

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 Гейдебрект, к. б. н.; Надежда Тихомирова

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР Евгений Лукьянов

ПЕРЕВОДЧИКИ Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

ДИЗАЙН И ВЕРСТКА Марины 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. Богомилский, 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. Гайнетдинов, 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)
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

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@vestnikrgmu.ru

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

Журнал включен в Scopus. CiteScore 2022: 0,6

Журнал включен в WoS. JCR 2021: 0,5

Индекс Хирша (h²) журнала по оценке Google Scholar: 8

Scopus[®]

WEB OF SCIENCE™

Google
scholar

SCImago Journal & Country Rank 2020: 0,14

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 507)

Здесь находится открытый архив журнала

SJR
Scimago Journal & Country Rank

ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2024-04

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



Подписано в печать 31.08.2024

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula
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, PhD; Nadezda Tikhomirova

TECHNICAL EDITOR Evgeny Lukyanov

TRANSLATORS Nadezda Tikhomirova, 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)

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)

Skoblina 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

COLLABORATION manager@vestnikrgmu.ru

ADDRESS ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997

Indexed in Scopus. CiteScore 2022: 0.6

Scopus[®]

SCImago Journal & Country Rank 2020: 0.14

SJR
Scimago Journal & Country Rank

Indexed in WoS. JCR 2021: 0.5

WEB OF SCIENCE[™]

Listed in HAC 31.01.2020 (№ 507)



**ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)**

Five-year h-index is 8

Google
scholar

Open access to archive

CYBERLENINKA

Issue DOI: 10.24075/brsmu.2024-04

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



Approved for print 31.08.2024

Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula
www.print-formula.ru

ОБЗОР

4

Фотополимеризуемые материалы для биосовместимых имплантируемых матриц

И. С. Рудик, А. В. Миронов, В. С. Кузнецова, А. В. Васильев

Photopolymerizable materials for biocompatible implantable matrices

Rudik IS, Mironov AV, Kuznetsova VS, Vasilev AV

МНЕНИЕ

12

Перспективы применения притованных временных ортопедических конструкций при длительной эксплуатации

С. В. Просокова, А. М. Еникеев, А. Е. Пирогов, Р. М. Кулиев

Prospects for the use of long-living printed temporary orthopedic structures

Proskokova SV, Enikeev AM, Pirogov AE, Kuliev RM

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

17

Влияние биосовместимых пьезоэлектрических мембран на развитие фиброза при регенерации ран слизистой оболочки полости рта

А. Д. Коняева, Е. Ю. Варакута, А. Е. Лейман, Г. М. Кормашов, М. В. Федосова, Е. Н. Больбасов, К. С. Станкевич

Effects of biocompatible piezoelectric membranes on the development of fibrosis associated with the oral mucosal wound regeneration

Konjaeva AD, Varakuta EYu, Leiman AE, Kormashov GM, Fedosova MV, Bolbasov EN, Stankevich KS

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

24

Гинекологические проблемы у подростков: тенденции обращений к гинекологам и жалоб

О. О. Уйаньклар, С. Рахимлы Очакоглу, Э. Атак, Э. Суэр

disclosing adolescents' gynecological concerns: exploring trends in adolescent gynecology visits and complaints

Uyaniklar OO, Rahimli Ocakoglu S, Atak Z, Suer E

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

31

Изучение уровня аминокислот и полиаминов крови при ассоциированных с плацентой осложнениях беременности

А. П. Гасанбекова, Н. А. Франкевич, В. В. Чаговец, Е. Л. Дербенцева, А. В. Новоселова, Т. Э. Карапетян, Г. Э. Мамедова, В. Е. Франкевич

Assessment of blood amino acid and polyamine levels in placenta-associated pregnancy complications

Gasarbekova AP, Frankevich NA, Chagovets VV, Dolgopolova EL, Novoselova AV, Karapetyan TE, Mamedova GE, Frankevich VE

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

40

Дискриминирующая способность метода мультиплексной ПЦР при выявлении микобактериальной коинфекции

Т. Г. Смирнова, С. Н. Андреевская, В. В. Устинова, Е. Е. Ларионова, Е. А. Киселева, Л. Н. Черноусова, А. Эргешов

Discriminatory power of multiplex PCR for detection of mycobacterial co-infection

Smirnova TG, Andreevskaya SN, Ustinova VV, Larionova EE, Kiseleva EA, Chernousova LN, Ergeshov A

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

46

Эффективность добавления системной озонотерапии к фармакологическому лечению у пациентов с постковидным астеническим синдромом

А. А. Солдатенко, Л. Н. Гуменюк, Д. М. Бердиева, Э. И. Пономарчук

Effectiveness of enriching drug treatment with systemic ozone therapy in patients with post-COVID asthenic syndrome

Soldatenko AA, Gumenyuk LN, Berdieva DM, Ponomarchuk EI

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

55

Связь локальной биоимпедансометрии в абдоминальной области с ее морфологическими и биохимическими признаками

Э. А. Бондарева, Г. Е. Леонов, О. И. Парфентьева, А. А. Арутюнян, Н. А. Бевзюк, О. Н. Ковалева, А. Н. Гаджихмедова, С. Е. Шемяков, Н. А. Кулемин

Association of local bioimpedance analysis of the abdominal region with morphological and biochemical traits

Bondareva EA, Leonov GE, Parfenteva OI, Arutunian AA, Bevziuk NA, Kovaleva ON, Gadziakhmedova AN, Shemyakov SE, Kulemin NA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

64

Структура временной перспективы участников боевых действий с ампутацией конечностей

В. Б. Никишина, Е. А. Петраш, Н. Ю. Юнина-Пакулова, Е. С. Лукьянов

Structure of time perspective in combatants with amputated limbs

Nikishina VB, Petrash EA, Yunina-Pakulova NYu, Lukyanov ES

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

72

Оценка биосовместимости диффузионных камер в экспериментальной модели имплантации на сосудисто-нервном пучке

Е. А. Марзоль, М. В. Дворниченко, Н. С. Митрайкин, Н. А. Апаршев

Estimation of diffusion chamber biocompatibility in the experimental model of implantation in the neurovascular bundle

Marzol EA, Dvornichenko MV, Mitryaikin NS, Aparshev NA

ФОТОПОЛИМЕРИЗУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОСОВМЕСТИМЫХ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ МАТРИКСОВ

И. С. Рудик¹✉, А. В. Миронов^{1,2}, В. С. Кузнецова¹, А. В. Васильев^{1,3}¹ Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва, Россия² Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника», Москва, Россия³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

В обзоре рассмотрены фотополимеризуемые композиции на основе биосовместимых полимеров для регенеративной медицины. Проведена оценка физико-механических и биологических свойств фотополимеризуемых полимерных матрикс полиэтиленгликоля, молочной кислоты, коллагена и гиалуроновой кислоты, а также эффективности и токсичности различных фотоиницирующих добавок. Механические свойства и скорость деградации фотополимеризуемых матрикс обеспечиваются подбором пропорций метакрилированных моно-, олиго- и полимеров в его составе, тогда как их токсичность в большей степени зависит от используемых фотоиницирующих систем. Сделан вывод о необходимости поиска и развития способов получения фотополимеризуемых полимерных матрикс с применением соединений способных инициировать радикальную полимеризацию при меньшем токсическом эффекте.

Ключевые слова: биосовместимые полимеры, фотоинициаторы, матриксы**Вклад авторов:** И. С. Рудик — сбор, анализ, систематизация литературных данных, планирование и написание обзора; А. В. Миронов — сбор литературных данных, редактирование, написание заключения; В. С. Кузнецова — рецензирование; А. В. Васильев — планирование, структурирование обзора, рецензирование.✉ **Для корреспонденции:** Ирина Сергеевна Рудик
ул. Тимура Фрунзе, д. 16/1, к. 112, г. Москва, 119021, Россия; rudik_is@cniis.ru**Статья получена:** 15.07.2024 **Статья принята к печати:** 12.08.2024 **Опубликована онлайн:** 31.08.2024**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.036

PHOTOPOLYMERIZABLE MATERIALS FOR BIOCOMPATIBLE IMPLANTABLE MATRICES

Rudik IS¹✉, Mironov AV^{1,2}, Kuznetsova VS¹, Vasiliev AV^{1,3}¹ Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia² Federal Scientific Research Center "Crystallography and Photonics", Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia³ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

The review considers photopolymerizable compositions based on biocompatible polymers for regenerative medicine. Assessment of the physical-mechanical and biological properties of photopolymerizable polymeric matrices, polyethyleneglycol, lactic acid, collagen, and hyaluronic acid, as well as of the effectiveness and toxicity of various photoinitiator supplements has been performed. Mechanical properties and degradation rate of the photopolymerizable matrices are ensured by selection of proportions of methacrylated mono-, oligo-, and polymers these consist of, while their toxicity largely depends on the photoinitiator systems used. It has been concluded that it is necessary to search for and develop the methods to obtain photopolymerizable polymeric matrices by using the compounds capable of initiating radical polymerization with lower toxic effect.

Keywords: biocompatible polymers, photoinitiators, matrices**Author contribution:** Rudik IS — literature data acquisition, analysis, systematization, review planning and writing; Mironov AV — literature data acquisition, editing, writing the conclusion; Kuznetsova VS — peer review; Vasiliev AV — review planning, structurization, peer review.✉ **Correspondence should be addressed:** Irina S. Rudik
Timura Frunze, 16/1, k. 112, Moscow, 119021, Russia; rudik_is@cniis.ru**Received:** 15.07.2024 **Accepted:** 12.08.2024 **Published online:** 31.08.2024**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.036

Комплекс уникальных свойств, а именно устойчивость к влаге и биологическим средам, быстрый переход между текучим и твердым состояниями, возможность регулировки физико-механических свойств без изменения химического состава, позволяет биосовместимым фотополимеризуемым композициям становиться востребованными материалами не только в стоматологии и ортопедии, но и в регенеративной медицине и тканевой инженерии [1]. Так, с развитием аддитивных технологий биосовместимые фотополимеризуемые композиции стали широко применять в качестве материалов для стереолитографии при производстве имплантируемых изделий [2, 3]. Согласно базе данных Google Scholar, с 2020 г. опубликовано более 10 000 исследовательских работ, посвященных фотополимеризуемым полимерным матриксам для биомедицинского применения, причем их число возрастает с каждым годом в среднем на 15% (рис. 1).

Несмотря на большое число новых исследований, основным методом получения биосовместимых

фотоотверждаемых материалов по-прежнему является модификация полимеров акрилатными группами. Выбор подходящих для биомедицинского применения фотополимеризуемых систем на сегодняшний день ограничен, так как образование ионов или радикалов при иницировании процессов фотополимеризации делает значительную часть таких материалов токсичными [4, 5]. Помимо этого, живые ткани могут подвергаться токсическому действию компонентов, не полностью прореагировавших в процессе полимеризации [6, 7].

С точки зрения воздействия на живую ткань наиболее безопасным методом фотополимеризации являются передача радикала и межмолекулярная сшивка по функциональным акрилатным группам. Важен при этом выбор соответствующего инициатора или пары инициатор-соинициатор, основным требованием к которым является низкая токсичность, как в неактивной форме, так и в форме радикала. В настоящий момент на практике используют не более 10 различных биосовместимых

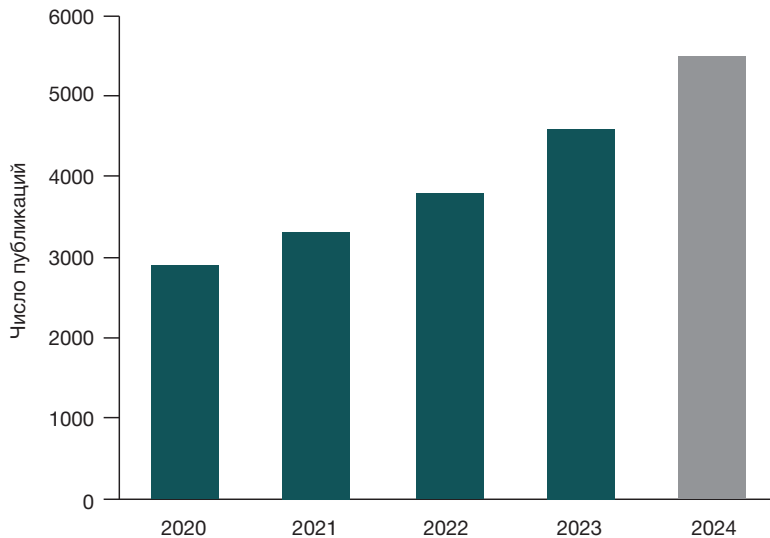


Рис. 1. Число публикаций, посвященных фотополимеризуемым композициям в области биомедицинских исследований в период с 2020 по 2024 г., по данным Google Scholar

фотоинициаторов, основные из которых — камфорхинон (СQ) и дифенил(2,4,6-триметилбензоат)фосфиноксид (ТРО) [8].

Целью настоящего обзора было систематизировать литературные данные, описывающие виды фотополимеризуемых материалов и отдельные их компоненты для медико-биологического применения.

Поиск по базам данных PubMed, Google Scholar и Eilibrary проводили по ключевым словам. Оценку числа опубликованных исследований за 2020–2024 гг. делали по запросам: «photopolymerization», «photocurable biomaterials», «photo-crosslinkable hydrogels», «tissue engineering», «degradable biomaterials», «3D-printing», «photoinitiator».

ФОТООТВЕРЖДАЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МАТРИКСОВ

Полимерные матриксы получают посредством сшивания модифицированных олигомерных или полимерных цепей, содержащих две или более активные группы. Каждая активная группа может быть химически интегрирована или в растущую полимерную цепь или в поперечную связь между двумя цепями за счет образования радикала. В результате передачи радикалов от инициаторов к полимеризуемому соединению происходит образование макрорадикалов. Дальнейшее присоединение молекул исходного вещества к растущему макрорадикалу обеспечивает увеличение молекулярной массы, а взаимодействие двух макрорадикалов приводит к остановке реакции полимеризации (рис. 2) [9]. Наличие конкурирующих механизмов позволяет контролировать надмолекулярную структуру и молекулярную массу получаемого соединения, что в свою очередь помогает контролировать его физико-механические свойства [10].

Использование фототверждаемых материалов в качестве полимерных матриксов представляет

большой интерес для решения задач медицинского материаловедения благодаря их способности к сшивке при физиологических температурах в отсутствие агрессивных химических соединений и хорошей биосовместимости [3].

По компонентному составу фототверждаемые полимерные системы можно условно разделить на синтетические и природные (биополимеры). Среди синтетических активно исследуют полимерные матриксы на основе полиэтиленгликоля, полилактида и их производных, а среди природных полимеров — коллаген и гиалуроновую кислоту.

Полиэтиленгликоль

Полиэтиленгликоль представляет собой водорастворимый и биосовместимый простой эфир, который широко применяют в области тканевой инженерии и доставке лекарственных средств [11]. Полиэтиленгликоль-ацеталь-диметакрилат был использован для приготовления биоразлагаемых полимеров, потенциально применимых для регенерации костной ткани. В качестве добавки использовали наночастицы карбоната кальция, обладающего достаточной реакционной способностью для трансформации в гидроксиапатит [12]. Полученные матриксы были имплантированы в подкожные карманы мышей на 15 и 30 суток. Гистологическое исследование показало сопоставимую умеренную тканевую реакцию в основном с участием макрофагов, что демонстрирует биосовместимость фототверждаемой полимерной системы. Для решения проблемы развития инфекций в результате протезирования была разработана специальная технология покрытия имплантатов фототверждаемым полимером на основе полиэтиленгликоля и полиаллилмеркаптана [13]. Технология демонстрирует возможность смешивания различных антибиотиков с растворами фотополимеров, что обеспечивает необходимую антимикробную совместимость.

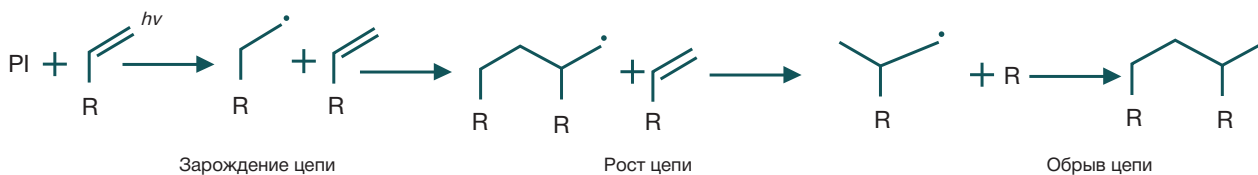


Рис. 2. Механизм свободно-радикальной реакции фотополимеризации

Таблица 1. Составы фотоотверждаемых полимерных матрицков и условия их получения

Состав композиции	Фотоинициатор	Условия фотоотверждения	Область применения	Источник литературы
Метакрилованный полиэтиленгликоль-ацеталь	фенил(2,4,6-триметилбензоил) фосфинат лития (LAP) 0,1% масс.	УФ-излучение 365 нм 30 с	Регенерация соединительных и мягких тканей	[11]
Метакрилованный полиэтиленгликоль-ацеталь	2-гидрокси-4'-(2-гидроксиэтокси)-2-метилпропиофенон 0,2% масс	УФ-излучение 365 нм 15 мин	Интъекционные заменители костной ткани	[12]
Акрилованные производные полиэтиленгликоля полиаллилмеркаптана	2,2-диметокси-2-фенилацетофенон	УФ-излучение 365 нм 20 мВт/см ² 5 мин	Антимикробное покрытие имплантатов	[13]
Акрилованный поликапролактон Диакрилат полиэтиленгликоля	TPO 3% масс	Светодиодное излучение 405 нм 30 с	3D-печать для индивидуальной тканевой инженерии	[14]
Акрилованные производные поли-D,L-молочной кислоты полиэтиленгликоля	LAP	УФ-излучение 395 нм	Фиксация имплантатов	[15]
Метакрилованный коллаген тип I Генипин	VA-086 1% масс.	УФ-излучение 365 нм 17 мВт/см ² 1 мин	3D-печать тканевых каркасов	[17]
Метакрилованный коллаген тип I	LAP	УФ-излучение 365 нм 5 мВт/см ² 30 мин	Восстановление кровеносной системы	[18]
Хитозан-азид Кератин	–	УФ-излучение 365 нм 100 мВт/см ² 15 мин	Регенерация соединительных и мягких тканей	[20]
Метакрилованный хитозан Окисленная гиалуроновая кислота	LAP 0,1% масс.	УФ-излучение 405 нм 10 мВт/см ² 120 с	Доставка лекарственных средств	[21]
Метакрилованный хитозан Метакрилованный желатин Диакрилат полиэтиленгликоля	2-гидрокси-2-метилпропиофенон 0,5% масс.	УФ-излучение 320 нм 180 мВт/см ² 120 с	Доставка лекарственных средств	[22]
Метакрилованная гиалуроновая кислота Метакрилованный желатин	LAP 0,1% масс.	УФ-излучение 405 нм 25 мВт/см ² 60 с	Тканевая инженерия	[23]
Оксированная гиалуроновая кислота, Дималеимид полиэтиленгликоля	LAP	УФ-излучение 365 нм 30 мВт/см ²	Интъекционные заменители хрящевой ткани	[24]
Гиалуроновая кислота Метакрилованный хитозан	LAP 0,01–0,05% масс.	УФ-излучение 385 нм 19 мВт/см ²	Внеклеточный матрикс для регенерации тканей или доставки лекарственных средств	[25]

Полимеры на основе сложных полиэфигов

Такие полимеры широко используют в медицине в качестве хирургических нитей, ортопедических имплантатов, а также для изготовления персонализированных каркасов в тканевой инженерии. Индивидуальные шаблоны тканей, напечатанные на 3D-принтере поликапролактон-полиуретановыми фотополимерами, характеризуются высокими показателями цитосовместимости и выживаемости мышечных фибробластов (свыше 85%), и быстрой биодegradацией — от 2 до 6 ч [14]. Интересен пример получения полимерных матрицков, используемых для восстановления хрящевой ткани, на основе полилактида и полиэтиленгликоля. Так, был разработан сополимер состава поли-D,L-молочная кислота — полиэтиленгликоль — поли-D,L-молочная кислота [15]. Испытания *in vivo* на культуре хондроцитов показали, что в условиях фотополимеризации состав проявлял способность к образованию высокопрочных связей с хрящевыми тканями хозяина, не влияя на жизнеспособность клеток и фенотип ткани.

Коллаген

Это один из основных биополимеров, применяемых в тканевой инженерии и регенеративной медицине, поскольку в организме он составляет около 33% всех белков и формирует кожу, сухожилия, хрящевую и

костную ткань, стенки кровеносных сосудов [16]. Один из недостатков коллагена — его низкая механическая прочность, однако за счет двойного сшивания могут быть получены полимерные конструкции с улучшенными свойствами. Результаты исследования показали, что двойное сшивание положительно влияет на показатели модуля упругости и степени деградации, увеличивая их в 2 раза по сравнению с несшитыми гидрогелями [17]. Разрабатываемый для сосудистой тканевой инженерии модифицированный метакриламидом коллагеновый гидрогель в сравнении с модифицированным желатином характеризовался высокой степенью полимеризации (83–88% против 74–84%), настраиваемыми механическими свойствами (модуль упругости — 4,8–9,4 кПа против 3,9–8,4 кПа) и более высокой цитосовместимостью [18].

