1,251–2,466)	1,004 (0,628–1,606)
Нет	69/313	22,0	1,0	1,0

Примечание: \* — из анализа исключены респонденты, которые никогда не употребляли шесть и более порций алкоголя за последние 12 месяцев.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследований, проведенных другими авторами в разных странах в первые месяцы пандемии, свидетельствуют о схожих с выявленными нами закономерностях. В частности, в исследовании, проведенном в Израиле,

мужской пол был связан с увеличением потребления пива и крепкого алкоголя [16], в то время как в исследовании, проведенном в Канаде, мужской пол, стресс, чувство одиночества и безнадежности были связаны с увеличением частоты потребления алкоголя в первые месяцы пандемии [17]. В исследовании, проведенном в Великобритании,

стресс, вызванный пандемией, был связан с ростом опасного потребления алкоголя [18]. Высокий уровень тревоги и стресса, вызванные пандемией, приводили к росту потребления алкоголя в Австралии, Франции и Канаде [17, 19, 20].

Что касается потребления алкоголя в общей популяции без стратификации населения по уровню воздействия факторов, связанных с пандемией, то в исследовании, проведенном во Франции, был выявлен рост [20], а в Греции и Испании — снижение совокупного употребления алкоголя в период карантинных ограничений [21, 22]. Причем в Греции и Испании снижение потребления алкоголя было менее выраженным среди испытывавших стресс лиц и среди людей с низким и средним уровнем дохода. Анализ закупок алкоголя домохозяйствами в России [23, 24] и Великобритании [25] показал, что во время карантина алкоголь приобретали в больших количествах, чем до карантина. В США в первые месяцы пандемии был зарегистрирован рост розничных продаж алкоголя [26]. Глобальное исследование изменения доступности и потребления психоактивных веществ и алкоголя во время пандемии зарегистрировало 71%-й рост потребления алкоголя в мире [27]. Тем не менее, результаты проведенного крупномасштабного исследования в европейских странах показали, что в подавляющем большинстве этих стран, включая Россию, в целом на популяционном уровне произошло снижение употребления алкоголя в первые месяцы пандемии, в основном за счет снижения частоты эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах [22].

В настоящем исследовании у лиц, которые изначально употребляли алкоголь более часто и в больших разовых количествах, в первые месяцы пандемии был выявлен статистически значимый рост всех трех ключевых параметров потребления алкоголя: частоты, разового объема потребления алкоголя и частоты эпизодического потребления алкоголя в больших разовых количествах. Это свидетельствует о поляризации потребления алкоголя, когда изначально более пьющее население увеличивает потребление алкоголя, в то время как малопьющее население еще больше его снижает, что соответствует результатам другого онлайн-опроса, проведенного в общей популяции взрослого населения Российской Федерации [28]. Выявленные нами взаимосвязи роста частоты потребления спиртных напитков и частоты эпизодического потребления алкоголя в больших разовых количествах с такими факторами, как сильные ограничения повседневной жизни и сильные негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2, раскрывают новый аспект или механизм, связанный со стрессом, посредством которого пандемия оказывает воздействие на изменение

питьевого поведения населения. Данные находки соответствуют стресс-ассоциированным закономерностям, выявленным в других вышеупомянутых исследованиях, и согласуются с ранее зафиксированными изменениями питьевого поведения в России в зависимости от социо-демографических характеристик, факторов окружающей среды и стресса в периоды социо-экономических кризисов и кризисов общественного здоровья [29].

Ограничением настоящего исследования может быть недостаточная репрезентативность выборки для пользователей социальных онлайн-сетей в России. Однако, размер данной ошибки выборки, вероятно, небольшой, так как для проведения онлайн-опроса были использованы наиболее массовые и часто используемые в России социальные сети и принимая во внимание социо-демографические характеристики опрошенных респондентов, которые в основном соответствуют таковым для пользователей социальных сетей в России. Кроме того, совпадение ряда выявленных закономерностей с результатами исследований, проведенных другими авторами, свидетельствует о том, что результаты настоящего исследования с высокой вероятностью не являются следствием ошибки выборки. Еще одним ограничением анализа в данной работе является оценка изменений потребления алкоголя без дифференциации на зарегистрированный и незарегистрированный алкоголь. Учитывая это, требуется проведение дополнительного анализа изменений употребления незарегистрированного алкоголя [30], принимая во внимание его достаточно высокую физическую доступность в России в период пандемии COVID-19 [31].