Хитозан

Хитозан представляет собой линейный аминополисахарид, состоящий из звеньев глюкозамина со свободными аминогруппами, которые обеспечивают высокую реакционную способность и растворимость. Среди остальных биополимеров отличается хорошей клеточной адгезией [19]. Процесс химической модификации хитозана фотополимеризуемыми группами 4-азидобензойной кислоты подробно описан в работе [20]. Цель исследования состояла в получении фотоотверждаемой полимерной мембраны на основе хитозан-азидов и кератина. Примечательно,

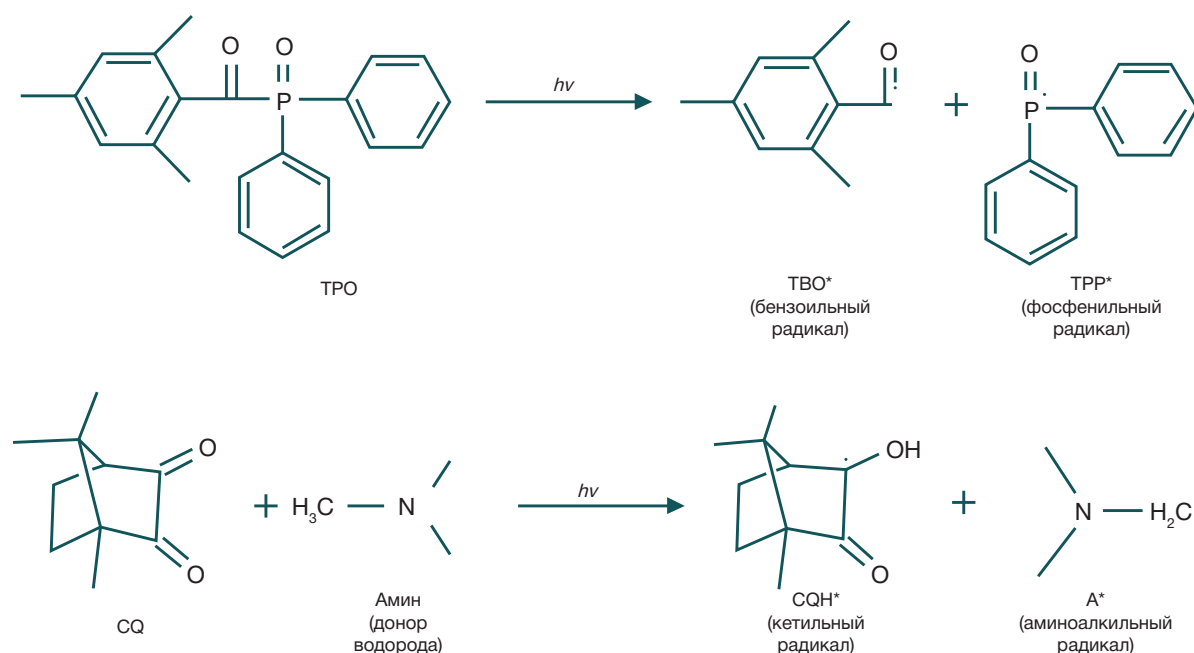


Рис. 3. Образование свободных радикалов фотоинициаторами типа I и типа II под действием излучения на примере TPO и CQ

что фотополимеризация кератин-хитозановых мембран происходила без добавления фотоинициатора. Результат испытаний *in vitro* показал, что увеличение концентрации кератина положительно влияет на показатели клеточной выживаемости и адгезии. В похожем исследовании хитозан, модифицированный метакриловым ангидридом, использовали для получения новой фотополимеризуемой композиции, отличающейся скоростью полимеризации и высокой инъекционной способностью [21]. Сообщалось, что выживаемость костных мезенхимальных стволовых клеток составляла более 92%. Описан способ получения фотополимеризуемого гидрогеля, на основе хитозана и желатина, содержащего частицы альбумина [22]. Инкубационные испытания в модельных физиологических жидкостях показали стабильность и отсутствие деградации гидрогеля. Жизнеспособность мышечных фибробластов составила 92,73%.

Гиалуроновая кислота

Этот природный полисахарид в основном содержится во внеклеточном матриксе тканей животных и характеризуется высокой гидрофильностью и биоразлагаемостью [23]. Описана возможность получения фотоотверждаемых матриксов на основе гиалуроновой кислоты и полиэтиленгликоля посредством реакции двойного сшивания [24]. Показатели выживаемости клеток и прочностные характеристики полученного полимера позволили предположить перспективность его использования для восстановления соединительных тканей. Особый интерес представляет комбинация хитозана и гиалуроновой кислоты. Изучены степень и скорость полимеризации, механические и реологические свойства фотосшиваемых полимеров на основе метакрилизованного хитозана и гиалуроновой кислоты в зависимости от их соотношения [25]. При содержании фотоинициатора 0,04% масс. степень полимеризации превысила 90% не более чем за 3 с. Все полимерные составы подвергались полной деградации в течение первых 20–24 дней в гидролитической среде, и 5–10 дней в ферментативной среде, что делает перспективным

их применение для пролонгированной доставки лекарственных средств или тканевой инженерии. На культуре эмбриональных фибробластов было показано снижение жизнеспособности клеток при увеличении концентраций фотоинициатора и гиалуроновой кислоты в исходной смеси. Для всех исследованных составов и концентраций выживаемость клеток находилась в диапазоне 85–96%.

Составы фотоотверждаемых полимерных матриксов и условия их получения представлены в табл. 1.

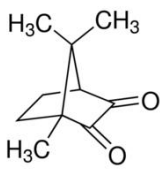
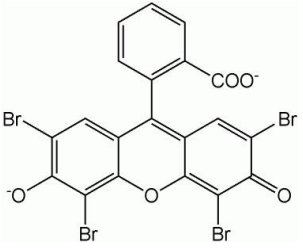
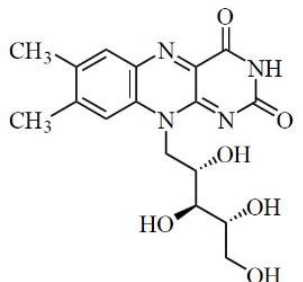
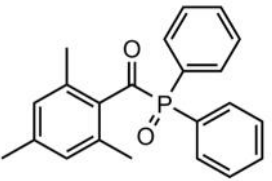
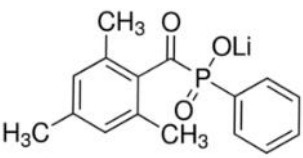
Приведенные данные указывают на то, что основным подходом в получении фотополимеризуемых композиций биомедицинского назначения является синтез метакрилованных производных биосовместимых полимеров.

ФОТОИНИЦИАТОРЫ

Фотоинициаторы необходимы для инициирования свободно-радикальной реакции полимеризации. Их разделяют на два типа. Фотоинициаторы типа I после светового возбуждения подвергаются собственному расщеплению с образованием свободных радикалов. Фотоинициаторы типа II производят радикалы путем отрыва водорода или переноса электронов/протонов от соинициатора (рис. 3) [26].

Одним из первых и до сих пор наиболее часто используемых фотоинициаторов является камфорхинон. Он относится к фотоинициаторам типа II, характеризующегося меньшей токсичностью по сравнению с типом I. Однако меньшая химическая активность CQ требует участия третичного амина в качестве соинициатора реакции фотополимеризации. Скорость полимеризации является основным ограничивающим фактором использования камфорхинона [7]. Чтобы повысить устойчивость к солнечному свету фотоотверждаемых материалов на основе камфорхинона, были предложены специальные добавки, производные пиррола, которые конкурентно поглощают инициирующее излучение, что предотвращает нежелательное образование активной формы инициатора [27]. Особое внимание также уделяется

Таблица 2. Эффективность и токсичность фотоинициаторов

Наименование фотоинициатора	Тип	Структурная формула	Эффективность полимеризации*	Жизнеспособность клеток*	Источник литературы
Камфорхинон	II		★★★★☆☆	★★★★☆☆	[7, 28]
Эозин Y	II		★★★★★★	★★★★★★	[30]
Рибофлавин	II		★★★★☆☆	★★★★☆☆	[31, 32]
TPO	I		★★★★☆☆	★★★★☆☆	[26, 33]
LAP	I		★★★★☆☆	★★★★★★	[34, 35]

Примечание: *★★★★ — не более 70%; ★★★★★ — от 70% до 90%; ★★★★★★ — более 90%.

цитотоксичности камфорхинона. На примере линий фибробластов установлено, что увеличение концентрации камфорхинона с 50 мг/л до 100 мг/л в фотоиницирующей системе приводит к снижению жизнеспособности клеток с 80% до 60% [28]. Для обеспечения эффективной полимеризации при биологически приемлемых концентрациях камфорхинона в фотополимеризуемых материалах предложено использование в качестве соинициаторов соединений, повышающих содержание активных групп — тетраметакриловых и тетраакриловых мономеров [29].

Камфорхинон плохо растворим в воде, что в значительной степени ограничивает его применение. В качестве альтернативных водорастворимых фотоинициаторов, обеспечивающих сравнимые характеристики процесса фотосшивания, в ряде работ были предложены рибофлавин и эозин. Эозин нетоксичен, даже при его содержании в фотополимеризуемом материале 69 мг/л жизнеспособность клеток превышает

96%, а при концентрации рибофлавина 188 мг/л уровень выживаемости был выше 90% [30–32].

К фотоинициаторам типа I относят соединения ароматических кетонов и производных фосфина и фосфиноксида (табл. 2). Одним из наиболее изученных и используемых на практике фотоинициаторов является TPO. В работе, посвященной сравнению эффективности фотоинициаторов типа I и типа II, было показано, что степень полимеризации мономера при использовании TPO на 13% выше, чем при использовании системы камфорхинон–амин. Более того, доза излучения, необходимая для полимеризации композиции с CQ, в 4 раза превышала необходимую дозу для той же композиции с TPO [33]. Однако, по результатам изучения цитотоксичности TPO, жизнеспособность различных линий клеток не превышает 75% при концентрации фотоинициатора 17,4 мг/л [26]. Существенно меньшую токсичность продемонстрировал растворимый в воде модифицированный ионами лития фотоинициатор LAP, жизнеспособность клеток

собираемых трубочек почки мыши составила 95%. Таким образом, несмотря на то что литий — нефротоксикант, модифицированный им LAP не обладал выраженным цитотоксическим эффектом [34].

Анализ литературных данных указывает, что фотоинициатор существенно влияет на цитотоксичность получаемого материала. Поэтому выбор фотоинициатора является одной из определяющих задач при формировании состава фотополимеризуемой композиции. С точки зрения биосовместимости предпочтительно использование фотоинициаторов типа II. Оценка эффективности и токсичности рассмотренных фотоинициаторов представлена в табл. 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рост исследований по фотополимеризуемым композициям, перспективным в тканевой инженерии, свидетельствует о возрастающей потребности в материалах такого рода. Подходы к получению новых фотополимеризуемых материалов консервативны, и сохраняется тенденция преимущественного использования метода их получения путем метакрилирования различных биосовместимых олиго- и полимеров. Таким образом, основными направлениями разработки материалов оказываются

подбор и комбинирование пропорций метакрилированных моно-, олиго- и полимеров для получения требуемых физико-механических свойств материала, при сохранении его биосовместимости.

В роли фотоиницирующих добавок для процесса радикальной полимеризации наиболее используемыми в течение последних лет остаются водонерастворимый камфорхион и дифенил(2,4,6-триметилбензоат)фосфиноксид, проявляющие заметную цитотоксичность. В настоящее время найдены и исследуются соединения, сохраняющие способность эффективно инициировать радикальную полимеризацию, при относительно меньшем токсическом эффекте, например, эндогенный фотоинициатор рибофлавин, синтетические эозин и фенил(2,4,6-триметилбензоил)фосфинат лития.

Исследования фотополимеризуемых композиций биомедицинского назначения, предлагаемые в современных научных публикациях, в подавляющем большинстве случаев не носят комплексного характера, ограниченно описывают свойства получаемого материала и проводятся на небольшом числе типов клеток, как правило, на одном единственном. Поэтому актуальны исследования, направленные на разработку, изучение физико-механических свойств, биологическое и клиническое испытание такого рода материалов.

Литература

- Shi H, Li Y, Xu K, Yin J. Advantages of photo-curable collagen-based cell-laden bioinks compared to methacrylated gelatin (GelMA) in digital light processing (DLP) and extrusion bioprinting. *Materials Today Bio*. 2023; 23: 100799. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100799>.
- Zhang Q, Zhou J, Zhi P, Liu L, Liu C, Fang A, et al. 3D printing method for bone tissue engineering scaffold. *Medicine in Novel Technology and Devices*. 2023; 17:100205. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medntd.2022.100205>.
- Mohammadpour Z, Kharaziha M, Zarabi A. 3D-printing of silk nanofibrils reinforced alginate for soft tissue engineering. *Pharmaceutics*. 2023; 15: 763. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030763>.
- Li C, Zheng Z, Jia J, Zhang W, Qin L, Zhang Wei, et al. Preparation and characterization of photocurable composite extracellular matrix-methacrylated hyaluronic acid bioink. *J Mater Chem B*. 2022; 10: 4242–53. Available from: <https://doi.org/10.1039/D2TB00548D>.
- Ceylan G, Emik S, Yalcinyuva T, Sunbuloglu E, Bozdogan E, Unalan F. The effects of cross-linking agents on the mechanical properties of poly (methyl methacrylate) resin. *Polymers*. 2023; 15: 2387. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym15102387>.
- Voet V, Strating T, Schnelting G, Dijkstra P, Tietema M, Xu J, et al. Biobased acrylate photocurable resin formulation for stereolithography 3D printing. *ACS Omega*. 2018; 3: 1403–8. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01648>.
- Tapety C, Carneiro Y, Chagas Y, Souza L, de O Souza N, Valadas L. Degree of conversion and mechanical properties of a commercial composite with an advanced polymerization system. *Acta Odontol Latinoam*. 2023; 36 (2): 112–9. Available from: <https://doi.org/10.54589/aol.36/2/112>.
- Kowalska A, Sokolowski J, Gozdek T, Krasowski M, Kopacz K, Bociong K. The influence of various photoinitiators on the properties of commercial dental composites. *Polymers*. 2021; 13: 3972. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym13223972>.
- Fouassier JP, Lalevee J. Photoinitiators: Structures, reactivity and applications in polymerization. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2021. Available from: <https://doi.org/10.1002/9783527821297>.
- Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. *Phillips' science of dental materials*. 12th ed. USA: Elsevier Inc., 2013.
- Shen C, Li Y, Meng Q. Adhesive polyethylene glycol-based hydrogel patch for tissue repair. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2022; 218: 112751. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112751>.
- Unger RE, Stojanovic S, Besch L, Alkildani S, Schröder R, Jung O, et al. In vivo biocompatibility investigation of an injectable calcium carbonate (vaterite) as a bone substitute including compositional analysis via SEM-EDX technology. *Int J Mol Sci*. 2022; 23: 1196. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms23031196>.
- Xi W, Hegde V, Zoller SD, Park HY, Hart CM, Kondo T, et al. Point-of-care antimicrobial coating protects orthopaedic implants from bacterial challenge. *Nature Communications*. 2021; 12: 5473. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25383-z>.
- Chen H, Lee SY, Lin YM. Synthesis and formulation of PCL-based urethane acrylates for DLP 3D printers. *Polymers*. 2020; 12: 1500. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym12071500>.
- Kuang B, Yang Y, Lin H. Infiltration and in-tissue polymerization of photocross-linked hydrogel for effective fixation of implants into cartilage-an in vitro study. *ACS Omega*. 2019; 4: 18540–4. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02270>.
- Hulmes D, P. Fratzi P, editors. *Collagen: structure and mechanics*. 2th ed. Boston: Springer, 2008; 15–47.
- Kajave NS, Schmitt T, Nguyen TU, Kishore V. Dual crosslinking strategy to generate mechanically viable cellladen printable constructs using methacrylated collagen bioinks. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 107: 110290. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110290>.
- Pien N, Pezzoli D, Van Hoorick J, Copes F, Vansteenland M, Albu M, et al. Development of photo-crosslinkable collagen hydrogel building blocks for vascular tissue engineering applications: A superior alternative to methacrylated gelatin. *Materials Science Engineering C*. 2021; 130: 112460. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112460>.
- Valentino C, Viganì B, Zucca G, Ruggeri M, Boselli C, Cornaglia AI, et al. Formulation development of collagen/chitosan-based porous scaffolds for skin wounds repair and regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023; 242: 125000. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125000>.
- Lin CW, Chen YK, Lu M, Lou KL, Yu J. Photo-crosslinked keratin/chitosan membranes as potential wound dressing materials. *Polymers*. 2018; 10:

987. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym10090987>.
21. Han C, Zhang H, Wu Y, He X, Chen X. Dual-crosslinked hyaluronan hydrogels with rapid gelation and high injectability for stem cell protection. *Scientific Reports*. 2020; 10: 14997. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71462-4>.
 22. Bankosz, M. Development of chitosan/gelatin-based hydrogels incorporated with albumin particles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23: 14136. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms232214136>.
 23. Xiao X, Huang Z, Jiang X, Yang Y, Yang L, Yang S, et al. Facile synthesis of norbornene-hyaluronic acid to form hydrogel via thiol-norbornene reaction for biomedical application. *Polymer*. 2022; 245: 124696. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2022.124696>.
 24. Wang G, Cao X, Dong H, Zeng L, Yu C, Chen X. A hyaluronic acid based injectable hydrogel formed via photo-crosslinking reaction and thermal-induced Diels-Alder reaction for cartilage tissue engineering. *Polymers*. 2018; 10: 949. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym10090949>.
 25. Maiz-Fernandez S, Perez-Alvarez L, Silvan U, Vilas-Vilela JL, Lancers-Mendez S. Photocrosslinkable and self-healable hydrogels of chitosan and hyaluronic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 216: 291–302. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.004>.
 26. Zeng B, Cai Z, Lalevee J, Yang Q, Lai H, Xiao P, et al. Cytotoxic and cytocompatible comparison among seven photoinitiators-triggered polymers in different tissue cells. *Toxicology in Vitro*. 2021; 72: 105103. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105103>.
 27. Li J, Wu H, Chen Y, Cao K, Li Y, Ding Q, et al. Improvement in the storage stability of camphorquinone-based photocurable materials in sunlight via Z-E photoisomerization of photomask agent. *Progress Organic Coatings*. 2023; 178: 107455. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2023.107455>.
 28. Cuevas-Suarez CE, Da Silva AF, Dallegrave A, Petzhold CL, De Pereira CM, Oliveira Da Rosa WL, et al. The role of camphorquinone in the cytotoxicity of universal dental adhesives. *International Journal of Adhesion Adhesives*. 2023; 127: 103519. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2023.103519>.
 29. Perez-Mondragon AA, Cuevas-Suarez CE, Gonzalez-Lopez JA, Trejo-Carbajal N, Herrera-Gonzalez AM. Evaluation of new coinitiators of camphorquinone useful in the radical photopolymerization of dental monomers. *Journal Photochemistry Photobiology, A: Chemistry*. 2020; 403: 112844. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112844>.
 30. Petta D, Grijpma D.W, Alini M, Eglin D, D'Este M. Three-dimensional printing of a tyramine hyaluronan derivative with double gelation mechanism for independent tuning of shear thinning and postprinting curing. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018; 4: 3088–98. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.8b00416>.
 31. Kang Y, Kim JH, Kim SY, Koh W-G, Lee HJ. Blue light-activated riboflavin phosphate promotes collagen crosslinking to modify the properties of connective tissues. *Materials*. 2021; 14: 5788. Available from: <https://doi.org/10.3390/ma14195788>.
 32. Goto R, Nishida E, Kobayashi S, Aino M, Ohno T, Iwamura Y, et al. Gelatin methacryloyl-riboflavin (GelMA-RF) hydrogels for bone regeneration. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 1635. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22041635>.
 33. Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J, Lizymol PP, Ariya S, Krishnan KV. Study of visible light activated polymerization in BisGMA-TEGDMA monomers with Type 1 and Type 2 photoinitiators using Raman spectroscopy. *Dental Materials*. 2017; 33: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22041635>.
 34. Nguyen AK, Goering PL, Elespuru RK, Das SS, Narayan RJ. The photoinitiator lithium phenyl (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphinate with exposure to 405 nm light is cytotoxic to mammalian cells but not mutagenic in bacterial reverse mutation assays. *Polymers*. 2020; 12: 1489. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym12071489>.
 35. Xu H, Casillas J, Krishnamoorthy S, Xu C. Effects of Irgacure 2959 and lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate on cell viability, physical properties, and microstructure in 3D bioprinting of vascular-like constructs. *Biomed Mater*. 2020; 15: 055021. Available from: <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ab954e>.

References

1. Shi H, Li Y, Xu K, Yin J. Advantages of photo-curable collagen-based cell-laden bioinks compared to methacrylated gelatin (GelMA) in digital light processing (DLP) and extrusion bioprinting. *Materials Today Bio*. 2023; 23: 100799. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100799>.
2. Zhang Q, Zhou J, Zhi P, Liu L, Liu C, Fang A, et al. 3D printing method for bone tissue engineering scaffold. *Medicine in Novel Technology and Devices*. 2023; 17:100205. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medntd.2022.100205>.
3. Mohammadpour Z, Kharaziha M, Zarrabi A. 3D-printing of silk nanofibrils reinforced alginate for soft tissue engineering. *Pharmaceutics*. 2023; 15: 763. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030763>.
4. Li C, Zheng Z, Jia J, Zhang W, Qin L, Zhang Wei, et al. Preparation and characterization of photocurable composite extracellular matrix-methacrylated hyaluronic acid bioink. *J Mater Chem B*. 2022; 10: 4242–53. Available from: <https://doi.org/10.1039/D2TB00548D>.
5. Ceylan G, Emik S, Yalcinyuva T, Sunbuloglu E, Bozdog E, Unalan F. The effects of cross-linking agents on the mechanical properties of poly (methyl methacrylate) resin. *Polymers*. 2023; 15: 2387. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym15102387>.
6. Voet V, Strating T, Schnelting G, Dijkstra P, Tietema M, Xu J, et al. Biobased acrylate photocurable resin formulation for stereolithography 3D printing. *ACS Omega*. 2018; 3: 1403–8. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01648>.
7. Tapety C, Carneiro Y, Chagas Y, Souza L, de O Souza N, Valadas L. Degree of conversion and mechanical properties of a commercial composite with an advanced polymerization system. *Acta Odontol Latinoam*. 2023; 36 (2): 112–9. Available from: <https://doi.org/10.54589/aol.36/2/112>.
8. Kowalska A, Sokolowski J, Gozdek T, Krasowski M, Kopacz K, Bociog K. The influence of various photoinitiators on the properties of commercial dental composites. *Polymers*. 2021; 13: 3972. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym13223972>.
9. Fouassier JP, Lalevee J. Photoinitiators: Structures, reactivity and applications in polymerization. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2021. Available from: <https://doi.org/10.1002/9783527821297>.
10. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Phillips' science of dental materials. 12th ed. USA: Elsevier Inc., 2013.
11. Shen C, Li Y, Meng Q. Adhesive polyethylene glycol-based hydrogel patch for tissue repair. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2022; 218: 112751. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112751>.
12. Unger RE, Stojanovic S, Besch L, Alkildani S, Schröder R, Jung O, et al. In vivo biocompatibility investigation of an injectable calcium carbonate (vaterite) as a bone substitute including compositional analysis via SEM-EDX technology. *Int J Mol Sci*. 2022; 23: 1196. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms23031196>.
13. Xi W, Hegde V, Zoller SD, Park HY, Hart CM, Kondo T, et al. Point-of-care antimicrobial coating protects orthopaedic implants from bacterial challenge. *Nature Communications*. 2021; 12: 5473. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25383-z>.
14. Chen H, Lee SY, Lin YM. Synthesis and formulation of PCL-based urethane acrylates for DLP 3D printers. *Polymers*. 2020; 12: 1500. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym12071500>.
15. Kuang B, Yang Y, Lin H. Infiltration and in-tissue polymerization of photocross-linked hydrogel for effective fixation of implants into cartilage-an in vitro study. *ACS Omega*. 2019; 4: 18540–4. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02270>.
16. Hulmes D, P. Fratzl P, editors. Collagen: structure and mechanics. 2th ed. Boston: Springer; 2008: 15–47.
17. Kajave NS, Schmitt T, NguyenTU, Kishore V. Dual crosslinking strategy to generate mechanically viable cellladen printable constructs using methacrylated collagen bioinks. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 107: 110290. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110290>.
18. Plen N, Pezzoli D, Van Hoorick J, Copes F, Vansteenland M, Albu M,

- et al. Development of photo-crosslinkable collagen hydrogel building blocks for vascular tissue engineering applications: A superior alternative to methacrylated gelatin. *Materials Science Engineering C*. 2021; 130: 112460. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112460>.
19. Valentino C, Viganì B, Zucca G, Ruggeri M, Boselli C, Cornaglia AI, et al. Formulation development of collagen/chitosan-based porous scaffolds for skin wounds repair and regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023; 242: 125000. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125000>.
 20. Lin CW, Chen YK, Lu M, Lou KL, Yu J. Photo-crosslinked keratin/chitosan membranes as potential wound dressing materials. *Polymers*. 2018; 10: 987. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym10090987>.
 21. Han C, Zhang H, Wu Y, He X, Chen X. Dual-crosslinked hyaluronan hydrogels with rapid gelation and high injectability for stem cell protection. *Scientific Reports*. 2020; 10: 14997. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71462-4>.
 22. Bankosz, M. Development of chitosan/gelatin-based hydrogels incorporated with albumin particles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23: 14136. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms232214136>.
 23. Xiao X, Huang Z, Jiang X, Yang Y, Yang L, Yang S, et al. Facile synthesis of norbornene-hyaluronic acid to form hydrogel via thiol-norbornene reaction for biomedical application. *Polymer*. 2022; 245: 124696. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2022.124696>.
 24. Wang G, Cao X, Dong H, Zeng L, Yu C, Chen X. A hyaluronic acid based injectable hydrogel formed via photo-crosslinking reaction and thermal-induced Diels-Alder reaction for cartilage tissue engineering. *Polymers*. 2018; 10: 949. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym10090949>.
 25. Maiz-Fernandez S, Perez-Alvarez L, Silvan U, Vilas-Vilela JL, Lanceros-Mendez S. Photocrosslinkable and self-healable hydrogels of chitosan and hyaluronic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022; 216: 291–302. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.004>.
 26. Zeng B, Cai Z, Lalevee J, Yang Q, Lai H, Xiao P, et al. Cytotoxic and cytocompatible comparison among seven photoinitiators-triggered polymers in different tissue cells. *Toxicology in Vitro*. 2021; 72: 105103. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105103>.
 27. Li J, Wu H, Chen Y, Cao K, Li Y, Ding Q, et al. Improvement in the storage stability of camphorquinone-based photocurable materials in sunlight via Z-E photoisomerization of photomask agent. *Progress Organic Coatings*. 2023; 178: 107455. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2023.107455>.
 28. Cuevas-Suarez CE, Da Silva AF, Dallegre A, Petzhold CL, De Pereira CM, Oliveira Da Rosa WL, et al. The role of camphorquinone in the cytotoxicity of universal dental adhesives. *International Journal of Adhesion Adhesives*. 2023; 127: 103519. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2023.103519>.
 29. Perez-Mondragon AA, Cuevas-Suarez CE, Gonzalez-Lopez JA, Trejo-Carbajal N, Herrera-Gonzalez AM. Evaluation of new coinitiators of camphorquinone useful in the radical photopolymerization of dental monomers. *Journal Photochemistry Photobiology, A: Chemistry*. 2020; 403: 112844. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112844>.
 30. Petta D, Grijpma D.W, Alini M, Eglin D, D'Este M. Three-dimensional printing of a tyramine hyaluronan derivative with double gelation mechanism for independent tuning of shear thinning and postprinting curing. *ACS Biomater Sci Eng*. 2018; 4: 3088–98. Available from: <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00416>.
 31. Kang Y, Kim JH, Kim SY, Koh W-G, Lee HJ. Blue light-activated riboflavin phosphate promotes collagen crosslinking to modify the properties of connective tissues. *Materials*. 2021; 14: 5788. Available from: <https://doi.org/10.3390/ma14195788>.
 32. Goto R, Nishida E, Kobayashi S, Aino M, Ohno T, Iwamura Y, et al. Gelatin methacryloyl-riboflavin (GelMA-RF) hydrogels for bone regeneration. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 1635. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22041635>.
 33. Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J, Lizymol PP, Ariya S, Krishnan KV. Study of visible light activated polymerization in BisGMA-TEGDMA monomers with Type 1 and Type 2 photoinitiators using Raman spectroscopy. *Dental Materials*. 2017; 33: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22041635>.
 34. Nguyen AK, Goering PL, Elespuru RK, Das SS, Narayan RJ. The photoinitiator lithium phenyl (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphinate with exposure to 405 nm light is cytotoxic to mammalian cells but not mutagenic in bacterial reverse mutation assays. *Polymers*. 2020; 12: 1489. Available from: <https://doi.org/10.3390/polym12071489>.
 35. Xu H, Casillas J, Krishnamoorthy S, Xu C. Effects of Irgacure 2959 and lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate on cell viability, physical properties, and microstructure in 3D bioprinting of vascular-like constructs. *Biomed Mater*. 2020; 15: 055021. Available from: <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ab954e>.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИНТОВАННЫХ ВРЕМЕННЫХ ОРТОПЕДИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЭКСПЛУАТАЦИИ

С. В. Просскокова, А. М. Еникеев [✉], А. Е. Пирогов, Р. М. Кулиев

Институт стоматологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Для осуществления качественного лечения в ортопедической стоматологии применяют несъемные временные конструкции. Существует условное разделение подходов в протезировании на традиционный и цифровой. Эти подходы подразумевают использование как общих материалов для протезирования, так и уникальных вариантов. При традиционном подходе качество исполнения ортопедического стоматологического лечения зависит от мануального навыка исполнителя (зубного техника). В отличие от традиционного подхода, цифровой использует широкий набор библиотек с готовыми шаблонами под различные варианты эстетических и функциональных характеристик зубочелюстной системы. Данный факт позволяет лечащему врачу обходиться без посредника для изготовления зуботехнических протезов, если позволяет материально-техническая база. Использование 3D-печати в стоматологии появилось относительно недавно. С нашей точки зрения, активное применение фотополимерных 3D-смол может стать перспективным вариантом по экономическим и прочностным характеристикам.

Ключевые слова: 3D-печать, фотополимеры, цифровая стоматология, временное протезирование

Вклад авторов: С. В. Просскокова — руководство проектом, редактирование рукописи; А. М. Еникеев — поиск и анализ литературы, написание рукописи; А. Е. Пирогов, Р. М. Кулиев — редактирование рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Амир Маратович Еникеев
ул. Островитянова, д. 1, с. 9, г. Москва, 117997, Россия; amir.stomat.art@gmail.com

Статья получена: 16.07.2024 **Статья принята к печати:** 03.08.2024 **Опубликована онлайн:** 30.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.037

PROSPECTS FOR THE USE OF LONG-LIVING PRINTED TEMPORARY ORTHOPEDIC STRUCTURES

Proskokova SV, Enikeev AM [✉], Pirogov AE, Kuliev RM

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The non-removable temporary structures are used in orthopedic dentistry to provide high-quality treatment. The approaches in prosthetics are conditionally divided into conventional and digital. These approaches imply the use of both common materials for prosthetics and unique options. When the conventional approach is used, the quality of orthopedic dental treatment depends on the manual skill of the provider (dental technician). Unlike the conventional approach, the digital one uses a wide range of libraries with ready-made templates for various options for the dentoalveolar system aesthetic and functional characteristics. This fact allows the attending physician to do without any intermediary for the manufacture of dental prostheses, if the material and technical resources permit. The use of 3D printing in dentistry has only recently begun. From our point of view, the active use of photopolymer 3D resins can become a promising option in terms of economic and strength characteristics.

Keywords: 3D printing, photopolymers, digital dentistry, temporary prosthetics

Author contribution: Proskokova SV — project management, manuscript editing; Enikeev AM — literature search and analysis, manuscript writing; Pirogov AE, Kuliev RM — manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Amir M. Enikeev
Ostrovityanova, 1, str. 9, Moscow, 117997, Russia; amir.stomat.art@gmail.com

Received: 16.07.2024 **Accepted:** 03.08.2024 **Published online:** 30.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.037

Актуальной проблемой ортопедической стоматологии является лечение пациентов с частичной потерей зубов [1, 2]. Использование временных несъемных конструкций для протезирования показало себя не только как важный, но и как безальтернативный этап эффективного и качественного лечения. В период от начала препарирования зубов до постоянной фиксации несъемных конструкций необходимо изготовление и применение временных протезов, обладающих высокой механической прочностью и защищающих препарированные зубы от бактериальной инфекции и различных видов раздражителей: температурных и химических. Временные протезы обеспечивают безопасность пульпы, защиту краевого пародонта, предсказуемое формирование маргинальной десны, отсутствие отрицательного влияния на элементы височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) и жевательной мускулатуры. Кроме того, временные конструкции помогают сохранить или воссоздать утраченную окклюзию и эстетику. На данный момент в арсенал стоматологов-ортопедов входит большое количество материалов, используемых для временных конструкций.

Цель данного исследования — представить основные методики временного протезирования и преимущества конструкций, изготовленных путем 3D-печати.

Поиск научных публикаций по рассматриваемой теме проведен в каталоге научных электронных библиотек (<https://www.elibrary.ru>, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) за 2017–2024 гг.

При поисковом словосочетании «3D-печать» с фильтром по стоматологии по данным библиотеки Elibrary найдено 205 результатов (195 из которых за 2017–2024 гг.), при поисковом сочетании «временные коронки» — 310 результатов (150 из которых за 2017–2024 гг.), при поисковом сочетании «3d printed crowns» в Pubmed — 389 результатов (362 из которых за 2017–2024 г.), при поисковом сочетании «Temporary crowns» — 1716 результатов (344 из которых за 2017–2024 г.) (рис. 1).

При помощи ручной сортировки были отобраны 153 публикации.

Проведя расширенный поиск по подготовленной подборке, удалось получить следующую информацию по типу публикаций: диссертаций — 2 (1,3%); книг — 15 (9,8%);

материалов конференций — 29 (18,9%); патентов — 11 (7,1%) (рис. 2).

Традиционный подход

Традиционный подход подразумевает использование акриловых пластмасс и композитов различных типов полимеризации.

Акриловые пластмассы с основой в виде метилметакрилата чаще применяют при лабораторном изготовлении временных конструкций. Коронки и мостовидные протезы из данного типа пластмасс характеризуются высокой прочностью и стабильностью цвета, а также могут применяться для длительного периода восстановления.

Этилметакрилат применяют для временного протезирования с непродолжительной экспозицией в полости рта. Преимущество этого материала заключается в меньшем выделении тепла и сниженном проценте усадки.

Большой популярностью пользуются материалы для временного протезирования на основе бис-акрилата. Это двухкомпонентный материал, основанный на многофункциональных акриловых эфирах, производных метилметакрилата. Материалы на основе бис-акрилата выпускают в основном в виде картриджей для диспенсерных систем замешивания 4 : 1 или 1 : 1, что позволяет быстро и легко произвести временные конструкции при наличии силиконового ключа. Недостаток таких материалов — снижение прочностных характеристик и необходимость изготовления силиконового ключа.

Композитные материалы при холодном типе полимеризации так же производятся в виде картриджей для диспенсерных систем замешивания 4 : 1 или в виде шприца как текучие варианты пломбировочных композитов. Данные материалы характеризуются положительными свойствами современных стоматологических материалов: легко вводятся в полость благодаря своей консистенции [3].

Цифровой подход

Если говорить о цифровом подходе, одним из вариантов для временного протезирования являются фрезерованные конструкции с применением CAD/CAM-технологии.

CAD (Computer Aided Design) — это компьютерный дизайн, а именно создание виртуальной конструкции. CAM (Computer Aided Manufacturing) — производство под управлением компьютера. CAD/CAM является современной технологией производства каркасов или полноанатомических зубных протезов с помощью компьютерного моделирования и фрезерования на станках с числовым программным управлением (ЧПУ).

Основным материалом для фрезерования временных конструкций является пластмасса полиметилметакрилат (PMMA). PMMA используют как для краткосрочных реставраций, так и для конструкций с длительным сроком эксплуатации. Данный материал гибок и весьма прочен. Недостатком является затрудненное получение достаточной силы адгезии с отпрепарированной культей зуба.

Следующий этап развития цифрового подхода во временном протезировании — появление технологии 3D-печати. На данный момент она позволяет изготовить полные съемные протезы, коронки, супраструктуры для имплантатов, а также навигационные шаблоны. Полученные результаты прототипирования превосходят возможности эквивалентного использования материалов традиционного подхода [4].

3D-печать на основе фотополимерных смол относится к широкой категории световой полимеризации в ваннах. Концепция основана на способности светочувствительных смол в жидкой фазе застывать под воздействием световой энергии.

На данный момент имеется несколько вариантов 3D-печати — SLA, DLP, LCD. Технология SLA (laser stereolithography, stereolithography apparatus) основывается на прохождении ультрафиолетового лазерного пучка в ванну с фотополимерной смолой, что приводит к полимеризации в определенной точке. Далее происходит смещение рабочей поверхности вниз на 0,025–0,300 мм и лазер приводит к полимеризации следующего слоя. Процесс повторяется до завершения построения модели [5].

DLP — цифровая светодиодная проекция. Излучение цифрового проектора избирательно воздействует через область печати на жидкую фотополимерную смолу, находящуюся в специальной емкости. Происходит послойное затвердевание смолы в местах воздействия и постепенное построение объемной модели. Отличия этой

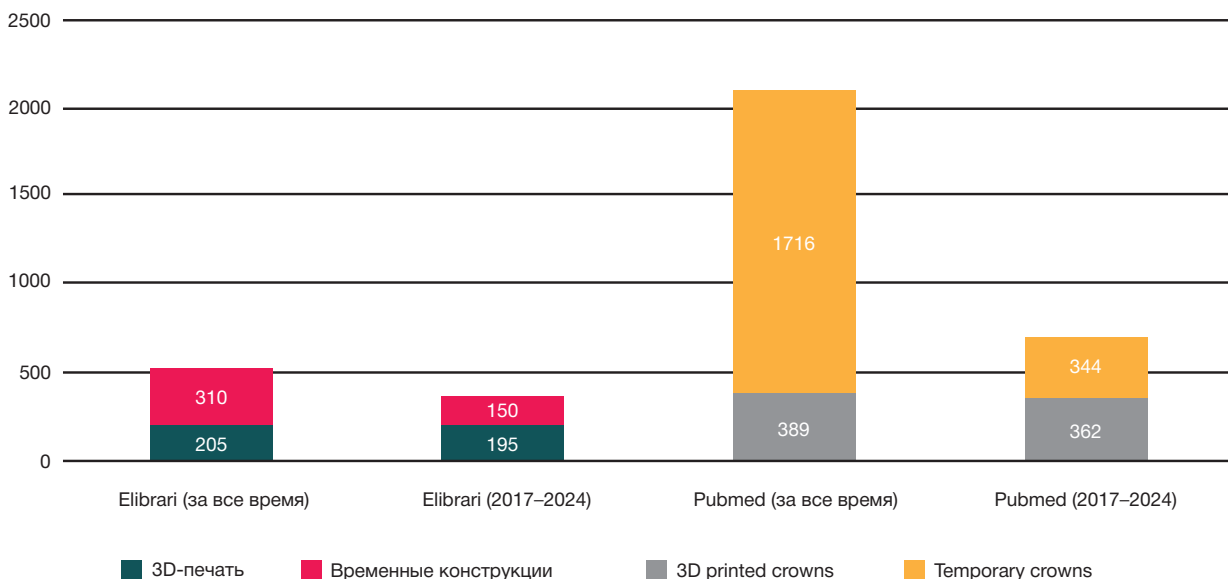


Рис. 1. Результаты при поисковом сочетании

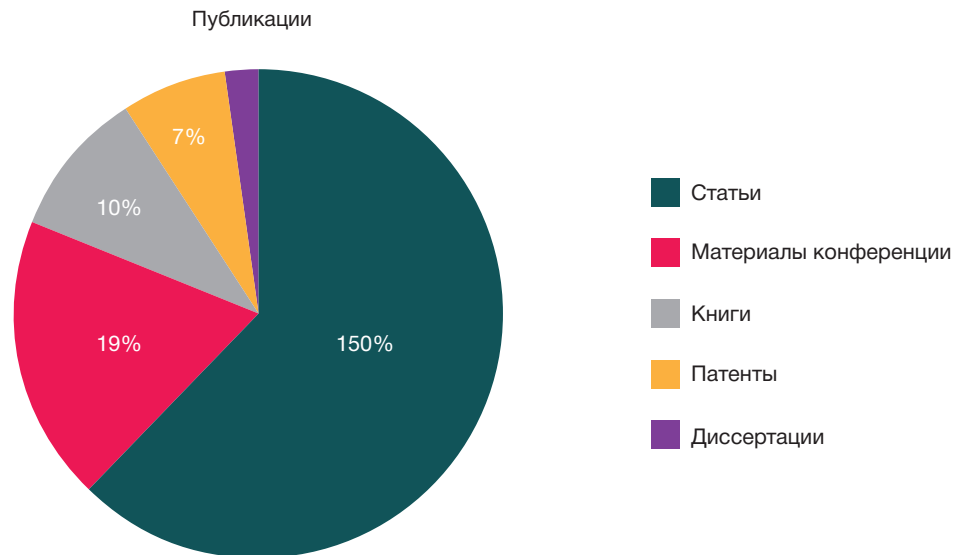


Рис. 2. Тип публикации

технологии — относительно небольшая рабочая площадь, высокая скорость печати, большой выбор совместимых расходных материалов.

LCD-технология — самая молодая среди фотополимерных принтеров. Изначально LCD появилась как более доступный аналог DLP-технологии, так как принципы их действия похожи. В LCD применяются ультрафиолетовые светодиоды, которые светят через ЖК-экран для отверждения фотополимерных смол. Хотя ЖК-экран также создает целые слои за то же время, что и DLP-3D-принтеры, качество слоев зависит от разрешения экрана. Чем выше разрешение ЖК-экрана, тем выше качество печати.

Для медицинских целей широко используют полимерные материалы. Помимо общих технических требований (температура плавления, прочность, износостойкость и т. д.) к полимерным материалам медицинского назначения, в особенности стоматологического, предъявляются дополнительные санитарно-гигиенические требования: минимальное взаимодействие с биологически активными средами, отсутствие токсичных свойств, низкая растворимость, минимальные сорбирующие свойства.

В состав фотополимерных смол для временного протезирования обычно входят следующие компоненты.

Мономерная основа. Обычно используют мономеры на основе метакрилата, такие как Bis-GMA (бисфенол-А-глицидилметакрилат) или UDMA (уретандиметакрилат). Эти мономеры обеспечивают высокую прочность и стабильность смолы.

Фотоинициаторы — вещества, запускающие реакцию полимеризации за счет света. Наиболее распространенными фотоинициаторами являются camphorquinone (CQ), benzophenone (BP) и 4-methylaminobenzoic acid phenylpropionate (MABPP). Они поглощают свет определенной длины волны и генерируют свободные радикалы, которые начинают процесс полимеризации.

Наполнители — это частицы, добавляемые в смолу для улучшения ее свойств. Они могут быть минеральными (например, кремний диоксид), органическими (например, барий сульфат) или синтетическими (например, микростекло).

Отвердитель — это вещество, которое ускоряет процесс полимеризации. Обычно используют пероксид бензоила или другие органические пероксиды.

Пигменты — это вещества, которые придают смоле определенный цвет. Они могут быть органическими или неорганическими.

Добавки — это дополнительные вещества, которые могут быть добавлены в смолу для улучшения ее свойств. Например, антиоксиданты для предотвращения окисления, пластификаторы для повышения гибкости или увлажняющие агенты для предотвращения дегидратации.

Стоматология широко признана областью, которая может извлечь большую пользу из технологий 3D-печати. В отечественной литературе существует значительное количество обзорных публикаций, посвященных применению 3D-печати. Однако работ, детально рассматривающих параметры, характеристики и свойства данных материалов, не много [6, 7].

При обзоре иностранной литературы данных становится значительно больше. Некоторые исследования утверждают, что временные полимерные материалы с 3D-печатью обладают более низкой прочностью на изгиб (FS) по сравнению с фрезерованными временными реставрациями [8, 9]. Однако временные полимерные материалы, напечатанные на 3D-принтере, обладают более высокой прочностью на изгиб по сравнению с временными конструкциями, изготовленными из традиционных материалов [10, 11]. Многочисленные исследования, в которых сравнивали износостойкость материалов, показали меньшую потерю объема при износе и более гладкие поверхности у напечатанных 3D-принтером образцов [12]. Во время печати принтеры имеют возможность наносить слои размером до десятой доли миллиметра, в результате чего получается изделие с более гладкой поверхностью и сокращается время полировки по сравнению с фрезерованием [13].

Более того, материалы, напечатанные на 3D-принтере, как правило, имеют более высокий модуль упругости (EM), чем обычные, но он не выше фрезерованного. Что касается шероховатости поверхности, то образцы, напечатанные на 3D-принтере, имеют более гладкую поверхность, чем фрезерованные и обычные временные материалы.

Таким образом, данные исследований физико-механических свойств говорят о том, что в сравнении с традиционными материалами 3D-смолы показывают лучшие результаты. Фрезерованные конструкции являются фаворитами, за исключением гладкости протезов.

Однако не стоит забывать об экономическом аспекте. В ряде работ затронута экономическая целесообразность печати с использованием фотополимерных смол [14, 15]. Методика 3D-печати экономична, возможность изготовления только необходимой конструкции без применения гипсовых моделей уменьшает время производства. В процессе печати затрачивается только необходимый для изготовления конструкции объем фотополимера, в то время как при фрезеровке около 30% от объема блоков является издержкой. Цифровой подход и наличие 3D-принтера позволяют лечащему врачу выполнить все необходимые для лечения процессы на базе одной клиники без привлечения сторонних зуботехнических лабораторий и зубных техников.

В нашей стране в основном используют фотополимерные смолы отечественного производства, которые обходятся значительно дешевле, чем иностранные аналоги. Стоит отметить, что смолы, производимые в России, не уступают по своим свойствам импортным материалам, а также экспортируются в другие страны для стоматологического применения. В противоположность этому, на рынке CAD/CAM-заготовок для временного протезирования практически полностью доминируют производители

из Китая, за счет чего стоимость финального изделия становится дороже.