## ВЫВОДЫ

В первые месяцы пандемии COVID-19 свыше трети мужчин и четверть женщин пользователей социальных онлайн-сетей в России увеличили частоту употребления алкоголя; каждый четвертый мужчина и каждая пятая женщина увеличили разовый объем потребления алкоголя, и чуть менее трети мужчин и женщин увеличили частоту случаев эпизодического употребления алкоголя в больших разовых количествах. С увеличением потребления алкоголя в первые месяцы пандемии были связаны такие факторы, как мужской пол, принадлежность к более молодой возрастной группе, сильные ограничения повседневной жизни и сильные негативные последствия в отношении профессиональной или финансовой ситуации в связи с распространением SARS-CoV-2. Учитывая полученные результаты, необходимо изучение возможности проведения с использованием социальных онлайн-сетей скрининга и профилактических вмешательств, направленных на предотвращение проблем, связанных с употреблением алкоголя, в периоды масштабных эпидемий и кризисов общественного здоровья.

## Литература

1. РосСтат (Федеральная служба государственной статистики). [прочитано 18.10.2021]. Official Statistics. Доступно по ссылке: <https://eng.gks.ru/folder/11335>.
2. Артамонов Р. Е., Лаврентьев Н. В. Опрос общественного мнения населения РФ. Изменения, вызванные эпидемией коронавируса и режимом самоизоляции. Аналитический бюллетень НИУ ВШЭ. 2020; (3): 4–24. Доступно по ссылке: <https://www.hse.ru/mirror/pubs/share/368507661.pdf>.
3. McPhee MD, Keough MT, Rundle S, Heath LM, Wardell JD, Hendershot CS. Depression, Environmental Reward, Coping Motives and Alcohol Consumption During the COVID-19 Pandemic. *Front Psychiatry*. 2020; 11: 574676. PMID: 33192708; PMCID: PMC7661794. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.574676>.
4. Hamza CA, Ewing L, Heath NL, Goldstein AL. When social isolation is nothing new: a longitudinal study on psychological distress during COVID-19 among university students with and without preexisting mental health concerns. *Can Psychol*. 2021; 62 (1): 20–30. Available from: <https://doi.org/10.1037/cap0000255>.