Процесс повышения прочности на изгиб печатных полимеров все еще продолжается. Существуют модификации фотополимерных смол, в которых добавлены наночастицы оксида циркония (ZrO₂) в различных концентрациях. Были обнаружены превосходные механические свойства по сравнению со стандартной печатной смолой, что увеличивает возможный срок эксплуатации данных конструкций. Такие модификации уже существуют на рынке, в том числе и от отечественных производителей смол для 3D-печати.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение дентальных 3D-смол является перспективным направлением для временного протезирования, в том числе для длительной эксплуатации. Механические свойства данных материалов не уступают конкурентам. Стоимость конструкции дешевле, чем аналогичная с применением CAD/CAM-технологий. Это открывает двери для использования эффективных и доступных вариантов протезирования.

Литература

1. Апресян С. В. Оптимизация временных зубных протезов из полиуретана [диссертация]. М., 2012.
2. Бабунашвили Г. Б. Клинико-лабораторное обоснование применения материала «Акродент» для временных зубных протезов [диссертация]. М., 2007.
3. Луцкая И. К., Новак Н. В., Ершов-Павлов П. Е. Применение временных коронок на этапе протезирования зубов керамическими конструкциями. Современная стоматология. 2017; 4 (69): 51–54.
4. Юмашев А. В., Михайлова М. В., Кудерова И. Г., Кристалль Е. А. Варианты использования 3D сканирования в ортопедической стоматологии. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015; 1: 2–6.
5. Евсеев Е. Н. Обзор технологий 3D-печати. Science Time. 2017; 10 (46): 11–15.
6. Жулев Е. Н. Сравнительная оценка размерной точности искусственных коронок, изготовленных с помощью CAD/CAM системы и 3d ПРИНТЕРА по технологии. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2020; 3: 40–45.
7. Шнайдер С. Д., Нуриева Н. С., Юрасов А. Д. Исследования прочности и упругости на трехточечный изгиб материалов временных конструкций прямым способом и коронок методом 3d-печати. Стоматологическая весна в Белгороде — 2022: Сборник трудов Международной научно-практической конференции в рамках международного стоматологического фестиваля «Площадка безопасности стоматологического пациента», посвященного 100-летию Московского государственного медико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова, Белгород, 09 июня 2022 года. Белгород: Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 2022; с. 260–262.
8. Tasin S, Ismatullaev A. Comparative evaluation of the effect of thermocycling on the mechanical properties of conventionally polymerized, CAD-CAM milled, and 3D-printed interim materials. J Prosthet Dent. 2022; 127: 173.e1–173.e8. PubMed PMID: 34756771.
9. Mayer J, Stawarczyk B, Vogt K, Hickel R, Edelhoff D, Reymus M. Influence of cleaning methods after 3D printing on two-body wear and fracture load of resin-based temporary crown and bridge material. Clin Oral Investig. 2021; 25 (10): 5987–96. PubMed PMID: 33811531.
10. Albahri R, Yoon HI, Lee JD, Yoon S, Lee SJ. Shear bond strength of provisional repair materials bonded to 3D printed resin. J Dent Sci. 2021; 16 (1): 261–7. PubMed PMID: 33384807.
11. Alzahrani SJ, Hajjaj MS, Azhari AA, Ahmed WM, Yeslam HE, Carvalho RM. Mechanical properties of three-dimensional printed provisional resin materials for crown and fixed dental prosthesis: a systematic review. Bioengineering. 2023; 10 (6): 663. PubMed PMID: 37370594.
12. Manjunath KS, Sridhar K, Gopinath V, Sankar K, Sundaram A, Gupta N, et al. Facile manufacturing of fused-deposition modeled composite scaffolds for tissue engineering-an embedding model with plasticity for incorporation of additives. Biomed Mater. 2020; 16 (1): 015028. PubMed PMID: 33331292.
13. Myagmar G, Lee JH, Ahn JS, Yeo IL, Yoon HI, Han JS. Wear of 3D printed and CAD/CAM milled interim resin materials after chewing simulation. J Adv Prosthodont. 2021; 13 (3): 144–51. PMID: 34234924.
14. Tahayeri A, Morgan M, Fugolin AP, Bompolaki D, Athirasala A, Pfeifer CS, et al. 3D printed versus conventionally cured provisional crown and bridge dental materials. Dent Mater. 2018; 34 (2): 192–200. PubMed PMID: 29110921.
15. Вокулова Ю. А., Жулев Е. Н. Сравнительная оценка экономического обоснования изготовления временных искусственных коронок, полученных с помощью традиционных и цифровых технологий. The Scientific Heritage. 2020; 47–2 (47): 3–6.

References

1. Apresyan SV. Optimizaciya vremennyh zubnyh protezov iz poliuretana [dissertaciya]. M., 2012. Russian.
2. Babunashvili GB. Kliniko-laboratornoe obosnovanie primeneniya materiala «Akrodent» dlya vremennyh zubnyh protezov [dissertaciya]. M., 2007. Russian.
3. Luckaya IK, Novak NV, Ershov-Pavlov P E. Primeniye vremennyh

- koronok na etape protezirovaniya zubov keramicheskimi konstrukcijami. *Sovremennaya stomatologiya*. 2017; 4 (69): 51–54. Russian.
4. YUmashev AV, Mihajlova MV, Kuderova IG, Kristal EA. Varianty ispol'zovaniya 3D skanirovaniya v ortopedicheskoj stomatologii. *Vestnik novyh medicinskih tekhnologij*. Elektronnoe izdanie. 2015; 1: 2–6. Russian.
 5. Evsejev EN. Obzor tekhnologij 3D-pechati. *Science Time*. 2017; 10 (46): 11–15. Russian.
 6. ZHulev EN. Sravnitel'naya ocenka razmernoj tochnosti iskusstvennyh koronok, izgotovlennyh s pomoshch'yu CAD/CAM sistemy i 3d PRINTERA po tekhnologii. *Vestnik novyh medicinskih tekhnologij*. Elektronnoe izdanie. 2020; 3: 40–45. Russian.
 7. Shnajder SD, Nurieva NS, YUrasov AD. Issledovaniya prochnosti i uprugosti na trekhtochecnyj izgib materialov vremennyh konstrukcij pryamym sposobom i koronok metodom 3d-pechati. *Stomatologicheskaya vesna v Belgorode — 2022: Sbornik trudov Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii v ramkah mezhdunarodnogo stomatologicheskogo festivalya «Ploshchadka bezopasnosti stomatologicheskogo pacienta», posvyashchennogo 100-letiyu Moskovskogo gosudarstvennogo mediko-stomatologicheskogo universiteta im. A. I. Evdokimova, Belgorod, 09 iyunya 2022 goda*. Belgorod: Belgorodskij gosudarstvennyj nacional'nyj issledovatel'skij universitet, 2022; s. 260–262. Russian.
 8. Tasin S, Ismatullaev A. Comparative evaluation of the effect of thermocycling on the mechanical properties of conventionally polymerized, CAD-CAM milled, and 3D-printed interim materials. *J Prosthet Dent*. 2022; 127: 173.e1–173.e8. PubMed PMID: 34756771.
 9. Mayer J, Stawarczyk B, Vogt K, Hickel R, Edelhoff D, Reymus M. Influence of cleaning methods after 3D printing on two-body wear and fracture load of resin-based temporary crown and bridge material. *Clin Oral Investig*. 2021; 25 (10): 5987–96. PubMed PMID: 33811531.
 10. Albahri R, Yoon HI, Lee JD, Yoon S, Lee SJ. Shear bond strength of provisional repair materials bonded to 3D printed resin. *J Dent Sci*. 2021; 16 (1): 261–7. PubMed PMID: 33384807.
 11. Alzahrani SJ, Hajjaj MS, Azhari AA, Ahmed WM, Yeslam HE, Carvalho RM. Mechanical properties of three-dimensional printed provisional resin materials for crown and fixed dental prosthesis: a systematic review. *Bioengineering*. 2023; 10 (6): 663. PubMed PMID: 37370594.
 12. Manjunath KS, Sridhar K, Gopinath V, Sankar K, Sundaram A, Gupta N, et al. Facile manufacturing of fused-deposition modeled composite scaffolds for tissue engineering—an embedding model with plasticity for incorporation of additives. *Biomed Mater*. 2020; 16 (1): 015028. PubMed PMID: 33331292.
 13. Myagmar G, Lee JH, Ahn JS, Yeo IL, Yoon HI, Han JS. Wear of 3D printed and CAD/CAM milled interim resin materials after chewing simulation. *J Adv Prosthodont*. 2021; 13 (3): 144–51. PMID: 34234924.
 14. Tahayeri A, Morgan M, Fugolin AP, Bompolaki D, Athirasala A, Pfeifer CS, et al. 3D printed versus conventionally cured provisional crown and bridge dental materials. *Dent Mater*. 2018; 34 (2): 192–200. PubMed PMID: 29110921.
 15. Vokulova YU. A., ZHulev E. N. Sravnitel'naya ocenka ekonomicheskogo obosnovaniya izgotovleniya vremennyh iskusstvennyh koronok, poluchennyh s pomoshch'yu tradicionnyh i cifrovyyh tekhnologij. *The Scientific Heritage*. 2020; 47–2 (47): 3–6.

ВЛИЯНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИХ МЕМБРАН НА РАЗВИТИЕ ФИБРОЗА ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ РАН СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

А. Д. Коняева¹✉, Е. Ю. Варакута¹, А. Е. Лейман¹, Г. М. Кормашов¹, М. В. Федосова¹, Е. Н. Больбасов², К. С. Станкевич³

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

² Томский политехнический университет, Томск, Россия

³ Государственный университет штата Монтана, Бозмен, Монтана, США

Профилактика развития фиброза при регенерации раневых дефектов слизистой оболочки полости рта является актуальной проблемой в современной хирургической стоматологии. Целью исследования было провести морфологическую оценку влияния биосовместимых пьезоэлектрических мембран на формирование фиброзной ткани в процессе регенерации ран слизистой оболочки полости рта. Были проанализированы межклеточное взаимодействие макрофагов и фибробластов, а также изменения уровня экспрессии маркеров CD68 и TGFβ1 и их влияние на развитие фиброза в условиях использования биосовместимых полимерных мембран с пьезоэлектрическими свойствами на различных этапах регенерации раневых дефектов слизистой оболочки полости рта. Проведена сравнительная морфологическая оценка структур слизистой оболочки ротовой полости у животных с интактной слизистой оболочкой ($n = 15$), с открытым раневым дефектом ($n = 15$) и раной, перекрытой биосовместимой пьезоэлектрической мембраной ($n = 15$). Забор материала из области раневого дефекта осуществляли на 3-и, 7-е и 12-е сутки эксперимента, в аналогичные сроки отбирали материал у интактных животных. В группе с использованием биосовместимой мембраны в области дефекта выявлены признаки стадии пролиферации уже на 3-и сутки исследования, более быстрая смена макрофагальной инфильтрации на фибробластическую, снижение воспалительной реакции — на 7-е сутки и восстановление численной плотности макрофагов и фибробластов до интактных значений — на 12-е сутки. Выраженность экспрессии маркеров, прогнозирующих развитие фиброза, CD68 и TGFβ1, была ниже, чем в группе без использования мембраны. Наблюдалось уменьшение удельной площади плотной волокнистой соединительной ткани на микроскопическом уровне и выраженность деформации мягких тканей на макроскопическом уровне. В группе без раневого покрытия на всем протяжении эксперимента сохранялись обширная клеточная инфильтрация и усиленная экспрессия CD68 и TGFβ1, что приводило к преобладанию удельной площади плотной волокнистой соединительной ткани над рыхлой соединительной тканью на 12-е сутки исследования и рубцовой деформации мягких тканей.

Ключевые слова: регенерация, раневой дефект, фиброз, пьезоэлектрики, слизистая оболочка полости рта, воспаление

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта №23-25-00346.

Вклад авторов: А. Д. Коняева, Е. Ю. Варакута, Е. Н. Больбасов, К. С. Станкевич — концепция и дизайн исследования; А. Д. Коняева, А. Е. Лейман, Г. М. Кормашов, М. В. Федосова — сбор и обработка материала; А. Д. Коняева, Е. Ю. Варакута — написание текста; А. Д. Коняева, Е. Ю. Варакута, Е. Н. Больбасов, К. С. Станкевич — редактирование текста.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено комитетом IACUC Сибирского государственного медицинского университета (протокол № 11-1 от 12 июля 2022 г.). Все манипуляции с крысами проводили в соответствии с Директивой Европейского Парламента № 2010/63 ЕС от 22.09.2010 «О защите животных, используемых в научных целях».

✉ **Для корреспонденции:** Анастасия Денисовна Коняева
Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634034, Россия; asyakonya95@gmail.com

Статья получена: 18.06.2024 **Статья принята к печати:** 06.08.2024 **Опубликована онлайн:** 26.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.033

EFFECTS OF BIOCOMPATIBLE PIEZOELECTRIC MEMBRANES ON THE DEVELOPMENT OF FIBROSIS ASSOCIATED WITH THE ORAL MUCOSAL WOUND REGENERATION

Koniaeva AD¹✉, Varakuta EYu¹, Leiman AE¹, Kormashov GM¹, Fedosova MV¹, Bolbasov EN², Stankevich KS³

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

² Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

³ Montana State University, Bozeman, MT, USA

Prevention of fibrosis during the oral mucosal wound regeneration is a pressing issue of today's surgical dentistry. The study was aimed to perform morphological assessment of the effects of biocompatible piezoelectric membranes on fibrous tissue formation during regeneration of the oral mucosal wounds. We assessed cell-cell interactions of macrophages and fibroblasts, along with changes in the CD68 and TGFβ1 marker expression and their effects on the development of fibrosis under conditions of using biocompatible polymeric membranes with piezoelectric properties at various stages of the oral mucosal wound defect regeneration. Comparative morphological assessment of the oral mucosal structures was conducted in animals having intact mucosa ($n = 15$), having open wound defects ($n = 15$), and having wounds covered with biocompatible piezoelectric membranes ($n = 15$). Biomaterial was collected from the wound defect site on days 3, 7, and 12 of the experiment; collection of biomaterial from intact animals was performed on the same days. In the group, where biocompatible membranes were used, signs of proliferation phase at the defect site were detected as early as on day 3 of the study; the faster shift from macrophage infiltration to fibroblast infiltration, the decline in inflammatory response were detected on day 7; restoration of the numerical density of macrophages and fibroblasts to the intact values was detected on day 12. The expression of CD68 and TGFβ1, the prognostic markers of fibrosis, was lower in the group, where no membranes were used. Reduction of the dense fibrous connective tissue specific area was observed at the microscopic level, severe soft tissue deformation was reported at the macroscopic level. In the group with no wound covering, extensive cell infiltration and increased CD68 and TGFβ1 expression persisted throughout the experiment, which resulted in the fact that specific area of dense fibrous connective tissue was larger, than that of loose connective tissue, on day 12 of the study, as well as in the cicatricial soft tissue deformities.

Keywords: regeneration, wound defect, fibrosis, piezoelectrics, oral mucosa, inflammation

Funding: the study was supported by the RSF (research project No. 23-25-00346)

Author contribution: Koniaeva AD, Varakuta EYu, Bolbasov EN, Stankevich KS — study concept and design; Koniaeva AD, Leiman AE, Kormashov GM, Fedosova MV — data acquisition and processing; Koniaeva AD, Varakuta EYu — manuscript writing; Koniaeva AD, Varakuta EYu, Bolbasov EN, Stankevich KS — manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the IACUC of the Siberian State Medical University (protocol No. 11-1 dated 12 July 2022). Rats were handled 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 dated 22 September 2010.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anastasiia D. Koniaeva
Moskovskij trakt, 2, Tomsk, 634034, Russia; asyakonya95@gmail.com

Received: 18.06.2024 **Accepted:** 06.08.2024 **Published online:** 26.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.033

Фиброз является одним из возможных вариантов восстановления раневых дефектов слизистой оболочки полости рта [1]. Однако его наличие ведет к уменьшению объема мягких тканей, отрицательно сказывается на архитектонике поврежденной области и негативно влияет на дальнейшее стоматологическое лечение [2].

Еще на ранних стадиях регенерации раневых дефектов можно выделить ряд предикторов, анализ выраженности которых может спрогнозировать риск возникновения фиброза. Отмечается, что взаимоотношения клеток макрофагального и фибробластического ряда меняются в зависимости от стадии раневого процесса и вероятности риска возникновения фиброзных изменений [3].

Отражением развития фиброза является также выделение клеточными популяциями в области раневого дефекта трансформирующего фактора роста (TGF β). Он высвобождается фибробластами, макрофагами, а также другими клетками раневого ложа, на фоне повышения его экспрессии стимулируется образование грануляционной ткани, синтез коллагена и ангиогенез [4]. Однако выраженность его экспрессии и влияние на развитие плотной волокнистой соединительной ткани сильно зависят от микроокружения и клеточного контекста. TGF β либо стимулирует, либо ингибирует пролиферацию клеток. Он действует как хемоаттрактант для моноцитов и фибробластов, и его выраженная экспрессия во время первой стадии регенерации раны способствует развитию грануляционной ткани. Однако на завершающем этапе репарации повышенная экспрессия TGF β сопровождается выраженной клеточной инфильтрацией и снижением коллагенолиза [5]. Маркер активности макрофагов CD68 также может быть исследован для прогнозирования варианта заживления ран [6].

На основании анализа перечисленных показателей можно исследовать эффективность использования различных биосовместимых материалов для закрытия раневых дефектов.

В литературе отсутствуют сведения об изучении эффективности использования раневых покрытий со схожими физико-химическими свойствами для регенерации раневых дефектов слизистой оболочки полости рта.

Цель данного исследования — провести морфологическую оценку влияния биосовместимых пьезоэлектрических мембран на формирование фиброзной ткани в процессе регенерации ран слизистой оболочки полости рта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент представлял собой простое сравнительное исследование двух подходов при лечении раневых дефектов слизистой оболочки полости рта — с закрытием дефекта биосовместимым покрытием и без него.

Исследуемая в данной работе полимерная пьезоэлектрическая мембрана представляет собой нетканое полотно из сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом, изготовленное при помощи электроспиннинга. Мембрана состоит из двух слоев — гидрофильного, обращенного в сторону раневого дефекта, и гидрофобного наружного. Мембрана не является биodeградируемой, по завершении процесса регенерации она извлекается с поверхности зажившего раневого дефекта. Ранее проведенные исследования показали, что наличие пьезоэлектрических свойств у мембран по сравнению с диэлектрическими мембранами способствует

ускоренному образованию рыхлой волокнистой соединительной ткани с более низким показателем удельной площади плотной волокнистой соединительной ткани. Также было проведено исследование покрытий на биосовместимость и цитотоксичность при помощи фибробластов 3T3L1 лабораторией биополимеров и биотехнологий Томского государственного университета [7].

Всего в исследовании использовали 45 крыс линии Wistar (четырёхмесячных самцов массой 350 ± 30 г), по 15 животных в каждой группе. К 1-й группе ($n = 15$) относились животные с открытым раневым дефектом, ко 2-й ($n = 15$) — животные с раневым дефектом, перекрытым полимерной пьезоэлектрической мембраной, к 3-й ($n = 15$) — животные с интактной слизистой оболочкой. Животных распределяли по группам при помощи метода блочной рандомизации. Животные были предоставлены НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга (Томск, Россия). Эксперимент проводили после двухнедельного периода акклиматизации животных. Всех крыс содержали в стандартных условиях вивария: в отдельных подписанных клетках по пять особей в каждой с постоянным доступом к еде и воде начиная со вторых суток исследования при температуре от $+12$ до $+18$ °C по Цельсию [8].

Выбор в качестве объектов исследования этого вида животных был обусловлен рядом факторов: высокой степенью трансляции данных экспериментального моделирования по отношению к человеку, генетической однородностью (гомозиготностью), определяющей постоянство реакции на воздействие физико-химических, физиологических, биопатогенных и стрессовых факторов, известный уровень чувствительности к раздражителям; специфичностью и выраженностью биохимических, иммунологических, функциональных и морфологических показателей [9].

Для имитации раневого дефекта слизистой оболочки полости рта животным иссекался лоскут слизистой оболочки размером 7×4 мм из области щеки. После этого животным 2-й группы при помощи узловых швов фиксировали мембрану по краям раны. Все хирургические манипуляции над животными производили после введения их в состояние наркоза при помощи препарата «Золетил 100» в дозировке 10 мг/кг (Вирбак, Каррос; Франция). Критерии исключения животных из исследования с последующей эвтаназией — ухудшение их общего состояния, характеризующееся вялостью, апатией, отказом от еды, нарушениями сна или преждевременной смертью животного. Ни одно животное не было исключено из исследования.

Животных выводили из исследования на 3-е, 7-е и 12-е сутки (по пять особей для каждой группы) путем введения в состояние гипоксии в CO₂-камере.

Образцы тканей для гистологического исследования брали из области раневого дефекта, захватывая по 1 мм ткани с периферии. Полученные при аутопсии ткани фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина («Биовитрум»; Россия), промывали под проточной водой, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и изопропанолу («Биовитрум»; Россия) и заливали парафином («Биовитрум»; Россия). Изготавливали гистологические срезы толщиной 5 мкм при помощи санного микротомы MC-1 (Орион-Медик, Россия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином («АБРИС+»; Россия) и пиррофуксином Ван Гизона («Биовитрум»; Россия). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим.

Проводили качественную и количественную гистологическую оценку удельной площади волокнистой соединительной ткани, численной плотности макрофагов и фибробластов в 1 мм² среза. Гистологические срезы исследовали с помощью светопольного микроскопа Axioskop 40 (Carl Zeiss AG; Германия) с объективом ×40 и ×90, окулярами ×10. Изучали по 50 полей зрения из области раневого дефекта в каждой группе.

Иммуногистохимическое окрашивание производили при помощи кроличьих рекомбинантных поликлональных антител CD68 и TGFβ I изотипа IgG (Abcam; США). Отмечали интенсивность иммуногистохимической окраски по McCarthy [10]: 0 — отсутствие окрашивания, 1 — слабое окрашивание, 2 — умеренное окрашивание, 3 — сильное, 4 — очень сильное окрашивание.

Формула подсчета:

$$\text{Histochemical scores} = \sum P(i) \times i,$$

где i — интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0–4,

$P(i)$ — процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью.

Подсчет проводили в трех когортах по 100 клеток в различных полях зрения (объектив ×40, ×90).

Обработку изображений выполняли с использованием программы Axio Vision 4.8.2 (Carl Zeiss AG; Германия) и ImageJ v.1.54u (Национальный институт здравоохранения, Мэриленд).

Для оценки ультраструктуры макрофагов и фибробластов изготавливали препараты для электронной микроскопии по стандартной методике: фиксировали ткани в 2,5%-м растворе глutarового альдегида и какодилатном буфере (0,2 M; 1 : 9), постфиксировали в 1%-м растворе тетраоксида осмия, осуществляли дегидратацию и заливку в смесь аралдита М и эпона. Использовали ультратом LKB-5 (BROMMA; Швеция) для изготовления срезов, контрастировали препараты уранил-ацетатом и цитратом свинца. Изучали ультраструктуру, используя электронный микроскоп JEOL JEM -1400 CX (Jeol; Япония).

Статистическая обработка

Для анализов *in vivo* использовали программное обеспечение Statistica версии 10.0 (StatSoft Inc.; США). Проводили проверку статистической гипотезы

Таблица 1. Морфологические показатели, характеризующие степень развития фиброза в слизистой оболочке полости рта при регенерации раневого дефекта, M(Q₁;Q₃)

	TGFβ	CD68	Численная плотность фибробластов, у.е.	Численная плотность макрофагов, у.е.	Удельная площадь плотной волокнистой соединительной ткани, %
Контроль	45,0 (40,0; 48,75)	50,0 (45,0; 55,0)	380,0 (376,0; 391,7)	163,0 (158,0; 165,0)	–
3-и сутки					
1-я группа	285,0 (276,25; 290,0)*	140,0 (135,0; 145,0)*	3782,0* (3721,0; 3849,5)	772,5* (750,2; 788,0)	–
2-я группа	200,0 (190,0; 205,0)*#	210,0 (205,0; 215,0)*#	5378,5*# (5346,2; 5465,7)	1750,0 *# (1735,2; 1785,5)	–
7-е сутки					
1-я группа	367,5 (351,25; 375,0)*	325,0 (320,0; 330,0)*	4530,5* (4472,5; 4579,7)	1846,0* (1831,2; 1869,0)	–
2-я группа	130,0 (125,0; 135,0)*#	280,0 (275,0; 285,0)*#	6136,0*# (6126,0; 6145,0)	1128,0*# (1118,5; 1145,7)	–
12-е сутки					
1-я группа	230,0 (225,0; 235,0)*	170,0 (165,0; 175,0)*	2746,5* (2639,0; 2906,0)	971,0* (947,0; 1138,2)	23,0 (14,3; 27,8)*
2-я группа	85,0 (80,0; 90,0)*#	85,0 (80,0; 90,0)*#	397,5# (395,0; 402,0)	147,5# (143,0; 149,7)	5,9 (5,5; 6,3)*#

Примечание: * — достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); # — достоверные различия по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$)

распределения признаков с использованием теста Колмогорова–Смирнова. Все результаты представлены как медиана и квартили, M (Q₁; Q₃). Непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с медианным тестом использовали для сравнения независимых выборок, для парных сравнений применяли критерий Уилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На 3-и сутки исследования в экспериментальных группах в области раневого дефекта наблюдалась грануляционная ткань, в группе с покрытием встречались отдельные пучки соединительнотканых волокон. В области раневого дефекта визуализировалась клеточная инфильтрация, представленная, в основном, нейтрофилами. Кроме того, определялись макрофаги и фибробласты, при этом в группе с покрытием они визуализировались чаще (рис. 1А). Так, численная плотность фибробластов в группе с раневым покрытием была в 1,4 раза значимо больше ($p = 0,035$), чем в группе без него и в 14 раз достоверно больше ($p = 0,012$) чем в интактной слизистой оболочке (см. таблицу). На основании ультрамикроскопического исследования можно отметить, что визуализировались преимущественно небольшие юные фибробласты с умеренно развитыми органеллами синтеза. Макрофагальная инфильтрация также была более выражена в группе с мембраной, численная плотность данной клеточной популяции в ней была в 2,3 и 10,7 раз достоверно больше, чем в группе с открытым раневым дефектом и группе контроля соответственно ($p = 0,034$, $p = 0,018$). На ультрамикроскопическом уровне макрофаги обладали признаками высокой фагоцитарной и синтетической активности, что отражалось на уровне экспрессии маркера CD68, которая значимо повышалась в 2,6 и 4,2 раз для группы без покрытия и группы с мембраной соответственно по сравнению со значениями в интактной слизистой оболочке ($p = 0,022$, $p = 0,031$). Более выраженная экспрессия маркера TGFβ1 наблюдалась в группе с открытым раневым дефектом: показатель H-score в ней был в 1,4 раза достоверно больше ($p = 0,045$), чем в группе с мембраной и в 6,3 раза достоверно больше, чем в интактной слизистой оболочке ($p = 0,022$) (см. таблицу) (рис. 1Б).

На 7-е сутки исследования в экспериментальных группах визуализировалась сформированная рыхлая

волокнистая соединительная ткань, между волокнами которой определялись скопления макрофагов и фибробластов (рис. 1В). На этом этапе регенерации раны во всех полях зрения преимущественно встречались макрофаги и фибробласты. Численная плотность первых была максимальной в группе без покрытия и достоверно превышала в 1,6 и 11,3 раз аналогичный показатель группы с полимерной мембраной и контрольной группы ($p = 0,019$, $p = 0,011$) (см. таблицу). Это соотносилось с экспрессией маркера CD68, для которого показатель H-score в группе без покрытия был в 1,2 и 6,5 раз значимо выше, чем в группе с покрытием и интактной слизистой оболочкой ($p = 0,048$, $p = 0,024$). При этом численная плотность фибробластов наоборот была максимальной в группе с мембраной и была достоверно выше в 1,35 раза таковой в группе без нее ($p = 0,041$) (см. таблицу). В группе без покрытия по-прежнему преобладали юные фибробласты, а в группе с использованием мембраны, в основном, визуализировались дифференцированные зрелые фибробласты с ультраструктурными признаками повышенной синтетической активности (рис. 1Г). Реакции на инородное тело в области имплантации мембраны не наблюдалось ни на одном из этапов эксперимента. Экспрессия маркера TGF β 1 была значимо выше в группе с открытым раневым дефектом в 2,8 раз по сравнению с группой с мембраной ($p = 0,036$) и в 8 раз по сравнению с группой контроля ($p = 0,013$).

На 12-е сутки исследования в группе без раневого покрытия встречались обширные очаги плотной волокнистой соединительной ткани (рис. 1Д). Ее удельная площадь была в 3,9 раз достоверно выше, чем в группе с покрытием ($p = 0,036$). Отражением этого процесса на макроскопическом уровне являлась деформация щечной области с убылью мягких тканей, на месте раневого дефекта определялся рубец протяженностью 4,5 мм (рис. 1Е). В группе с полимерной мембраной длина рубца достигала 1,5 мм, деформация мягких тканей была не выражена. В группе с мембраной численная плотность макрофагов и фибробластов достигала контрольных значений. В группе без раневого покрытия эти показатели были в 6 и в 7,2 раза достоверно выше интактных значений ($p = 0,032$, $p = 0,021$). В группе без раневого покрытия фибробласты сохраняли ультраструктурные признаки высокой синтетической активности, в то время как в группе с покрытием преобладали функционально неактивные фиброциты (рис. 1Ж). У макрофагов на ультраструктурном уровне визуализировались хорошо развитые гранулярный эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и митохондрии, что свидетельствовало о высокой синтетической активности. Экспрессия CD68 и TGF β 1 была значимо выше в группе с открытым раневым дефектом, чем в группе с покрытием и интактной слизистой оболочкой в 2 и 3 раза соответственно ($p = 0,019$, $p = 0,025$) (см. таблицу) (рис. 1З).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе проведения данного исследования были проанализированы основные предикторы развития фиброзной ткани в области раневого дефекта слизистой оболочки полости рта. На основании результатов исследования, а также анализа литературы можно сформировать следующую схему патоморфогенеза (рис. 2).

Согласно схеме, на первом этапе регенерации раневого дефекта, в фазу воспаления, наблюдалась

обширная клеточная инфильтрация в области заживления. В группе с использованием биосовместимой мембраны было выявлено значительное скопление макрофагов, чья численная плотность была значимо выше, чем в группе с открытым раневым дефектом. С этим показателем соотносилась увеличенная экспрессия маркера макрофагов CD68 в группе с полимерной мембраной. На ультрамикроскопическом уровне можно было отметить признаки усиленной синтетической активности макрофагов в группе с покрытием. Развитый синтетический аппарат был необходим для выделения биологически активных веществ, которые в том числе являлись аттрактантами для миграции фибробластов в зону ранения [11]. Полученные данные мы интерпретировали как факт перехода воспалительной стадии в пролиферативную, так как именно макрофаги отвечают за процесс направленной миграции фибробластов за счет высвобождения фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и TGF β , способствующих ангиогенезу, выработке коллагена и реэпитализации [12].

Также в группе с покрытием значимо увеличивалась численная плотность клеток фибробластического ряда. Это тоже свидетельствовало о том, что в группе с раневым покрытием основные процессы, происходящие в ране, переклюкались с воспалительной реакции на формирование соединительной ткани.

Однако для правильной интерпретации данных показателей необходим был их анализ в динамике, так как сохранение обширной инфильтрации, особенно макрофагами, на дальнейших этапах регенерации раны могло быть предпосылкой к развитию фиброза. Именно это мы и наблюдали в группе без раневого покрытия, где численная плотность макрофагов была значимо выше на 7-е сутки исследования, чем в группе с раневым покрытием, и не достигала контрольных значений на 12-е сутки исследования. Численная плотность фибробластов, наоборот, на 7-е сутки исследования была достоверно ниже в группе без покрытия. На 12-е сутки численная плотность фибробластов повышалась по сравнению с интактной слизистой оболочкой и группой с покрытием. Подобное взаимоотношение макрофагов и фибробластов в группе с открытой раной свидетельствовало о длительно текущем воспалительном процессе, который способствовал развитию фиброза в дальнейшем [11]. В группе с использованием биосовместимой пьезоэлектрической мембраны численная плотность рассматриваемых клеточных популяций восстанавливалась до контрольных значений на 12-е сутки исследования, что являлось положительным прогностическим признаком.

Выделение клетками TGF β 1 служит первоначальным триггером для начала регенерации раны, в связи с этим мы наблюдали увеличение его экспрессии на 3-и сутки исследования в обеих экспериментальных группах [12]. Однако его экспрессия была значимо больше в группе без раневого покрытия, чем в группе с биосовместимой мембраной, и достигала своего максимума на 7-е сутки исследования и не возвращалась к контрольным значениям на 12-е сутки исследования. Данный маркер выделяется рядом клеток в области раневого дефекта — тромбоцитами, макрофагами, фибробластами, кератиноцитами и др. [4]. И именно он имеет критически важную роль в ходе смены стадий регенерации, оказывая влияние на кооперацию макрофагов и фибробластов в области раны [5]. При этом отмечается, что не только разные типы клеток по-разному реагируют на TGF β 1, но и одни и те же клетки

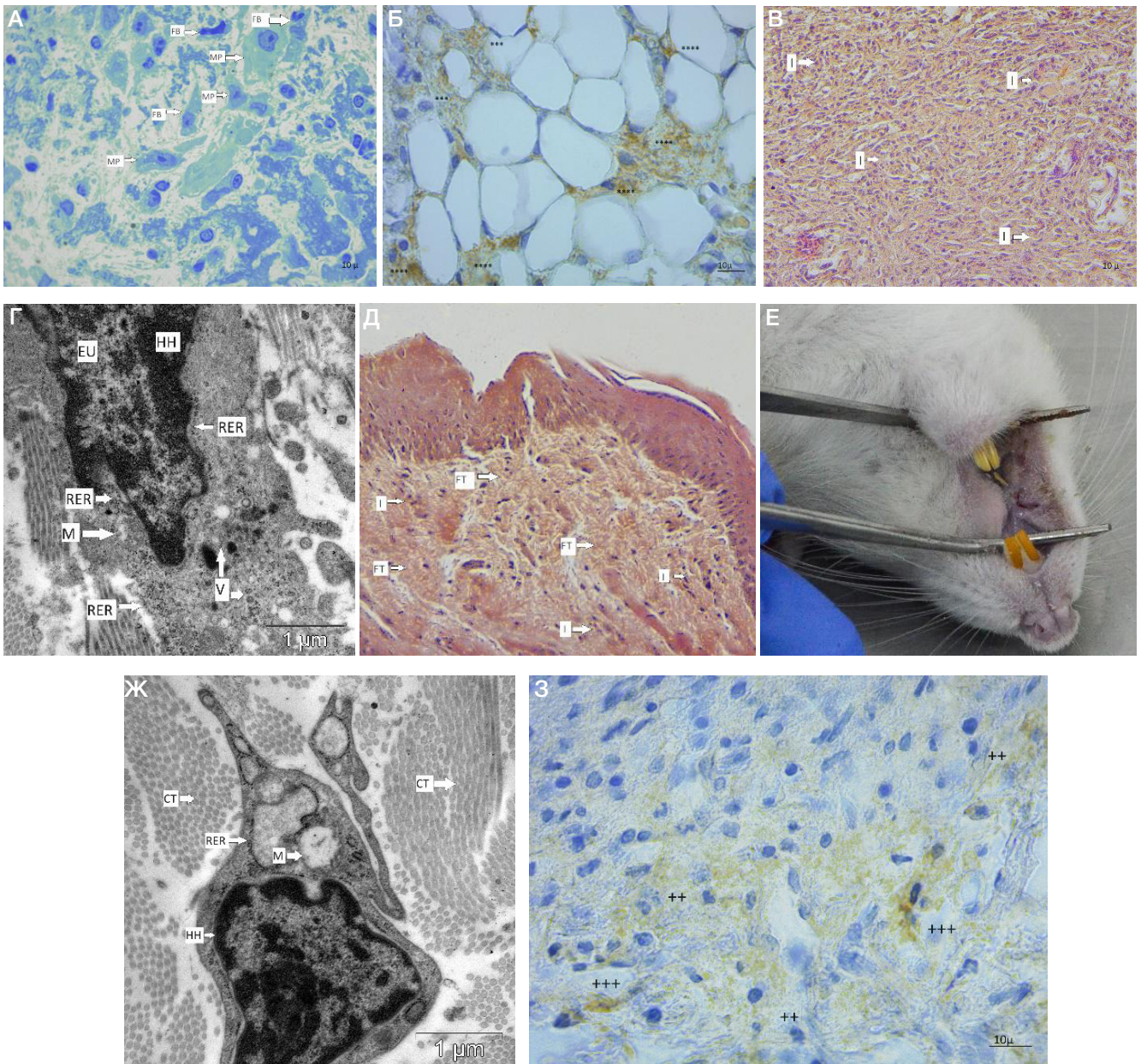


Рис. 1. Этапы регенерации раневого дефекта слизистой оболочки полости рта. **А.** Грануляционная ткань, включающая макрофаги и фибробласты, в области раневого дефекта (3-и сутки, 2-я группа; $\times 900$; окраска: толуидиновый синий). **Б.** Экспрессия TGF β 1 клетками грануляционной ткани в области раневого дефекта, докрашивание ядер гематоксилином (3-и сутки, 1-я группа; $\times 900$). **В.** Рыхлая волокнистая соединительная ткань в области раневого дефекта с обширной клеточной инфильтрацией (7-е сутки, 1-я группа; окраска: гематоксилин, эозин; $\times 400$). **Г.** Дифференцированный фибробласт (7-е сутки, 2-я группа; ТЭМ, $\times 5000$). **Д.** Плотная волокнистая соединительная ткань с клеточной инфильтрацией (12-е сутки, 1-я группа; окраска: гематоксилин, эозин; — 400). **Е.** Макроскопическая картина после регенерации раневого дефекта. Убыль мягких тканей. Рубец длиной 4,5 мм. **Ж.** Синтетически не активный фиброцит (12-е сутки, 2-я группа; ТЭМ, $\times 5000$). **З.** Экспрессия CD68 клетками соединительной ткани, докрашивание ядер гематоксилином (12-е сутки, 2-я группа; $\times 400$). FT — плотная волокнистая соединительная ткань, I — клеточная инфильтрация, EU — эухроматин, HH — гетерохроматин, RER — гранулярный эндоплазматический ретикулум, M — митохондрия, V — везикулы, MP — макрофаг, FB — фибробласт; ++++ — очень сильное окрашивание; +++ — сильное окрашивание; ++ — умеренное окрашивание; + — слабое окрашивание; — — нет окрашивания

могут проявлять противоположные ответы в зависимости от экспериментальных условий [5].

Зафиксированное на 7-е сутки исследование повышение экспрессии TGF β 1 опосредовало сохранение обширной инфильтрации в области раны синтетически активными фибробластами и макрофагами на 12-е сутки исследования в группе с открытым раневым дефектом. В то время как их численная плотность в группе с покрытием возвращалась к контрольным значениям на финальном этапе регенерации раны на фоне более низких значений H-score для TGF β 1. К тому же клетки фибробластического ряда были представлены в основном синтетически неактивными фиброцитами, что свидетельствовало о

завершении процесса формирования соединительной ткани в области раневого дефекта в группе с полимерной мембраной. В группе с открытым раневым дефектом на 12-е сутки исследования в области раны присутствовали, в основном, синтетически активные фибробласты. Под действием TGF β 1 фибробласты подвергались пролиферации, миграции и дифференцировке, а на фоне aberrантной передачи сигнала от TGF β 1 активировался механизм образования рубцовой ткани [12]. Формирование рубцовой ткани было связано с патологическим и дезорганизованным процессом заживления раны при хроническом воспалении [13], которое возникало на фоне повышения уровня экспрессии TGF β 1, что являлось

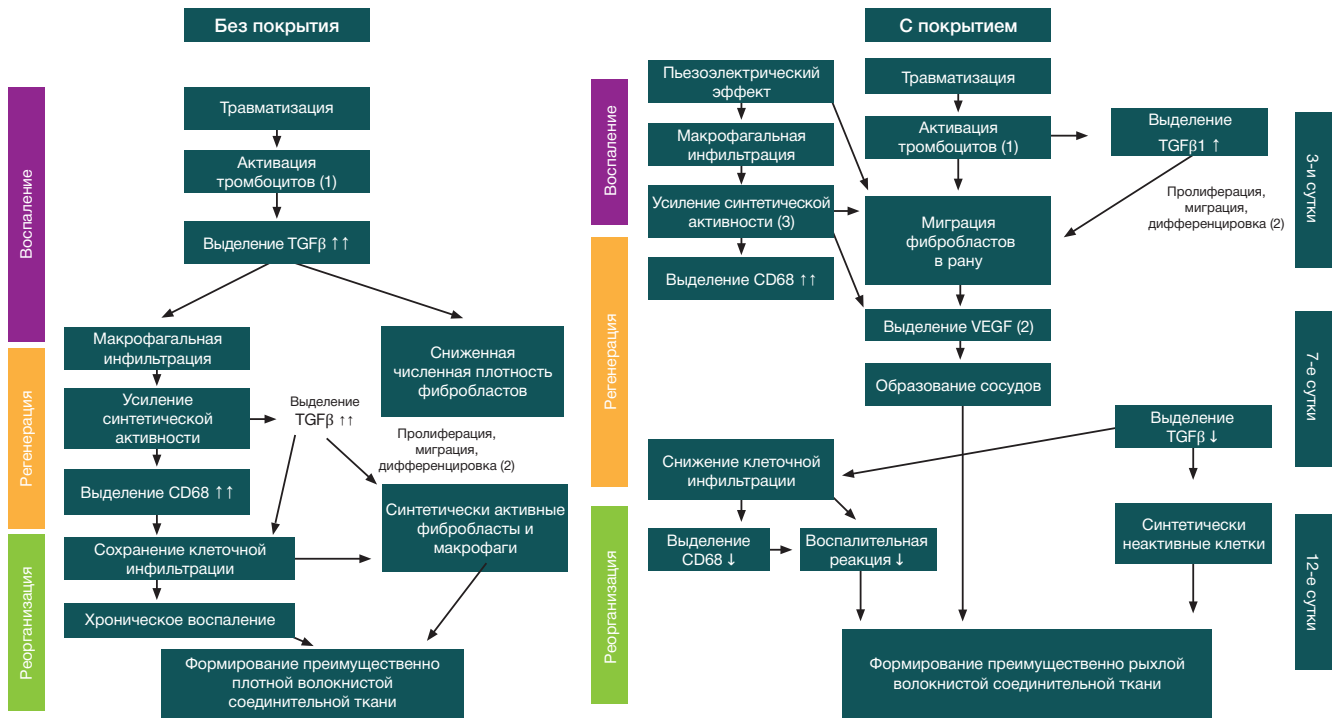


Рис. 2. Схема патоморфогенеза регенерации раневого дефекта слизистой оболочки полости рта при использовании полимерной пьезоэлектрической мембраны и без нее. ↑ — невыраженное усиление экспрессии; ↑↑ — умеренное усиление экспрессии; ↑↑↑ — выраженное усиление экспрессии; ↓ — снижение экспрессии. 1 — по данным Morikawa M, Derynck R, et al. [5]; 2 — по данным Xu X, Gu SY, et al. [11]; 3 — по данным Zhang T, Wang XF, et al. [12]

важным этапом патогенеза хронических ран [14]. Таким образом, повышение экспрессии TGFβ1 можно считать важным профиброзным маркером [15].

Поэтому в группе с открытым раневым дефектом в ходе взаимодействия между фибробластами и макрофагами под воздействием TGFβ1 формировалась плотная волокнистая соединительная ткань, которая была основой фиброзных изменений, что на макроскопическом уровне проявлялось наличием рубца длиной 4,5 мм и убылью мягких тканей.

Полимерные пьезоэлектрические мембраны из сополимера винилиденфторида с тетрафторэтиленом, изготовленные при помощи электроспиннинга, являются новейшей разработкой лаборатории гибридных биоматериалов НИ ТПУ. Ранее в мировой практике не проводились исследования относительно эффективности использования аналогов, схожих по физико-химическим свойствам, для регенерации раневых дефектов слизистой оболочки полости рта. На основании этой работы мы предполагаем, что пьезоэлектрические свойства биосовместимых полимерных мембран способствовали снижению экспрессии TGFβ1, что приводило к ингибированию его влияния на активность фибробластов и макрофагов. Благодаря этому происходило формирование рыхлой волокнистой соединительной ткани, в то время

как в группе с открытой раной происходило образование плотной волокнистой ткани и, как следствие, рубцевание. Подтверждением данного предположения являются данные, полученные при сравнительном исследовании пьезоэлектрических и диэлектрических покрытий при регенерации ран слизистой оболочки полости рта, в ходе которого была зафиксирована меньшая удельная площадь рубцовой ткани в группе с пьезоэлектрическим покрытием [7].