5. Kuntsche E, Gabhainn SN, Roberts C, Windlin B, Vieno A, Bendtsen P, et al. Drinking motives and links to alcohol use in 13 European countries. *J Stud Alcohol Drugs*. 2014; 75 (3): 428–37. PMID: 24766755. Available from: <https://doi.org/10.15288/jsad.2014.75.428>.
6. Cooper ML, Kuntshce E, Levitt A, Barber LL, Wolf S. Motivational models of substance use: a review of theory and research on motives for using alcohol, marijuana, and tobacco. In: Sher KJ, editor. *The Oxford handbook of substance use and substance use disorders*. 1st edition. Oxford (UK): Oxford University Press, 2016; p. 375–421.
7. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet*. 2020; 395 (10227): 912–20. PMID: 32112714; PMCID: PMC7158942. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30460-8).
8. de Goeij MC, Suhrcke M, Toffolotti V, van de Mheen D, Schoenmakers TM, Kunst AE. How economic crises affect alcohol consumption and alcohol-related health problems: a realist systematic review. *Soc Sci Med*. 2015; 131: 131–46. PMID: 25771482. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2015.02.025>.
9. Alexander AC, Ward KD. Understanding Postdisaster Substance Use and Psychological Distress Using Concepts from the Self-Medication Hypothesis and Social Cognitive Theory. *J Psychoactive Drugs*. 2018; 50 (2): 177–186. PMID: 29125424; PMCID: PMC6101235. Available from: <https://doi.org/10.1080/02791072.2017.1397304>.
10. Rehm J, Kilian C, Ferreira-Borges C, Jernigan D, Monteiro M, Parry CDH, et al. Alcohol use in times of the COVID 19: Implications for monitoring and policy. *Drug Alcohol Rev*. 2020; 39 (4): 301–4. PMID: 32358884; PMCID: PMC7267161. Available from: <https://doi.org/10.1111/dar.13074>.
11. Jacob L, Smith L, Armstrong NC, Yakkundi A, Barnett Y, Butler L, et al. Alcohol use and mental health during COVID-19 lockdown: A cross-sectional study in a sample of UK adults. *Drug Alcohol Depend*. 2021; 219: 108488. PMID: 33383352; PMCID: PMC7768217. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.108488>.
12. Rodriguez LM, Litt DM, Stewart SH. Drinking to cope with the pandemic: The unique associations of COVID-19-related perceived threat and psychological distress to drinking behaviors in American men and women. *Addict Behav*. 2020; 110: 106532. PMID: 32652385; PMCID: PMC7320671. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2020.106532>.
13. Rotermann M. Canadians who report lower self-perceived mental health during the COVID-19 pandemic more likely to report increased use of cannabis, alcohol and tobacco. Ottawa (ON): Statistics Canada; 2020 [Statistics Canada, Catalogue No.: 45280001]. [cited 19.10.2021]. Available from: <https://www150.statcan.gc.ca/n1/en/pub/45-28-0001/2020001/article/00008-eng.pdf?st=B5oO34OM>.
14. Bambra C, Riordan R, Ford J, Matthews F. The COVID-19 pandemic and health inequalities. *J Epidemiol Community Health*. 2020; 74 (11): 964–8. Available from: <https://doi.org/10.1136/jech-2020-214401>.
15. Vigo D, Patten S, Pajer K, Krausz M, Taylor S, Rush B, et al. Mental health of communities during the COVID-19 pandemic. *Can J Psychiatry*. 2020; 65 (10): 681–7. <https://doi.org/10.1177/0706743720926676>.
16. Levy I, Cohen-Louck K, Bonny-Noach H. Gender, employment, and continuous pandemic as predictors of alcohol and drug consumption during the COVID-19. *Drug Alcohol Depend*. 2021; 228: 109029. PMID: 34500243; PMCID: PMC8411591. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2021.109029>.
17. Thompson K, Dutton DJ, MacNabb K, Liu T, Blades S, Asbridge M. Changes in alcohol consumption during the COVID-19 pandemic: exploring gender differences and the role of emotional distress. *Health Promot Chronic Dis Prev Can*. 2021; 41 (9): 254–263. English, French. PMID: 34164972. Available from: <https://doi.org/10.24095/hpcdp.41.9.02>.
18. Clay JM, Stafford LD, Parker MO. Associations Between Self-reported Inhibitory Control, Stress, and Alcohol (Mis)use During the First Wave of the COVID-19 Pandemic in the UK: a National Cross-sectional Study Utilising Data From Four Birth Cohorts. *Int J Ment Health Addict*. 2021; 1–22. PMID: 34366730; PMCID: PMC8330475. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11469-021-00599-8>.
19. Rolland B, Haesebaert F, Zante E, Benyamina A, Haesebaert J, Franck N. Global Changes and Factors of Increase in Caloric/Salty Food Intake, Screen Use, and Substance Use During the Early COVID-19 Containment Phase in the General Population in France: Survey Study. *JMIR Public Health Surveill*. 2020; 6 (3): e19630. Available from: <https://doi.org/10.2196/19630>. Erratum in: *JMIR Public Health Surveill*. 2021; 7 (7): e31906. PMID: 32589149; PMCID: PMC7505683.
20. Stanton R, To QG, Khalesi S, Williams SL, Alley SJ, Thwaite TL, et al. Depression, Anxiety and Stress during COVID-19: Associations with Changes in Physical Activity, Sleep, Tobacco and Alcohol Use in Australian Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17 (11): 4065. PMID: 32517294; PMCID: PMC7312903. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijerph17114065>.
21. Panagiotidis P, Rantis K, Holeva V, Parlapani E, Diakogiannis I. Changes in Alcohol Use Habits in the General Population, during the COVID-19 Lockdown in Greece. *Alcohol Alcohol*. 2020; 55 (6): 702–4. PMID: 32959877; PMCID: PMC7543262. Available from: <https://doi.org/10.1093/alc/aggaa092>.
22. Kilian C, Rehm J, Allebeck P, Braddick F, Gual A, Barták M, et al. Alcohol consumption during the COVID-19 pandemic in Europe: a large-scale cross-sectional study in 21 countries. *Addiction*. 2021. PMID: 34109685. Available from: <https://doi.org/10.1111/add.15530>.
23. Исследования на основе данных Сбербанка. 2020. [прочитано 15.10.2021]. Доступно по ссылке: <https://www.sberbank.ru/ru/about/issledovaniya>
24. Немцов А. В., Гридин Р. Р. Косвенные показатели потребления алкоголя во время эпидемии коронавируса в России. Вопросы наркологии. 2020; (10): 16–33. Доступно по ссылке: [https://doi.org/10.47877/0234-0623\\_2020\\_10\\_16](https://doi.org/10.47877/0234-0623_2020_10_16).
25. Anderson P, Llopis EJ, O'Donnell A, Kaner E. Impact of COVID-19 Confinement on Alcohol Purchases in Great Britain: Controlled Interrupted Time-Series Analysis During the First Half of 2020 Compared With 2015–2018. *Alcohol Alcohol*. 2021; 56 (3): 307–16. PMID: 33211796; PMCID: PMC7717153. Available from: <https://doi.org/10.1093/alc/aggaa128>.
26. Castaldelli-Maia JM, Segura LE, Martins SS. The concerning increasing trend of alcohol beverage sales in the U.S. during the COVID-19 pandemic. *Alcohol*. 2021; 96: 37–42. PMID: 34245809; PMCID: PMC8421038. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2021.06.004>.
27. Farhoudian A, Radfar SR, Mohaddes Ardabili H, Rafei P, Ebrahimi M, et al. A Global Survey on Changes in the Supply, Price, and Use of Illicit Drugs and Alcohol, and Related Complications During the 2020 COVID-19 Pandemic. *Front Psychiatry*. 2021; 12: 646206. PMID: 34421664; PMCID: PMC8377291. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.646206>.
28. Гиль А. Ю., Вышинский К. В., Фадеева Е. В., Хальфин Р. А. Изменения особенностей потребления алкоголя в Российской Федерации в первые месяцы пандемии COVID-19. Проблемы стандартизации в здравоохранении. 2021; 5–6: 63–73. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.26347/1607-2502202105-06063-073>.
29. Nemtsov AV. *A Contemporary History of Alcohol in Russia*. Södertörn: Södertörn University, 2011; 348 p.
30. Гиль А. Ю., Хальфин Р. А., Криницкий С. М., Никифоров С. А., Ильченко И. Н., Косаговская И. И., и др. Употребление суррогатного алкоголя лицами с расстройствами, связанными со злоупотреблением алкоголем (на примере субъекта Российской Федерации). Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2021; 29 (3): 486–91. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-3-486-491>.
31. Gil A. COVID-19: A need for stricter control over unrecorded alcohol in Russia. *Adicciones*. 2021; 33 (3): 281–4. Available from: <https://doi.org/10.20882/adicciones.1634>.