ВЫВОДЫ

В проведенном исследовании выявлено положительное влияние биосовместимых пьезоэлектрических мембран на предупреждение развития фиброза в процессе регенерации ран, что было подтверждено анализом взаимодействия клеток макрофагального и фибробластического ряда и экспрессии прогностических маркеров CD68 и TGFβ 1. Использование полимерных биосовместимых мембран в стоматологической практике поможет в перспективе снизить риск возникновения послеоперационных осложнений в виде рубцовой деформации мягких тканей ротовой полости. В перспективе планируется дальнейшее изучение влияния покровных мембран на регенерацию слизистой оболочки полости рта для усовершенствования их свойств.

Литература

1. Nikoloudaki G, Creber K, Hamilton DW. Wound healing and fibrosis: a contrasting role for periostin in skin and the oral mucosa. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020; 318 (6): C1065-C1077. DOI: 10.1152/ajpcell.00035.2020.
2. Griffin MF, Fahy EJ, King M, Guardino N, Chen K, Abbas DB, et al. Understanding scarring in the oral mucosa. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2022; 11 (10): 537–547. DOI: 10.1089/wound.2021.0038.
3. Smigiel KS, Parks WC. Macrophages, wound healing, and fibrosis: recent insights. *Curr Rheumatol Rep.* 2018; 20 (4): 17. DOI: 10.1007/s11926-018-0725-5.
4. Kim YJ, Carvalho FC, Souza JA, Gonçalves PC, Nogueira AV, Spolidório LC, et al. Topical application of the lectin Artin M accelerates wound healing in rat oral mucosa by enhancing TGF-β and VEGF production. *Wound Repair Regen.* 2013; 21 (3):

- 456–63. DOI: 10.1111/wrr.12041.
5. Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016; 8 (5): a021873. DOI: 10.1101/cshperspect.a021873. PMID: 27141051; PMCID: PMC4852809.
 6. Kuninaka Y, Ishida Y, Ishigami A, Nosaka M, Matsuki J, Yasuda H, et al. Macrophage polarity and wound age determination. *Sci Rep.* 2022; 12 (1): 20327. DOI: 10.1038/s41598-022-24577-9.
 7. Chernova UV, Varakuta EY, Koniaeva AD, Leyman AE, Sagdullaeva SA, Plotnikov E, et al. Piezoelectric and dielectric electrospun fluoropolymer membranes for oral mucosa regeneration: a comparative study. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2024. DOI: 10.1021/acsami.4c01867.
 8. Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник (vivariumов)»: постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 29.09.2014 № 51 [Электронный ресурс]. Справочно-правовая система «Консультант Плюс».
 9. Clause BT. The Wistar Rat as a right choice: establishing mammalian standards and the ideal of a standardized mammal. *J Hist Biol.* 1993; 26 (2): 329–49. DOI: 10.1007/BF01061973.
 10. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med.* 1985; 109 (8): 716–21. PMID: 3893381.
 11. Xu X, Gu S, Huang X, Ren J, Gu Y, Wei C, et al. The role of macrophages in the formation of hypertrophic scars and keloids. *Burn Trauma.* 2020; 8: tkaa006. DOI: 10.1093/burnst/tkaa006.
 12. Zhang T, Wang XF, Wang ZC, Lou D, Fang QQ, Hu YY, et al. Current potential therapeutic strategies targeting the TGF- β /Smad signaling pathway to attenuate keloid and hypertrophic scar formation. *Biomed Pharmacother.* 2020; 129: 110287. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110287.
 13. Shi A, Li J, Qiu X, Sabbah M, Boroumand S, Huang TC, et al. TGF- β loaded exosome enhances ischemic wound healing in vitro and in vivo. *Theranostics.* 2021; 11 (13): 6616–31. DOI: 10.7150/thno.57701.
 14. Liarte S, Bernabé-García Á, Nicolás FJ. Role of TGF- β in skin chronic wounds: a keratinocyte perspective. *Cells.* 2020; 9 (2): 306. DOI: 10.3390/cells9020306.
 15. Eslami A, Gallant-Behm CL, Hart DA, Wiebe C, Honardoust D, Gardner H, et al. Expression of integrin alphavbeta6 and TGF β in scarless vs scar-forming wound healing. *J Histochem Cytochem.* 2009; 57 (6): 543–57. DOI: 10.1369/jhc.2009.952572.

References

1. Nikoloudaki G, Creber K, Hamilton DW. Wound healing and fibrosis: a contrasting role for periostin in skin and the oral mucosa. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020; 318 (6): C1065–C1077. DOI: 10.1152/ajpcell.00035.2020.
2. Griffin MF, Fahy EJ, King M, Guardino N, Chen K, Abbas DB, et al. Understanding scarring in the oral mucosa. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2022; 11 (10): 537–547. DOI: 10.1089/wound.2021.0038.
3. Smigiel KS, Parks WC. Macrophages, wound healing, and fibrosis: recent insights. *Curr Rheumatol Rep.* 2018; 20 (4): 17. DOI: 10.1007/s11926-018-0725-5.
4. Kim YJ, Carvalho FC, Souza JA, Gonçalves PC, Nogueira AV, Spolidório LC, et al. Topical application of the lectin Artin M accelerates wound healing in rat oral mucosa by enhancing TGF- β and VEGF production. *Wound Repair Regen.* 2013; 21 (3): 456–63. DOI: 10.1111/wrr.12041.
5. Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016; 8 (5): a021873. DOI: 10.1101/cshperspect.a021873. PMID: 27141051; PMCID: PMC4852809.
6. Kuninaka Y, Ishida Y, Ishigami A, Nosaka M, Matsuki J, Yasuda H, et al. Macrophage polarity and wound age determination. *Sci Rep.* 2022; 12 (1): 20327. DOI: 10.1038/s41598-022-24577-9.
7. Chernova UV, Varakuta EY, Koniaeva AD, Leyman AE, Sagdullaeva SA, Plotnikov E, et al. Piezoelectric and dielectric electrospun fluoropolymer membranes for oral mucosa regeneration: a comparative study. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2024. DOI: 10.1021/acsami.4c01867.
8. Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник (vivariumов)»: постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 29.09.2014 № 51 [Электронный ресурс]. Справочно-правовая система «Консультант Плюс».
9. Clause BT. The Wistar Rat as a right choice: establishing mammalian standards and the ideal of a standardized mammal. *J Hist Biol.* 1993; 26 (2): 329–49. DOI: 10.1007/BF01061973.
10. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med.* 1985; 109 (8): 716–21. PMID: 3893381.
11. Xu X, Gu S, Huang X, Ren J, Gu Y, Wei C, et al. The role of macrophages in the formation of hypertrophic scars and keloids. *Burn Trauma.* 2020; 8: tkaa006. DOI: 10.1093/burnst/tkaa006.
12. Zhang T, Wang XF, Wang ZC, Lou D, Fang QQ, Hu YY, et al. Current potential therapeutic strategies targeting the TGF- β /Smad signaling pathway to attenuate keloid and hypertrophic scar formation. *Biomed Pharmacother.* 2020; 129: 110287. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110287.
13. Shi A, Li J, Qiu X, Sabbah M, Boroumand S, Huang TC, et al. TGF- β loaded exosome enhances ischemic wound healing in vitro and in vivo. *Theranostics.* 2021; 11 (13): 6616–31. DOI: 10.7150/thno.57701.
14. Liarte S, Bernabé-García Á, Nicolás FJ. Role of TGF- β in skin chronic wounds: a keratinocyte perspective. *Cells.* 2020; 9 (2): 306. DOI: 10.3390/cells9020306.
15. Eslami A, Gallant-Behm CL, Hart DA, Wiebe C, Honardoust D, Gardner H, et al. Expression of integrin alphavbeta6 and TGF β in scarless vs scar-forming wound healing. *J Histochem Cytochem.* 2009; 57 (6): 543–57. DOI: 10.1369/jhc.2009.952572.

ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ У ПОДРОСТКОВ: ТЕНДЕНЦИИ ОБРАЩЕНИЙ К ГИНЕКОЛОГАМ И ЖАЛОБ

О. О. Уйаныклар [✉], С. Рахимлы Очакоглу, З. Атак, Э. Суэр

Отделение акушерства и гинекологии, Городская больница Бурсы, Бурса, Турция

Подростковый период представляет собой ключевой этап перехода от детства к взрослости. Подростковая гинекология занимается лечением гинекологических проблем, возникающих в этот период. Основной целью работы было подчеркнуть важность подростковой гинекологии, исследовав гинекологические причины обращения подростков за медицинской помощью и особо отметив различия, которые необходимо учитывать при обращении за клинической помощью у таких пациентов. В ретроспективное когортное исследование, проведенное на базе специализированной университетской больницы, были включены лица подросткового возраста, обращавшиеся за экстренной помощью в отделение акушерства и гинекологии или в поликлинику. Был проанализирован целый ряд факторов, в том числе возраст, имеющиеся симптомы, результаты обследования, результаты ультразвукового исследования, лабораторные данные и необходимость госпитализации. Исследованную когорту составили 750 пациентов подросткового возраста, 71,3% из них обращались за гинекологической помощью. Подростки чаще всего обращались к врачу по поводу нарушений менструального цикла (57,6%), второй по значимости причиной была дисменорея. Результаты гинекологического обследования показали, что нарушения менструального цикла имели место у 62,9% пациентов. Из них у 53,4% были нерегулярные менструации, у 4,5% — продолжительные и/или обильные кровотечения, у 3% — аменорея. Ультразвуковое исследование выявило патологические изменения у 25,8% пациентов. Результаты исследования показали, что нарушения менструального цикла представляют собой наиболее широко распространенную в подростковой популяции гинекологическую проблему. Физиологические особенности подростков требуют особого подхода к диагностике и лечению по сравнению со взрослыми женщинами, что может негативно повлиять на будущую фертильность и общее репродуктивное здоровье.

Ключевые слова: подростковая патология, нарушения менструального цикла, подростковая гинекология, дисменорея, вагинит

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Городской больницы Бурсы (протокола № 2022-4/5).

✉ **Для корреспонденции:** Озлем Озгюн Уйаныклар
Отделение акушерства и гинекологии, Городская больница Бурсы, 16110, Нилуфер, Бурса, Турция; ozlemuyaniklar@gmail.com

Статья получена: 16.06.2024 **Статья принята к печати:** 22.08.2024 **Опубликована онлайн:** 31.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.035

DISCLOSING ADOLESCENTS' GYNECOLOGICAL CONCERNS: EXPLORING TRENDS IN ADOLESCENT GYNECOLOGY VISITS AND COMPLAINTS

Uyaniklar OO [✉], Rahimli Ocakoglu S, Atak Z, Suer E

Department of Obstetrics and Gynecology, Bursa City Hospital, Bursa, Turkey

Adolescence represents a pivotal phase in the transition from childhood to adulthood. Adolescent gynecology is the clinical specialty that focuses on the management of gynecologic problems during this period. This study's primary objective is to emphasize the importance of adolescent gynecology by examining the gynecological causes of adolescent presentations and highlighting the differences that warrant consideration in the clinical approach to adolescent patients. The study was designed as a retrospective cohort study in an academic tertiary hospital and included adolescent individuals presenting to the obstetrics and gynecology emergency department or outpatient clinic. The analysis encompassed a range of factors, including age, presenting symptoms, examination findings, ultrasound results, laboratory data, and the necessity for hospital admission. The study cohort comprised 750 adolescent patients, 71.3% seeking gynecological care. Adolescents most frequently presented for menstrual irregularities (57.6%) and secondly for dysmenorrhea. The results of the gynecological clinical evaluations indicated that 62.9% of the patients had menstrual disorders. Of these, 53.4% had irregular menstrual cycles, 4.5% had prolonged and/or heavy bleeding, and 3% had amenorrhea. Ultrasound imaging revealed the presence of pathological findings in 25.8% of the patients. In conclusion, this study's findings indicate that irregular menstrual cycles are the most common gynecological condition in the adolescent population. The physiological characteristics of adolescents require a distinct approach to diagnosis and treatment compared to adult women, which can significantly impact future fertility and overall reproductive health.

Keywords: adolescent pathologies, menstrual irregularity, adolescent gynecology, dysmenorrhea, vaginitis

Compliance with ethical standards: the study protocol was approved by the Bursa City Hospital Ethics Committee at the beginning of the study period (approval number: 2022-4/5).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ozlem Ozgun Uyaniklar
Department of Obstetrics and Gynecology, Bursa City Hospital, 16110, Nilüfer, Bursa, Turkey; ozlemuyaniklar@gmail.com

Received: 16.06.2024 **Accepted:** 22.08.2024 **Published online:** 31.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.035

Подростковый период представляет собой переход от детства к взрослой жизни, который обычно происходит в возрасте 10–19 лет [1]. Гинекологические проблемы, с которыми сталкиваются девочки-подростки, отличаются от гинекологических проблем взрослых женщин. Принципиальные различия в изменениях репродуктивной системы в подростковом возрасте возникают одновременно с началом выработки стероидных гормонов, которые способствуют развитию молочных желез, росту матки и появлению лобковых волос. Наступление менархе

указывает на начало циклической выработки гормонов яичников, приводящей к менструальным кровотечениям [2].

Подростковая гинекология — это отдельная область медицины, которая специализируется на репродуктивном здоровье и гинекологических проблемах подростков. Она имеет дело с уникальными потребностями и проблемами молодых девушек в переходный период между детством и взрослой жизнью.

Медицинских работников, специализирующихся в этой области, учат оказывать комплексную помощь

подросткам, включая профилактическую помощь, диагностику и лечение гинекологических заболеваний. Они сталкиваются с широким спектром проблем, таких как нарушения менструального цикла, контрацепция, инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), тазовые боли, аномальные кровотечения, синдром поликистозных яичников (СПКЯ) и проблемы, связанные с половым развитием [3].

Подростковая гинекология занимается также решением специфических репродуктивных проблем подростков, в том числе просвещением по вопросам безопасных сексуальных контактов, вакцинации от вируса папилломы человека (ВПЧ), консультированием по вопросам контрацепции и планирования семьи, а также изучением эмоциональных и психологических аспектов полового развития [4]. Согласно рекомендациям Американского колледжа акушерства и гинекологии (ACOG), первый визит к специалисту по репродуктивному здоровью должен состояться в возрасте 13–15 лет [5]. Освоение соответствующих методов первичного обследования играет решающую роль в формировании прочной связи с лицами из этой возрастной группы [4].

Подростковая гинекология представляет собой узкую специальность в сфере акушерства и гинекологии. Целью работы было подчеркнуть важность подростковой гинекологии, проанализировав гинекологические причины обращения подростков за медицинской помощью. Кроме того, работа нацелена на то, чтобы выявить различия между подростковой гинекологией и подходами к решению гинекологических проблем взрослых.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективное когортное исследование проведено на базе крупной специализированной больницы. Выполнен ретроспективный анализ электронных медицинских карт пациенток, обратившихся в клинику акушерства и гинекологии с июня 2021 г. по январь 2022 г. Критерии включения в исследование: возраст 10–18 лет; обращение за экстренной помощью в отделение акушерства и гинекологии или в поликлинику. Критерии исключения из исследования: отсутствие в медицинских картах пациенток достаточных данных. Оценивали причину обращения пациентки — были по причине беременности или жалобы на гинекологические проблемы. Пациенток, обратившихся в связи с беременностью, не включали в анализ. Кроме того, анализировали возраст пациенток, жалобы на момент обращения, результаты гинекологического обследования (если проводилось), результаты ультразвукового

исследования, результаты лабораторных исследований и необходимость госпитализации.

Возраст представляли как среднее \pm стандартное отклонение. Категориальные переменные представляли как n (%). Для статистического анализа использовали программу IBM SPSS Statistics для Windows (IBM Corp.; США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в исследование были включены 750 девочек-подростков (рис.). Из всех включенных в исследование 215 подростков (28,7%) обратились в больницу в связи с беременностью, в то время как 535 (71,3%) обратились за медицинской помощью из-за гинекологических проблем. Жалобы пациенток на момент обращения представлены в табл. 1. Большинство подростков обратилось за помощью в связи с нарушениями менструального цикла ($n = 309$; 57,6%), следующими по значимости причинами были дисменорея (12,7%), зуд в области вульвы/выделения из влагалища (9,5%), тазовые боли (5,6%) и гирсутизм (5,6%). Группа пациенток, обратившихся с жалобами на объемные образования придатков (5,2%), состояла из лиц, у которых объемные образования придатков были выявлены ранее с помощью методов медицинской визуализации. Помимо упомянутых выше жалоб при обращении были зафиксированы жалобы на обыкновенные угри (2,2%), консультирование по контрацепции (1%) и галакторею (3%).

Результаты клинического обследования пациенток представлены в табл. 2. Опрос, предполагавший сбор менструального анамнеза, показал, что 337 девочек-подростков (62,9%) имели нарушения менструального цикла. Среди пациенток с нарушениями менструального цикла 16 обратились по поводу аменореи. При этом 15 подростков описывали вторичную аменорею, а у одной пациентки была первичная аменорея. Проверка истории болезни пациентки показала, что в возрасте 16 лет ее вторичные половые признаки были нормально развиты. При проведении ультразвукового исследования (УЗИ) и МРТ не была обнаружена матка, поэтому пациентке предложили консультацию генетика.

У девочек, которым было выполнено УЗИ, признаки поликистоза яичников были выявлены в 89 случаях (16,6%), в то время как нормальные результаты УЗИ получены в 385 случаях (71,8%). Односторонние однокамерные анэхогенные кисты яичников крупнее 4 см были обнаружены у 35 девочек. Среди девочек с однокамерными анэхогенными кистами яичников четыре имели кисты размером 6–8 см. Ни в одном из случаев



Рис. Блок-схема, представляющая включенных в исследование пациентов

Таблица 1. Жалобы на момент обращения

	Частота (%)	
Обращение	Беременность	215 (28,7)
	Жалобы на гинекологические проблемы	535 (71,3)
Всего	750 (100)	
Жалобы подростков на гинекологические проблемы		
Нарушения менструального цикла	309 (57,6)	
Дисменорея	68 (12,7)	
Зуд в области вульвы/выделения из влагалища	51 (9,5)	
Тазовые боли	30 (5,6)	
Гирсутизм	30 (5,6)	
Объемные образования придатков	28 (5,2)	
Угри обыкновенные	12 (2,2)	
Консультирование по вопросам контрацепции	5 (1)	
Галакторея	3 (0,6)	

Примечание: данные представлены как *n* (%) для номинальных переменных.

не были обнаружены признаки перекрута, наблюдение за всеми пациентками осуществлялось в амбулаторных условиях. У пяти девочек (0,9%) были обнаружены геморрагические кисты яичников или желтое тело. Среди девочек с геморрагическими кистами яичников три жаловались на тазовые боли, а две — на нерегулярные кровотечения. У четырех девочек были диагностированы зрелые дермоидные кисты яичников; только у одной девочки, обратившейся по поводу дисменореи, была эндометриома размером 6,5 см.

Результаты лабораторных исследований также представлены в табл. 2. Гиперпролактинемия была выявлена у 31 подростка (5,8%) по результатам двух отдельных измерений. Пациенткам с повышенным уровнем СА-125 предлагали амбулаторное наблюдение по причине наличия сопутствующих кист яичников. Ни у одной из пациенток не было подозрения на злокачественное новообразование, а в описанных выше пяти случаях самое высокое значение уровня СА-125 составляло 166 ед./мл.

Госпитализированы были четыре пациентки (0,7%). Две госпитализированные пациентки поступили с обильными менструальными кровотечениями. Лечение предполагало внутривенное введение транексамовой кислоты и применение комбинации эстрогена и прогестерона. У пациентки, обратившейся по поводу дисменореи и хронической тазовой боли, УЗИ выявило многокамерную кисту размером 5,5 см в правом яичнике и однокамерную анэхогенную кисту размером 3 см в левом яичнике. Обследование брюшной полости не выявило признаков острого живота. В истории болезни пациентки было указано, что пять лет назад ей была выполнена операция по удалению доброкачественной кисты яичника. Из-за обнаружения повышенного уровня СА-125 (594 ед./мл) три месяца назад и устойчиво высокого уровня СА-125 на момент обращения (166 ед./мл) пациентке была предложена консультация онкогинеколога. Уровень лактатдегидрогеназы у пациентки составлял 110 ед./л, а уровень альфа-фетопротейна — 3,8 МЕ/л. Установлено, что уровень человеческого эпидидимального секреторного белка 4 (HE4) был нормальным три месяца назад. С учетом факта обнаружения многокамерной кисты размером 5,5 см, которая не была выявлена во время предыдущего исследования, у пациентки предположили наличие геморрагической кисты яичника, в связи с

чем ей ввели обезболивающий препарат. Четвертая госпитализированная пациентка обратилась в отделение неотложной помощи с болью в животе и была госпитализирована после УЗИ, выявившего однокамерную анэхогенную кисту размером 4 см и скопление жидкости в брюшной полости размером 3 см. Пациентку выписали на третьи сутки пребывания в стационаре, при этом в период стационарного наблюдения у нее не было выявлено снижение показателей гемоглобина/гематокрита.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашем исследовании нарушения менструального цикла были самой частой причиной обращения подростков за гинекологической помощью (57,6%). Подростковые гинекологи часто сталкиваются с жалобами на аномальные маточные кровотечения [6]. Молодые девушки и их родители могут обладать недостаточными знаниями о нормальных менструальных кровотечениях, поэтому их следует опрашивать, чтобы выяснить возраст менархе, регулярность и длительность менструального цикла [2]. Менархе обычно наступает в течение 2–3 лет после телархе (увеличение молочных желез) [7]. Несмотря на возможные различия, средний возраст менархе — 12–13 лет [8]. Однако из-за незрелости гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы и ановуляции менструации могут быть нерегулярными — при том, что обычно они происходят каждые 21–45 дней и продолжаются в течение семи дней или менее [2, 9].

Оценка обильных менструальных кровотечений у подростков имеет решающее значение для диагностики фонового нарушения свертываемости крови [10]. Для классификации обильных менструальных кровотечений следует использовать систему PALM-COEIN: Polyr (полип), Adenomyosis (аденомиоз), Leiomyoma (лейомиома), Malignancy and hyperplasia (малигнизация и гиперплазия), Coagulopathy (коагулопатия), Ovulatory dysfunction (овуляторная дисфункция), Endometrial (эндометриальное), Iatrogenic (ятрогенное) и Not otherwise classified (еще не классифицированы) [11]. Анатомические причины не являются частыми причинами обильных менструальных кровотечений у подростков [10]. Если в общей популяции нарушения свертываемости крови встречаются у 1–2%, то их распространенность среди подростков с обильными

Таблица 2. Менструальный анамнез, результаты обследования, ультразвукового и лабораторных исследований

Пациенты, обратившиеся по поводу гинекологических проблем	
Возраст	16,42 ± 1,73
Нарушения менструального цикла (всего)	337 (62,9)
Нерегулярные менструации (интервал > 45 или < 21 дней)	286 (53,4)
Длительные и/или обильные кровотечения	24 (4,5)
Межменструальные или прорывные кровотечения	11 (2,1)
Аменорея (первичная или вторичная)	16 (3)
Патологические изменения, обнаруженные при проведении ультразвукового исследования (всего)	138 (25,8)
Нормальные результаты ультразвукового исследования	385 (71,8)
Признаки поликистоза яичников	89 (16,6)
Однокамерная анэхогенная киста размером > 4 см	35 (6,5)
Геморрагическая киста яичника/ желтое тело	5 (0,9)
Зрелая дермоидная киста яичника	4 (0,7)
Кисты обоих яичников	3 (0,6)
Эндометриома	1 (0,2)
Жидкость в брюшной полости	1 (0,2)
Ультразвуковое исследование не проводилось	13 (2,4)
Ультразвуковое исследование проводилось	14 (2,6)
Гипотиреоз	4 (0,7)
Гиперпролактинемия	31 (5,8)
Повышенный уровень СА-125 (35 ед./мл)	5 (0,9)
Госпитализация	4 (0,7)
Амбулаторная помощь	531 (99,3)

Примечание: данные представлены как среднее ± SD и *n* (%) для номинальных переменных. Первичная аменорея: отсутствие наступления менархе до 15-летнего возраста у девочек-подростков с нормально развитыми вторичными половыми признаками. Вторичная аменорея: исчезновение ранее регулярных менструаций на 3 месяца или более или исчезновение бывших ранее нерегулярными менструаций на 6 месяцев или более. Признаки поликистоза яичников: объем любого из яичников 10 мл (рекомендации 2018 г.). Гипотиреоз: повышенный уровень ТТГ при низком или нормальном уровне Т4. Гипертиреоз: пониженный уровень ТТГ при повышенном уровне Т4 или Т3.

менструальными кровотечениями составляет 20% [12, 13]. В нашем исследовании 24 подростка (4,5%) поступили в больницу с обильными менструальными кровотечениями. Двое подростков были госпитализированы и получили лечение по поводу обильных менструальных кровотечений. «Гемодинамически нестабильных» подростков с обильными кровотечениями следует госпитализировать, как это было сделано в описанных случаях [10]. Обеим пациенткам давали монофазный комбинированный оральные контрацептивы и вводили транексамовую кислоту в соответствии с рекомендациями [10, 14].

На первой стадии лечения острого кровотечения применяют медикаментозное лечение, которое выбирают в зависимости от гемодинамического статуса пациента и вероятной этиологии кровотечения. В нашем исследовании медикаментозное лечение двух госпитализированных пациенток могло быть реализовано в виде гормональной, негормональной или комбинированной терапии [13]. Основным методом лечения острых кровотечений является внутривенное введение конъюгированных эстрогенов каждые 4–6 ч. В качестве альтернативы следует применять монофазные комбинированные оральные контрацептивы каждые 6–8 ч до тех пор, пока кровотечение не прекратится. У подростков, которые не переносят эстрогены, можно использовать прогестиновые препараты — например, медроксипрогестерон 10–20 мг перорально каждые 6–12 ч или норэтистерона ацетат 5–10 мг каждые 6 ч [15].

Подростков, у которых первая менструация не наступила до 15-летнего возраста и у которых менструации отсутствуют на протяжении трех лет после телархе,

необходимо обследовать на предмет первичной аменореи. При отсутствии развития молочных желез до 13-летнего возраста также необходимо обследование на предмет задержки полового созревания [16]. Подростков, у которых интервал между менструациями составляет более трех месяцев или нет менструаций более шести месяцев, нужно обследовать на предмет вторичной аменореи [17]. В нашем исследовании первичная аменорея была у одной обратившейся за помощью пациентки. При проведении УЗИ не была обнаружена матка, а по результатам МРТ малого таза была выявлена агенезия мюллеровых протоков. При проведении дифференциальной диагностики у пациентки, обратившейся по поводу первичной аменореи, следует включить в перечень синдром нечувствительности к андрогенам, агенезию дистальной части влагалища, поперечную перегородку влагалища, неперфорированную девственную плеву и агенезию шейки матки [18]. Кроме того, таким пациенткам необходимо обследование на предмет выявления аномалий почек [18].

Дисменорея представляет собой наиболее часто упоминаемый в литературе связанный с менструацией симптом, встречающийся у девочек-подростков: его частота составляет 50–90% [19]. Кроме того, наше исследование показало, что дисменорея была самой частой причиной обращения подростков за гинекологической помощью после нарушений менструального цикла (12,7%). Дисменорея, или боли во время менструации, может существенно повлиять на повседневную деятельность и качество жизни девочек-подростков; она является частой причиной пропуска школьных занятий [20]. Первичная дисменорея — это боли

во время менструации в отсутствие какой-либо патологии малого таза. Определенную роль в этиологии заболевания играют простогландины. Вторичная дисменорея представляет собой боли во время менструации, связанные с патологическими изменениями в органах малого таза или обусловленные заболеванием. Наиболее частой причиной вторичной дисменореи у подростков является эндометриоз [21]. В нашем исследовании с помощью УЗИ была выявлена эндометриома у одной пациентки. В исследованной популяции вероятнее всего было больше случаев эндометриоза; эндометриоз брюшины может быть диагностирован только с помощью лапароскопии. Этиология вторичной дисменореи включает в себя и другие факторы, такие как аденомиоз, инфекции, аномалии мюллеровых протоков, obstructивные аномалии мочеполовой системы, миомы и кисты яичников [20].

Симптомы СПКЯ, характеризующегося в первую очередь овуляторной дисфункцией и избыточной выработкой андрогенов (гиперандрогения), часто проявляются в подростковом возрасте [22]. Подростков, у которых есть гирсутизм или не поддающиеся лечению воспалительные формы акне, сопровождающиеся нарушениями менструального цикла (аменореей, олигоменореей или обильными менструальными кровотечениями), черным акантозом и/или ожирением, необходимо обследовать на предмет СПКЯ [22]. При проведении УЗИ признаки поликистоза яичников также часто выявляют у здоровых подростков; по этой причине они не были включены в перечень диагностических критериев СПКЯ для подростков в 2015 г. [23]. В нашей работе УЗИ выявило признаки поликистоза яичников у 89 подростков. При этом важно подчеркнуть, что у подростков они не являются диагностическим критерием СПКЯ.

Вульвовагинит, представляющий собой часто встречающуюся у подростков гинекологическую проблему, характеризуется наличием выделений, боли, отека, зуда и дискомфорта [24]. Этиология подросткового вульвовагинита может быть многофакторной — заболевание может быть вызвано плохой гигиеной, химическими раздражителями, инфекционными агентами и гормональными изменениями, связанными с половым созреванием. Наиболее частыми причинами вагинита у подростков являются бактериальный вагиноз, вульвовагинальный кандидоз и инфицирование *Trichomonas vaginalis* [24]. В нашем когортном исследовании 51 подросток (9,5%) обратился с жалобами на выделения из влагалища или зуд в области вульвы. Помимо инфекционных агентов этиологические факторы включают несоблюдение правил гигиены, химические раздражители и средства женской гигиены. У подростков сбор полного анамнеза и выяснение информации о половой активности имеют решающее значение для точной диагностики и эффективного лечения.

У подростков объемные образования яичников могут быть случайно выявлены при применении методов медицинской визуализации, они также могут вызывать такие симптомы, как тазовая боль, нарушения менструального цикла или признаки преждевременного полового созревания [25]. Большинство объемных образований яичников, которые выявляют у девочек-подростков, представляют собой физиологические кисты

яичников или являются доброкачественными. В нашей работе у подростка, обратившегося с болью в животе, при проведении УЗИ были обнаружены многокамерная киста размером 5,5 см и однокамерная анехогенная киста размером 3 см. Пациентку госпитализировали, она прошла медикаментозное лечение и обследование на предмет наличия злокачественных новообразований.

При лечении объемных образований придатков у подростков приоритет следует отдавать сохранению яичников для обеспечения фертильности [26]. Показаниями к хирургическому вмешательству являются подозрение на злокачественное новообразование, перекрут яичника, персистирующая опухоль и острая боль в животе [26]. Согласно метаанализу, опубликованному в 2020 г., злокачественные новообразования встречаются примерно у 10–20% пациентов, у которых имело место хирургическое вмешательство по поводу кист яичников [27]. Герминогенные опухоли представляют собой самые часто встречающиеся у детей и подростков злокачественные новообразования; при подозрении на герминогенную опухоль необходимо выполнить анализ на АФП, β -ХГЧ и лактатдегидрогеназу [28, 29]. Причина отсутствия хирургических случаев в группе включенных в исследование пациентов заключается в том, что пациенты с болями в животе или острыми заболеваниями брюшной полости обращались за помощью к детским хирургам или их лечение у детских хирургов напрямую координировало отделение педиатрии.

У нашего исследования есть ряд преимуществ и ограничений. Ретроспективный дизайн и одноцентровый характер могут ограничивать мощность исследования. Сильными сторонами работы являются проведение исследования на базе крупной специализированной больницы и большая выборка пациентов.

ВЫВОДЫ

Подростковая гинекология отличается от гинекологии для взрослых из-за физиологических и психологических особенностей подросткового периода. Из-за возможного психологического воздействия первого гинекологического осмотра на подростков решающее значение имеет знание соответствующих методов обследования и специализированный подход. В нашем исследовании подростки чаще всего обращались за медицинской помощью из-за нарушений менструального цикла. Важно различать нормальные паттерны менструального цикла, фиксируемые в период полового созревания, и аномальные менструальные кровотечения. Такие заболевания как СПКЯ и эндометриоз могут проявиться в подростковый период и в дальнейшем повлиять на фертильность. У подростков могут быть выявлены врожденные аномалии женской репродуктивной системы — как симптоматические, так и бессимптомные. Точная диагностика играет решающую роль в сохранении фертильности и имеет значимые психологические и социальные последствия. Наше исследование дает ценную информацию об эпидемиологии гинекологических заболеваний у подростков, которая может быть использована при разработке стратегий в области здравоохранения и вмешательств для этой уязвимой группы населения.

Литература

- Adolescent health. World Health Organization n.d. Available from: <https://www.who.int/health-topics/adolescent-health> (accessed June 18, 2023).
- ACOG Committee Opinion No. 651: Menstruation in girls and adolescents: using the menstrual cycle as a vital sign. *Obstetrics and Gynecology* 2015; 126: e143–6.
- Snook ML, Nayak S, Lara-Torre E, Sanfilippo JS. Adolescent gynecology: special considerations for special patients gynecologic evaluation of the adolescent. *Clin Obstet Gynecol* 2012; 55: 651–61.
- Sanfilippo JS, Lara-Torre E. Adolescent gynecology. *Obstetrics and Gynecology* 2009; 113: 935–47. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0B013E31819B6303>.
- The Initial Reproductive Health Visit: ACOG Committee Opinion, Number 811. *Obstetrics and Gynecology* 2020; 136: 70–80. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004094>.
- Roos EJ, Simms-Cendan J, Cheung C, Laufer D, Grover SR. Pediatric and adolescent gynecology through a global lens. *International Journal Gynecology Obstetrics*. 2022; 156: 189–96. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13723>.
- Biro FM, Huang B, Crawford PB, Lucky AW, Striegel-Moore R, Barton BA, et al. Pubertal correlates in black and white girls. *J Pediatr*. 2006; 148: 234–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2005.10.020>.
- Chumlea WC, Schubert CM, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH, et al. Age at menarche and racial comparisons in US girls. *Pediatrics*. 2003; 111: 110–3. Available from: <https://doi.org/10.1542/PEDS.111.1.110>.
- Sun BZ, Kangaroo T, Adams JM, Sluss PM, Welt CK, Chandler DW, et al. Healthy post-menarchal adolescent girls demonstrate multi-level reproductive axis immaturity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2018; 104: 613–23. Available from: <https://doi.org/10.1210/clinem.2018-00595>.
- Screening and management of bleeding disorders in adolescents with heavy menstrual bleeding: ACOG COMMITTEE OPINION, Number 785. *Obstetrics and Gynecology* 2019; 134: E71–83. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003411>.
- ACOG committee opinion no. 557: Management of acute abnormal uterine bleeding in nonpregnant reproductive-aged women. *Obstetrics and Gynecology*. 2013; 121: 891–6. Available from: <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000428646.67925.9A>.
- Venkateswaran L, Dietrich JE. Gynecologic concerns in pubertal females with blood disorders. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2013; 26: 80–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPAG.2012.07.001>.
- Haamid F, Sass AE, Dietrich JE. Heavy menstrual bleeding in adolescents. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2017; 30: 335–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPAG.2017.01.002>.
- James AH, Kouides PA, Abdul-Kadir R, Dietrich JE, Edlund M, Federici AB, et al. Evaluation and management of acute menorrhagia in women with and without underlying bleeding disorders: consensus from an international expert panel. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158: 124–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2011.04.025>.
- Ely JW, Kennedy CM, Clark EC, Bowdler NC. Abnormal uterine bleeding: a management algorithm. *J Am Board Fam Med* 2006; 19: 590–602. Available from: <https://doi.org/10.3122/JABFM.19.6.590>.
- Sultan C, Gaspari L, Maimoun L, Kalfa N, Paris F. Disorders of puberty. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018; 48: 62–89. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2017.11.004>.
- Rosenfield RL. Clinical review: Adolescent anovulation: maturational mechanisms and implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98: 3572–83. Available from: <https://doi.org/10.1210/JC.2013-1770>.
- Pfeifer SM, Attaran M, Goldstein J, Lindheim SR, Petrozza JC, Rackow BW, et al. ASRM müllerian anomalies classification 2021. *Fertil Steril*. 2021; 116: 1238–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2021.09.025>.
- Al-Jefout M, Nawaiseh N. Continuous Norethisterone Acetate versus Cyclical Drospirenone 3 mg/Ethinyl Estradiol 20 µg for the Management of Primary Dysmenorrhea in Young Adult Women. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2016; 29: 143–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2015.08.009>.
- ACOG Committee Opinion No. 760: Dysmenorrhea and endometriosis in the adolescent. *Obstetrics and Gynecology* 2018; 132: E249–58. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002978>.
- Janssen EB, Rijkers ACM, Hoppenbrouwers K, Meuleman C, D’Hooghe TM. Prevalence of endometriosis diagnosed by laparoscopy in adolescents with dysmenorrhea or chronic pelvic pain: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2013; 19: 570–82. Available from: <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMT016>.
- Ibáñez L, Oberfield SE, Witchel S, Auchus RJ, Chang RJ, Codner E, et al. An International Consortium Update: pathophysiology, diagnosis, and treatment of polycystic ovarian syndrome in Adolescence. *Horm Res Paediatr* 2017; 88: 371–95. Available from: <https://doi.org/10.1159/000479371>.
- ACOG Committee Opinion, Number 789; screening and management of the hyperandrogenic adolescent. *Obstetrics and Gynecology*. 2019; 134: E106–14. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003475>.
- Itriyeva K. Evaluation of vulvovaginitis in the adolescent patient. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2020; 50. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.CPPEDS.2020.100836>.
- Heo SH, Kim JW, Shin SS, Jeong SI, Lim HS, Choi YD, et al. Review of ovarian tumors in children and adolescents: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 2014; 34: 2039–55. Available from: <https://doi.org/10.1148/RG.347130144>.
- Eskander R, Berman M, Keder L. Practice Bulletin No. 174: Evaluation and management of adnexal masses. *Obstetrics and Gynecology*. 2016; 128: e210–26. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001768>.
- Qazi SH, Jeelani SM, Dogar SA, Das JK, Saxena AK. Approaches to the management of pediatric ovarian masses in the 21st century: Systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Surg*. 2020; 55: 357–68. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2019.09.003>.
- Gupta B, Guleria K, Suneja A, Vaid NB, Rajaram S, Wadhwa N. Adolescent ovarian masses: A retrospective analysis. *J Obstet Gynaecol*. 2016; 36: 515–7. Available from: <https://doi.org/10.3109/01443615.2015.1103721>.
- Papic JC, Finnell SME, Slaven JE, Billmire DF, Rescorla FJ, Leys CM. Predictors of ovarian malignancy in children: overcoming clinical barriers of ovarian preservation. *J Pediatr Surg*. 2014; 49: 144–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2013.09.068>.

References

- Adolescent health. World Health Organization n.d. Available from: <https://www.who.int/health-topics/adolescent-health> (accessed June 18, 2023).
- ACOG Committee Opinion No. 651: Menstruation in girls and adolescents: using the menstrual cycle as a vital sign. *Obstetrics and Gynecology* 2015; 126: e143–6.
- Snook ML, Nayak S, Lara-Torre E, Sanfilippo JS. Adolescent gynecology: special considerations for special patients gynecologic evaluation of the adolescent. *Clin Obstet Gynecol* 2012; 55: 651–61.
- Sanfilippo JS, Lara-Torre E. Adolescent gynecology. *Obstetrics and Gynecology* 2009; 113: 935–47. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0B013E31819B6303>.
- The Initial Reproductive Health Visit: ACOG Committee Opinion, Number 811. *Obstetrics and Gynecology* 2020; 136: 70–80. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000004094>.
- Roos EJ, Simms-Cendan J, Cheung C, Laufer D, Grover SR. Pediatric and adolescent gynecology through a global lens. *International Journal Gynecology Obstetrics*. 2022; 156: 189–96. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijgo.13723>.
- Biro FM, Huang B, Crawford PB, Lucky AW, Striegel-Moore R, Barton BA, et al. Pubertal correlates in black and

- white girls. *J Pediatr*. 2006; 148: 234–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2005.10.020>.
8. Chumlea WC, Schubert CM, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH, et al. Age at menarche and racial comparisons in US girls. *Pediatrics*. 2003; 111: 110–3. Available from: <https://doi.org/10.1542/PEDS.111.1.110>.
 9. Sun BZ, Kangaroo T, Adams JM, Sluss PM, Welt CK, Chandler DW, et al. Healthy post-menarchal adolescent girls demonstrate multi-level reproductive axis immaturity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2018; 104: 613–23. Available from: <https://doi.org/10.1210/jc.2018-00595>.
 10. Screening and management of bleeding disorders in adolescents with heavy menstrual bleeding: ACOG COMMITTEE OPINION, Number 785. *Obstetrics and Gynecology* 2019; 134: E71–83. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003411>.
 11. ACOG committee opinion no. 557: Management of acute abnormal uterine bleeding in nonpregnant reproductive-aged women. *Obstetrics and Gynecology*. 2013; 121: 891–6. Available from: <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000428646.67925.9A>.
 12. Venkateswaran L, Dietrich JE. Gynecologic concerns in pubertal females with blood disorders. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2013; 26: 80–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPAG.2012.07.001>.
 13. Haamid F, Sass AE, Dietrich JE. Heavy menstrual bleeding in adolescents. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2017; 30: 335–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPAG.2017.01.002>.
 14. James AH, Kouides PA, Abdul-Kadir R, Dietrich JE, Edlund M, Federici AB, et al. Evaluation and management of acute menorrhagia in women with and without underlying bleeding disorders: consensus from an international expert panel. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158: 124–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2011.04.025>.
 15. Ely JW, Kennedy CM, Clark EC, Bowdler NC. Abnormal uterine bleeding: a management algorithm. *J Am Board Fam Med* 2006; 19: 590–602. Available from: <https://doi.org/10.3122/JABFM.19.6.590>.
 16. Sultan C, Gaspari L, Maimoun L, Kalfa N, Paris F. Disorders of puberty. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018; 48: 62–89. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2017.11.004>.
 17. Rosenfield RL. Clinical review: Adolescent anovulation: maturational mechanisms and implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98: 3572–83. Available from: <https://doi.org/10.1210/JC.2013-1770>.
 18. Pfeifer SM, Attaran M, Goldstein J, Lindheim SR, Petrozza JC, Rackow BW, et al. ASRM müllerian anomalies classification 2021. *Fertil Steril*. 2021; 116: 1238–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2021.09.025>.
 19. Al-Jefout M, Nawaiseh N. Continuous Norethisterone Acetate versus Cyclical Drospirenone 3 mg/Ethinyl Estradiol 20 µg for the Management of Primary Dysmenorrhea in Young Adult Women. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2016; 29: 143–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpag.2015.08.009>.
 20. ACOG Committee Opinion No. 760: Dysmenorrhea and endometriosis in the adolescent. *Obstetrics and Gynecology* 2018; 132: E249–58. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002978>.
 21. Janssen EB, Rijkers ACM, Hoppenbrouwers K, Meuleman C, D'Hooghe TM. Prevalence of endometriosis diagnosed by laparoscopy in adolescents with dysmenorrhea or chronic pelvic pain: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2013; 19: 570–82. Available from: <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMT016>.
 22. Ibáñez L, Oberfield SE, Witchel S, Auchus RJ, Chang RJ, Codner E, et al. An International Consortium Update: pathophysiology, diagnosis, and treatment of polycystic ovarian syndrome in Adolescence. *Horm Res Paediatr* 2017; 88: 371–95. Available from: <https://doi.org/10.1159/000479371>.
 23. ACOG Committee Opinion, Number 789; screening and management of the hyperandrogenic adolescent. *Obstetrics and Gynecology*. 2019; 134: E106–14. Available from: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003475>.
 24. Itriyeva K. Evaluation of vulvovaginitis in the adolescent patient. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2020; 50. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.CPPEDS.2020.100836>.
 25. Heo SH, Kim JW, Shin SS, Jeong SI, Lim HS, Choi YD, et al. Review of ovarian tumors in children and adolescents: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 2014; 34: 2039–55. Available from: <https://doi.org/10.1148/RG.347130144>.
 26. Eskander R, Berman M, Keder L. Practice Bulletin No. 174: Evaluation and management of adnexal masses. *Obstetrics and Gynecology*. 2016; 128: e210–26. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001768>.
 27. Qazi SH, Jeelani SM, Dogar SA, Das JK, Saxena AK. Approaches to the management of pediatric ovarian masses in the 21st century: Systematic review and meta-analysis. *J Pediatr Surg*. 2020; 55: 357–68. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2019.09.003>.
 28. Gupta B, Guleria K, Suneja A, Vaid NB, Rajaram S, Wadhwa N. Adolescent ovarian masses: A retrospective analysis. *J Obstet Gynaecol*. 2016; 36: 515–7. Available from: <https://doi.org/10.3109/01443615.2015.1103721>.
 29. Papic JC, Finnell SME, Slaven JE, Billmire DF, Rescorla FJ, Leys CM. Predictors of ovarian malignancy in children: overcoming clinical barriers of ovarian preservation. *J Pediatr Surg*. 2014; 49: 144–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/J.JPEDI.2013.09.068>.