## References

- RosStat (Federal'naja sluzhba gosudarstvennoj statistiki). [procitirovano 18.10.2021]. Official Statistics. Dostupno po ssylke: <https://eng.gks.ru/folder/11335>.
- Artamonov RE, Lavrentev NV. Opros obshhestvennogo mnenija naselenija RF. Izmenenija, vyzvannye jepidemiej koronavirusa i rezhimom samoizolacii. Analiticheskij bjulleten' NIU VShJe. 2020; (3): 4–24. Available from: <https://www.hse.ru/mirror/pubs/share/368507661.pdf>.
- McPhee MD, Keough MT, Rundle S, Heath LM, Wardell JD, Hendershot CS. Depression, Environmental Reward, Coping Motives and Alcohol Consumption During the COVID-19 Pandemic. *Front Psychiatry*. 2020; 11: 574676. PMID: 33192708; PMCID: PMC7661794. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.574676>.
- Hamza CA, Ewing L, Heath NL, Goldstein AL. When social isolation is nothing new: a longitudinal study on psychological distress during COVID-19 among university students with and without preexisting mental health concerns. *Can Psychol*. 2021; 62 (1): 20–30. Available from: <https://doi.org/10.1037/cap0000255>.
- Kuntsche E, Gabhainn SN, Roberts C, Windlin B, Vieno A, Bendtsen P, et al. Drinking motives and links to alcohol use in 13 European countries. *J Stud Alcohol Drugs*. 2014; 75 (3): 428–37. PMID: 24766755. Available from: <https://10.15288/jasad.2014.75.428>.
- Cooper ML, Kuntsche E, Levitt A, Barber LL, Wolf S. Motivational models of substance use: a review of theory and research on motives for using alcohol, marijuana, and tobacco. In: Sher KJ, editor. *The Oxford handbook of substance use and substance use disorders*. 1st edition. Oxford (UK): Oxford University Press, 2016; p. 375–421.
- Brooks SK, Webster RK, Smith LE, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet*. 2020; 395 (10227): 912–20. PMID: 32112714; PMCID: PMC7158942. Available from: [https://10.1016/S0140-6736\(20\)30460-8](https://10.1016/S0140-6736(20)30460-8).
- de Goeij MC, Suhrcke M, Toffolatti V, van de Mheen D, Schoenmakers TM, Kunst AE. How economic crises affect alcohol consumption and alcohol-related health problems: a realist systematic review. *Soc Sci Med*. 2015; 131: 131–46. PMID: 25771482. Available from: <https://10.1016/j.socscimed.2015.02.025>.
- Alexander AC, Ward KD. Understanding Postdisaster Substance Use and Psychological Distress Using Concepts from the Self-Medication Hypothesis and Social Cognitive Theory. *J Psychoactive Drugs*. 2018; 50 (2): 177–186. PMID: 29125424; PMCID: PMC6101235. Available from: <https://10.1080/02791072.2017.1397304>.
- Rehm J, Kilian C, Ferreira-Borges C, Jernigan D, Monteiro M, Parry CDH, et al. Alcohol use in times of the COVID 19: Implications for monitoring and policy. *Drug Alcohol Rev*. 2020; 39 (4): 301–4. PMID: 32358884; PMCID: PMC7267161. Available from: <https://10.1111/dar.13074>.
- Jacob L, Smith L, Armstrong NC, Yakkundi A, Barnett Y, Butler L, et al. Alcohol use and mental health during COVID-19 lockdown: A cross-sectional study in a sample of UK adults. *Drug Alcohol Depend*. 2021; 219: 108488. PMID: 33383352; PMCID: PMC7768217. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.108488>.
- Rodriguez LM, Litt DM, Stewart SH. Drinking to cope with the pandemic: The unique associations of COVID-19-related perceived threat and psychological distress to drinking behaviors in American men and women. *Addict Behav*. 2020; 110: 106532. PMID: 32652385; PMCID: PMC7320671. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2020.106532>.
- Rotermann M. Canadians who report lower self-perceived mental health during the COVID-19 pandemic more likely to report increased use of cannabis, alcohol and tobacco. Ottawa (ON): Statistics Canada; 2020 [Statistics Canada, Catalogue No.: 45280001]. [cited 19.10.2021]. Available from: <https://www150.statcan.gc.ca/n1/en/pub/45-28-0001/2020001/article/00008-eng.pdf?st=B5oO34OM>.
- Bambra C, Riordan R, Ford J, Matthews F. The COVID-19 pandemic and health inequalities. *J Epidemiol Community Health*. 2020; 74 (11): 964–8. Available from: <https://doi.org/10.1136/jech-2020-214401>.
- Vigo D, Patten S, Pajer K, Krausz M, Taylor S, Rush B, et al. Mental health of communities during the COVID-19 pandemic. *Can J Psychiatry*. 2020; 65 (10): 681–7. Available from: <https://doi.org/10.1177/0706743720926676>.
- Levy I, Cohen-Louck K, Bonny-Noach H. Gender, employment, and continuous pandemic as predictors of alcohol and drug consumption during the COVID-19. *Drug Alcohol Depend*. 2021; 228: 109029. PMID: 34500243; PMCID: PMC8411591. Available from: <https://10.1016/j.drugalcdep.2021.109029>.
- Thompson K, Dutton DJ, MacNabb K, Liu T, Blades S, Asbridge M. Changes in alcohol consumption during the COVID-19 pandemic: exploring gender differences and the role of emotional distress. *Health Promot Chronic Dis Prev Can*. 2021; 41 (9): 254–263. English, French. PMID: 34164972. Available from: <https://10.24095/hpcdp.41.9.02>.
- Clay JM, Stafford LD, Parker MO. Associations Between Self-reported Inhibitory Control, Stress, and Alcohol (Mis)use During the First Wave of the COVID-19 Pandemic in the UK: a National Cross-sectional Study Utilising Data From Four Birth Cohorts. *Int J Ment Health Addict*. 2021; 1–22. PMID: 34366730; PMCID: PMC8330475. Available from: <https://10.1007/s11469-021-00599-8>.
- Rolland B, Haesebaert F, Zante E, Benyamina A, Haesebaert J, Franck N. Global Changes and Factors of Increase in Caloric/ Salty Food Intake, Screen Use, and Substance Use During the Early COVID-19 Containment Phase in the General Population in France: Survey Study. *JMIR Public Health Surveill*. 2020; 6 (3): e19630. Available from: <https://doi.org/10.2196/19630>. Erratum in: *JMIR Public Health Surveill*. 2021; 7 (7): e31906. PMID: 32589149; PMCID: PMC7505683.
- Stanton R, To QG, Khalesi S, Williams SL, Alley SJ, Thwaite TL, et al. Depression, Anxiety and Stress during COVID-19: Associations with Changes in Physical Activity, Sleep, Tobacco and Alcohol Use in Australian Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17 (11): 4065. PMID: 32517294; PMCID: PMC7312903. Available from: <https://10.3390/ijerph17114065>.
- Panagiotidis P, Rantis K, Holeva V, Parlapani E, Diakogiannis I. Changes in Alcohol Use Habits in the General Population, during the COVID-19 Lockdown in Greece. *Alcohol Alcohol*. 2020; 55 (6): 702–4. PMID: 32959877; PMCID: PMC7543262. Available from: <https://doi.org/10.1093/alc/aga092>.
- Kilian C, Rehm J, Allebeck P, Braddick F, Gual A, Barták M, et al. Alcohol consumption during the COVID-19 pandemic in Europe: a large-scale cross-sectional study in 21 countries. *Addiction*. 2021. PMID: 34109685. Available from: <https://10.1111/add.15530>.
- Issledovaniya na osnove dannyh Sberbanka. 2020. [procitirovano 15.10.2021]. Dostupno po ssylke: <https://www.sberbank.ru/ru/about/issledovaniya>
- Nemcov AV, Gridin RR. Kosvennye pokazateli potrebljenija alkogolja vo vremja jepidemii koronavirusa v Rossii. *Voprosy narkologii*. 2020; (10): 16–33. Available from: [https://10.47877/0234-0623\\_2020\\_10\\_16](https://10.47877/0234-0623_2020_10_16).
- Anderson P, Llopis EJ, O'Donnell A, Kaner E. Impact of COVID-19 Confinement on Alcohol Purchases in Great Britain: Controlled Interrupted Time-Series Analysis During the First Half of 2020 Compared With 2015–2018. *Alcohol Alcohol*. 2021; 56 (3): 307–16. PMID: 33211796; PMCID: PMC7717153. Available from: <https://doi.org/10.1093/alc/aga128>.
- Castaldelli-Maia JM, Segura LE, Martins SS. The concerning increasing trend of alcohol beverage sales in the U.S. during the COVID-19 pandemic. *Alcohol*. 2021; 96: 37–42. PMID: 34245809; PMCID: PMC8421038. Available from: <https://10.1016/j.alcohol.2021.06.004>.
- Farhoudian A, Radfar SR, Mohaddes Ardabili H, Rafei P, Ebrahimi M, et al. A Global Survey on Changes in the Supply, Price, and Use of Illicit Drugs and Alcohol, and Related Complications During the 2020 COVID-19 Pandemic. *Front Psychiatry*. 2021;

- 12: 646206. PMID: 34421664; PMCID: PMC8377291. Available from: <https://10.3389/fpsy.2021.646206>.
28. Gil AYu, Vyshinskiy KV, Fadeeva EV, Khalfin R. A. Izmenenija osobennostej potreblenija alkogolja v Rossijskoj Federacii v pervye mesjacy pandemii COVID-19. Problemy standartizacii v zdravoohranenii. 2021; 5–6: 63–73. Available from: <https://doi.org/10.26347/1607-2502202105-06063-073>.
29. Nemtsov AV. A Contemporary History of Alcohol in Russia. Södertörn: Södertörn University, 2011; 348 r.
30. Gil A, Khalfin R, Krinitsky S, Nikoforov S, Ilchenko I, Kosagovskaya I, i dr. Upotreblenie surrogatnogo alkogolja licami s rasstrojstvami, sviazannymi so zloupotrebleniem alkogolem (na primere sub"ekta Rossijskoj Federacii). Problemy social'noj gigieny, zdravoohranenija i istorii mediciny. 2021; 29 (3): 486–91. Available from: <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-3-486-491>.
31. Gil A. COVID-19: A need for stricter control over unrecorded alcohol in Russia. Adicciones. 2021; 33 (3): 281–4. Available from: <https://doi.org/10.20882/adicciones.1634>.