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ АМИНОКИСЛОТ И ПОЛИАМИНОВ КРОВИ ПРИ АССОЦИИРОВАННЫХ С ПЛАЦЕНТОЙ ОСЛОЖНЕНИЯХ БЕРЕМЕННОСТИ

А. П. Гасанбекова¹, Н. А. Франкевич^{1✉}, В. В. Чаговец¹, Е. Л. Дербенцева¹, А. В. Новоселова¹, Т. Э. Карапетян¹, Г. Э. Мамедова², В. Е. Франкевич^{1,3}

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

² Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

³ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Особенности метаболизма полиаминов и аминокислот играют ключевую роль в клеточных процессах, а поиск их роли в качестве прогностических и диагностических (оценка тяжести состояния плода) маркеров в акушерстве может способствовать улучшению перинатальных исходов при синдроме задержки роста плода (ЗРП), как изолированном, так и сочетанном с ранней преэклампсией (ПЭ). Целью исследования было определить особенности уровней полиаминов и аминокислот, сопряженных с плацента-ассоциированными осложнениями беременности. С помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием были определены уровни полиаминов и аминокислот в крови 156 беременных женщин, разделенных на группы: с ЗРП — 48 беременных, с ранней ПЭ — 56 беременных, в контрольной группе — 52 соматически здоровых женщины с беременностью без осложнений. В результате удалось выделить значимые отличия данных метаболитов, в зависимости от акушерского осложнения (ПЭ или ЗРП) и установить их корреляционную зависимость с рядом клинических данных. Обнаружена сильная обратная корреляционная связь с нарастанием декомпенсации состояния плода при ЗРП и числом койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным для групп ПЭ и ЗРП и уровнем полиамина 1,7-диаминогептан ($r = -0,78$, $CI = -0,92 - -0,37$, $p = 0,002$; $r = -0,76$, $CI = -0,95 - 0,23$, $p = 0,003$) и аминокислотой пролин и нарастанием декомпенсации состояния плода при ЗРП ($r = -0,56$, $CI = -0,86 - -0,034$, $p = 0,03$). Учитывая многообразие и сложность метаболических путей, ответственных за адаптацию в условиях гипоксического поражения, на основании полученных результатов, можно предположить, что регуляция аминокислот и полиаминов является координированной. Пути метаболизма низкомолекулярных антиоксидантов — пролина и полиаминов ассоциированы с клиническими исходами беременности при ЗРП и ранней ПЭ.

Ключевые слова: задержка внутриутробного развития, ограничение роста плода, преэклампсия, метаболомика, новорожденный, масс-спектрометрия, биомаркеры, полиамины, аминокислоты

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 22-15-00232 «Новые неинвазивные диагностические подходы для оптимизации акушерской тактики, прогнозирования перинатальных исходов и профилактики нарушений постнатального роста при синдроме задержки роста плода».

Вклад авторов: А. П. Гасанбекова — сбор и подготовка биологических сред, написание статьи; Н. А. Франкевич — анализ клинических данных, систематический анализ, написание статьи; В. В. Чаговец — проведение метаболомного анализа методом масс-спектрометрии, статистический анализ полученных данных, редактирование статьи; Е. Л. Долгополова — анализ клинических данных, статистическая обработка данных; А. В. Новоселова — проведение метаболомного анализа методом масс-спектрометрии, обработка масс-спектрометрических данных; Т. Э. Карапетян — анализ клинических данных, редактирование рукописи; Г. Э. Мамедова — сбор и подготовка биологических сред; В. Е. Франкевич — подготовка и контроль, редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом НЦАГиП имени 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.

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Анатольевна Франкевич
ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117997, Россия; natasha-lomova@yandex.ru

Статья получена: 21.06.2024 **Статья принята к печати:** 24.07.2024 **Опубликована онлайн:** 15.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.031

ASSESSMENT OF BLOOD AMINO ACID AND POLYAMINE LEVELS IN PLACENTA-ASSOCIATED PREGNANCY COMPLICATIONS

Gasanbekova AP¹, Frankevich NA^{1✉}, Chagovets VV¹, Dolgoplova EL¹, Novoselova AV¹, Karapetyan TE¹, Mamedova GE², Frankevich VE^{1,3}

¹ Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

³ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

The features of polyamine and amino acid metabolism play a key role in the cellular processes, and the search for their role as prognostic and diagnostic (assessment of fetal condition severity) markers in obstetrics can contribute to improvement of perinatal outcomes in fetal growth restriction (FGR) syndrome, both isolated and combined with early onset preeclampsia (PE). The study was aimed to determine the features of polyamine and amino acid levels associated with placenta-associated pregnancy complications. Liquid chromatography coupled with mass spectrometry was used to determine blood levels of polyamines and amino acids in 156 pregnant women divided into the following groups: with FGR — 48 pregnant women, with early onset PE — 56 pregnant women, control group — 52 somatically healthy women having no pregnancy complications. As a result, we managed to distinguish significant differences in these metabolites, depending on the obstetric complication (PE or FGR), and to determine correlations of those with a number of clinical data. We revealed a strong negative correlation between the increasing fetal condition decompensation in FGR and the length of the newborn's hospital stay for the PE and FGR groups, as well as between the levels of 1,7-diaminoheptane polyamine ($r = -0,78$, $CI = -0,92 - -0,37$, $p = 0,002$; $r = -0,76$, $CI = -0,95 - 0,23$, $p = 0,003$) and proline amino acid and the increasing fetal condition decompensation in FGR ($r = -0,56$, $CI = -0,86 - -0,034$, $p = 0,03$). Considering the diversity and complexity of metabolic pathways responsible for adaptation in the context of hypoxic damage, the results obtained suggest that regulation of amino acids and polyamines is coordinated. Metabolic pathways of low molecular weight antioxidants, proline and polyamines, are associated with clinical pregnancy outcomes in FGR and early-onset PE.

Keywords: intrauterine growth restriction, fetal growth restriction, preeclampsia, metabolomics, newborn, mass spectrometry, biomarkers, polyamines, aminoacids

Funding: the study was supported by the RSF grant No. 22-15-00232 "New Noninvasive Diagnostic Approaches for Optimization of Obstetric Tactics, Prediction of Perinatal Outcomes, and Prevention of Abnormal Postnatal Growth in Fetal Growth Restriction Syndrome".

Author contribution: Gasanbekova AP — collection and preparation of biological media, manuscript writing; Frankevich NA — clinical data analysis, systematic analysis, manuscript writing; Chagovets VV — metabolomics analysis by mass spectrometry, statistical analysis of the data acquired, manuscript editing; Dolgoplova EL — clinical data analysis, statistical data processing; Novoselova AV — metabolomics analysis by mass spectrometry, mass spectrometry data processing; Karapetyan TE — clinical data analysis, manuscript editing; Mamedova GE — collection and preparation of biological media; Frankevich VE — preparation and control, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (protocol No. 11 dated 11 November 2021), the study met the requirements of the Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonization (ICF), Good Clinical Practice (GCP), and Federal Law "On the Basics of Protecting Citizens' Health in the Russian Federation"; the informed consent was submitted by all patients.

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia A. Frankevich
Akademika Oparina, 4, Moscow, 117997, Russia; natasha-lomova@yandex.ru

Received: 21.06.2024 **Accepted:** 24.07.2024 **Published online:** 15.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.031

Полиамины представляют собой полимерные молекулы, содержащие несколько аминогрупп. Они участвуют в широком спектре биохимических процессов, таких как формирование мембранного потенциала, стабилизация ДНК и РНК, активация ферментов и транспорт ионов, а также участвуют в регуляции генной экспрессии, синтезе белков, оказывают антиоксидантное действие, влияют на иммунную систему организма [1–2].

Поскольку полиамины образуются из аминокислот [3], их можно считать неотъемлемой частью метаболизма аминокислот и клеточной регуляции [4]. Уровни полиаминов могут регулироваться путем изменения биодоступности и концентрации аминокислот, необходимых для их синтеза [5]. Для того чтобы полиамины могли выполнять свои функции в различных клетках и тканях, они должны проникать через клеточные мембраны. Этот процесс включает в себя транспортные системы, в которых аминокислоты обеспечивают их перенос через мембраны. Следовательно, связь между биосинтезом полиаминов, но и их влияние на клеточные процессы, включая регуляцию белков и взаимодействие с клеточными мембранами. Это комплексная область исследования, которая имеет большое значение для понимания физиологии и биохимии клеток.

Медицинское применение полиаминов все еще находится в стадии развития, но уже существует несколько направлений, в которых эти молекулы могут быть использованы в качестве биомаркеров для диагностики различных заболеваний: рака [6, 7], нейродегенеративных нарушений [8], инфекционных болезней и аутоиммунных расстройств [9].

В акушерстве полиамины связаны с различными аспектами беременности и родов [10], включая процессы клеточного роста и дифференцировки при развитии органов и систем плода [11–13]. Связь между аминокислотами и полиаминами имеет важное клиническое значение. Такая незаменимая аминокислота, как аргинин является предшественником полиаминов. Аргинин преобразуется в полиамин спермидин и спермин через серию биохимических реакций. Кадаверин тоже может синтезироваться из аргинина и участвовать в регуляции ряда клеточных процессов. Низкие уровни аргинина, лизина и аспарагиновой кислоты могут играть важную роль в процессах, приводящих к задержке роста плода (ЗРП). Аргинин, лизин и аспарагиновая кислота не только участвуют в синтезе белков, но и имеют важное значение для многих биохимических путей и функций организма [14]. Аргинин является предшественником оксида азота (NO) (NO), который играет важную роль в регуляции сосудистой функции. NO расширяет сосуды и улучшает кровоток, а это ключевой фактор для обеспечения нормального роста и развития плода. Низкие уровни аргинина могут снизить производство NO и ухудшить сосудистую реакцию, что ограничит поступление питательных веществ к плоду [15]. Недостаток лизина может привести к снижению синтеза отдельных белков и повлиять на рост плода. Кроме того, лизин участвует в метаболизме жира и углеводов, и низкие уровни этой аминокислоты могут нарушить энергетическое обеспечение плода. Аспарагиновая кислота может влиять на метаболические пути других аминокислот, в том числе связанные с ростом и развитием плода.

Аминокислоты играют роль в регуляции артериального давления и функции сосудов. Исследования показывают, что изменения в аминокислотном профиле матери могут

быть связаны с развитием преэклампсии (ПЭ). Например, высокие уровни глутаминовой и аспарагиновой кислот ассоциированы с риском развития преэклампсии [16].

Определение уровней аминокислот и полиаминов в организме матери и плода может предоставить ценную информацию о риске развития ЗРП и ПЭ. Исследования продолжаются, и более глубокое понимание связи между аминокислотами, полиаминами и этими акушерскими состояниями может привести к разработке более эффективных методов диагностики и мониторинга беременностей, а также к улучшению стратегий лечения и профилактики.

Целью исследования было определить особенности уровней полиаминов и аминокислот, сопряженных с плацента-ассоциированными осложнениями беременности, в частности, при ЗРП (как изолированном, так и сочетанном с ранней ПЭ), а также выявить клинико-лабораторные параллели при ЗРП и ПЭ по данным корреляционного анализа связи уровня значимых полиаминов и аминокислот и таких клинических показателей, как тяжесть течения ЗРП и ПЭ, число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным, рожденным от матерей групп ПЭ и ЗРП.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 156 беременных, которые поступили и были родоразрешены в ФБГУ «НМИЦ АГП имени В. И. Кулакова» Минздрава России: группы ПЭ и ЗРП составили 56 и 48 пациенток с подтвержденными соответствующими диагнозами; в контрольную группу вошли 52 соматически здоровые женщины с беременностью без осложнений. Критерии включения в исследование: возраст беременных 18–35 лет, наличие одноплодной беременности на сроке 24–40 недель, ранняя преэклампсия и задержка роста плода. Критерии исключения: наличие резус- и АВ0-изоиммунизации, хромосомные аномалии, генетические мутации и врожденные пороки развития у плода, наличие у матери тяжелой экстрагенитальной патологии, хронических заболеваний почек, миомы матки больших размеров, острых инфекционных заболеваний. Для анализа была собрана венозная кровь.

Метод анализа полиаминов

Оптимизированная процедура приготовления образцов крови для анализа содержания полиаминов включает следующие этапы: к 400 мкл плазмы крови добавить 1200 мкл метанола, перемешивать 5 мин, центрифугировать 10 мин при 13 000 g (центрифуга Eppendorf MiniSpin, Германия), отобрать 1000 мкл надосадочной жидкости, высушить в токе азота при температуре 50 °С, добавить 600 мкл раствора дансилхлорида с концентрацией 10 мг/мл в ацетонитрил/карбонатном буферном растворе с pH = 9,7 (50/50 об./об.), перемешивать 1 мин, центрифугировать 1 мин при 13 000 g, инкубировать при 60 °С в течение 90 мин, центрифугировать 1 мин при 13 000 g, добавить 1000 мкл этилацетата, перемешивать 10 мин, центрифугировать 10 мин при 13 000 g, отобрать 1000 мкл верхнего слоя, добавить 1000 мкл этилацетата, перемешивать 10 мин, центрифугировать 10 мин при скорости 13 000 g; отобрать 1000 мкл верхнего слоя и объединить с предыдущим отбором, высушить в токе азота при температуре 50 °С, добавить 200 мкл ацетонитрила, перемешивать 5 мин, центрифугировать 10 мин при 13 000 g; перенести 170 мкл для дальнейшего анализа.

Анализ полиаминов и аминокислот проводили с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ЖХ-МС) на системе, состоящей из тройного квадрульного масс-спектрометрического детектора ABSciex QTrap 5500 (ABSciex; Канада), оснащенного источником электрораспылительной ионизации, и жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity (Agilent; США). Для разделения образца использовали колонку Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (50 × 3 мм, 1,8 мкм; Agilent, США). Для анализа органических кислот вводили 20 мкл образца и использовали в качестве элюента А 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде; элюента В — 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Скорость потока 650 мкл/мин с поддерживаемой температурой колонки 30 °С. Состав подвижной фазы в ходе анализа изменялся следующим образом: 0–0,3 мин — 20% элюента В, до 5,3 мин объемная доля элюента В повышалась до 95%, сохраняла значение до 8,3 мин и за 0,1 мин возвращалась к значению 20%. Настройки масс-спектрометра были следующими: давление периферийного газа — 1,4 бар, давление газа-распылителя — 3,4 бар, температура источника — 500 °С, напряжение на капилляре — 4500 В.

В данной работе проводили анализ следующих девяти полиаминов: путресцин, этилендиамин, 1,3-диаминопропан, кадаверин, 1,7-диаминогептан, кадаверин, N-ацетилпутресцин, N1-ацетилспермин, спермидин; и 43 аминокислот: 1-метилгистидин, 3-аминоизобутират, 3-метилгистидин, аргининосукцинат, бета-аланин, креатинин, 5-гидроксилизин, гомоцистин, этаноламин, гамма-аминобутират, 2-аминоадипиновая кислота, 2-аминомасляная кислота, аланин, ансерин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, карнозин, цитруллин, цистатионин, цистин, глутаминовая кислота, глутамин, глицин, гистидин, гомоцитруллин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, норвалин, орнитин, фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин, O-фосфорилэтанолламин, саркозин, таурин, транс-4-гидроксипролин.

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью скриптов, написанных на языке R.

Статистический анализ проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Для описания количественных данных использовали медианы (Me) и квартили Q_1 и Q_3 в формате Me (Q_1 ; Q_3), а также средние значения (M) и среднеквадратическое отклонение (SD) в формате $M \pm SD$. Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05. Если значение p было меньше 0,001, то его указывали в формате $p < 0,001$.

Поиск клинико-лабораторных параллелей при ЗРП и ПЭ проводили с помощью корреляционного теста Спирмена для уровней полиаминов, аминокислот и клинических показателей. Статистически значимой признавали связь с $p < 0,05$.

Для оценки возможности классификации пациентов по группам на основании исследуемых параметров были разработаны модели логистической регрессии. Из всех разработанных моделей выбирали четыре с наибольшей величиной площади под ROC-кривой (AUC). Качество разработанных моделей определяли путем построения ROC-кривой, определения площади под ROC-кривой, а также расчета чувствительности и специфичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование дизайна «случай–контроль» беременных пациенток включали по мере обращения после постановки им диагноза ЗРП или ПЭ. На момент включения в исследование и сбора крови пациентки группы ПЭ имели умеренную тяжесть со стабильными показателями артериального давления, незначительную протеинурию при нормальных показателях суточного диуреза, отсутствие нарушений со стороны плода по данным доплерометрии (фето-плацентарный кровоток и дистресс плода); пациентки группы ЗРП (3-й процентиль и менее по данным фетометрии) не имели доплерометрических признаков дистресса плода. У всех пациенток не было регулярной родовой деятельности или угрозы преждевременных родов. На момент родоразрешения, которое в среднем происходило через три недели после забора крови, треть пациенток имели диагноз тяжелая преэклампсия и у более половины от всех были выявлены критические нарушения плодово-плацентарного кровотока, что и послужило показанием к проведению экстренного оперативного родоразрешения путем операции кесарева сечения. У пациенток контрольной группы забор крови проводили в сроки беременности, сопоставимые со сроками у пациенток с ПЭ и ЗРП. В последующем течение их беременности и родоразрешение были отслежены и не отягощены.

Учитывая, что старший репродуктивный возраст и ожирение могли стать серьезными конфаундерными факторами при оценке уровней аминокислот и полиаминов в крови, группы составляли таким образом, чтобы возраст и вес пациенток с ПЭ были сопоставимы с группой контроля. Индекс массы тела (ИМТ) беременных женщин из группы ЗРП был значимо ниже, чем у женщин групп «норма» и «преэклампсия» ($p = 0,005$ и $p = 0,003$ соответственно).

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

Из-за необходимости ускоренного родоразрешения по акушерским показаниям, в связи с нарастанием тяжести ПЭ и прогрессирующей внутриутробной гипоксии плода при ЗРП, срок родоразрешения для данных групп статистически значимо отличался от контрольной группы ($p < 0,001$). Для случаев ПЭ и ЗРП средний вес новорожденных составил 2132,0 г и 1969,7 г.

Следует отметить, что оценка новорожденного по шкале Апгар в группе с ПЭ была значимо ниже на первой минуте жизни ($p < 0,001$), тогда как на пятой минуте балл по шкале Апгар значимо отличался во всех группах, что, вероятно, связано с нарушением адаптации в раннем неонатальном периоде у новорожденных из групп ПЭ и ЗРП, длительно пребывающих в условиях хронической гипоксии.

Из-за важной роли аминокислот в синтезе полиаминов и их функции в клеточном метаболизме на первом этапе лабораторного анализа данных был проведен анализ уровня аминокислот среди пациенток исследуемых групп.

Анализ данных позволил выявить снижение в случаях ПЭ и ЗРП по сравнению с контрольной группой уровня ряда аминокислот: при ЗРП значимо снижались аргинин ($p = 0,0136$), орнитин ($p = 0,045$), пролин ($p = 0,0044$), при ПЭ — аспарагиновая кислота ($p = 0,0422$) (рис. 1). Низкие уровни (отн. ед.) при ЗРП аргинина — 0,0163 (0,0139, 0,0182) и лизина 0,0524 (0,0492, 0,056) могут играть важную роль при синдроме ЗРП.

Таблица 1. Клиническая характеристика исследуемых групп

Параметр	Описательная статистика параметра			Статистическая значимость различий параметров при попарном сравнении групп (<i>p</i> -value)		
	ПЭ (<i>n</i> = 56)	ЗРП (<i>n</i> = 48)	Норма (<i>n</i> = 52)	ПЭ – Норма	ЗРП – Норма	ПЭ – ЗРП
Возраст	32 ± 5	32 ± 3	31 ± 4	0,654	0,212	0,146
ИМТ (до беременности)	27 ± 5	20 ± 5	25 ± 3	0,745	0,005	0,003
Срок родоразрешения	35 ± 3	37 ± 2	40 ± 1	< 0,001	< 0,001	0,435
Рост при рождении	45,8 ± 4,5	45,1 ± 2,1	52,1 ± 2,2	0,001	< 0,001	0,378
Вес при рождении	2132 ± 846,6	1969,7 ± 501,0	3403,7 ± 395,7	< 0,001	< 0,001	0,401
Апгар 1	7 (7; 8)	8 (8; 8)	8 (8; 8)	< 0,001	0,357	0,06
Апгар 5	8 (8; 9)	9 (8; 9)	9 (9; 9)	0,02	0,033	0,031

Далее был получен уровень полиаминов в сыворотке крови пациенток исследуемых групп. Для группы пациенток с ПЭ выявлены значимые отличия от контрольной группы для путресцина ($p = 0,0423$) и спермидина ($p = 0,022$), для группы ЗРП — кадаверина ($p = 0,0282$). При сравнении данных для групп ПЭ и ЗРП значимые отличия выявлены для двух полиаминов: путресцин ($p = 0,0039$) и 1,7-диаминогептан ($p = 0,0091$) (рис. 2).

В организме человека путресцин образуется из L-орнитина при участии фермента орнитиндекарбоксилазы (ОДК). Спермидин синтезируется из путресцина с участием двух ферментов: спермидинсинтазы и сперминсинтазы. Данные ферменты самые короткоживущие в организме человека (время полураспада 5–10 мин), что указывает на их прямую роль в биосинтезе белка. Косвенно оценить активность этих ферментов можно исходя из отношения уровня спермидина к путресцину (активность

спермидинсинтазы) и отношения спермина к спермидину (активность сперминсинтазы) (рис. 3).

Отношение спермидина к путресцину в группе «норма» (–0,33 (–0,43; 0,05)), в группе пациенток с ПЭ (–0,21 (–0,29; 0,25)) и в группе пациенток с ЗРП (–0,34 (–0,44; –0,13)); а отношения спермина к спермидину в данных группах составили: 0,07 (–0,38; 0,57); –0,48 (–0,64; –0,08); –0,33 (–0,65; 0,52) соответственно.

Полиамины активно вовлечены в клеточные механизмы неспецифических стресс-реакций (полиаминный стресс-ответ). При травмирующем воздействии на организм, например при ишемии/гипоксии нервной ткани, в мозге активируется ОДК с последующим увеличением содержания полиаминов и запуском активации генов раннего ответа (*c-myc*, *c-fos* и др.) [17].

С учетом биологической значимости полученных результатов особый интерес представлял поиск клиничко-

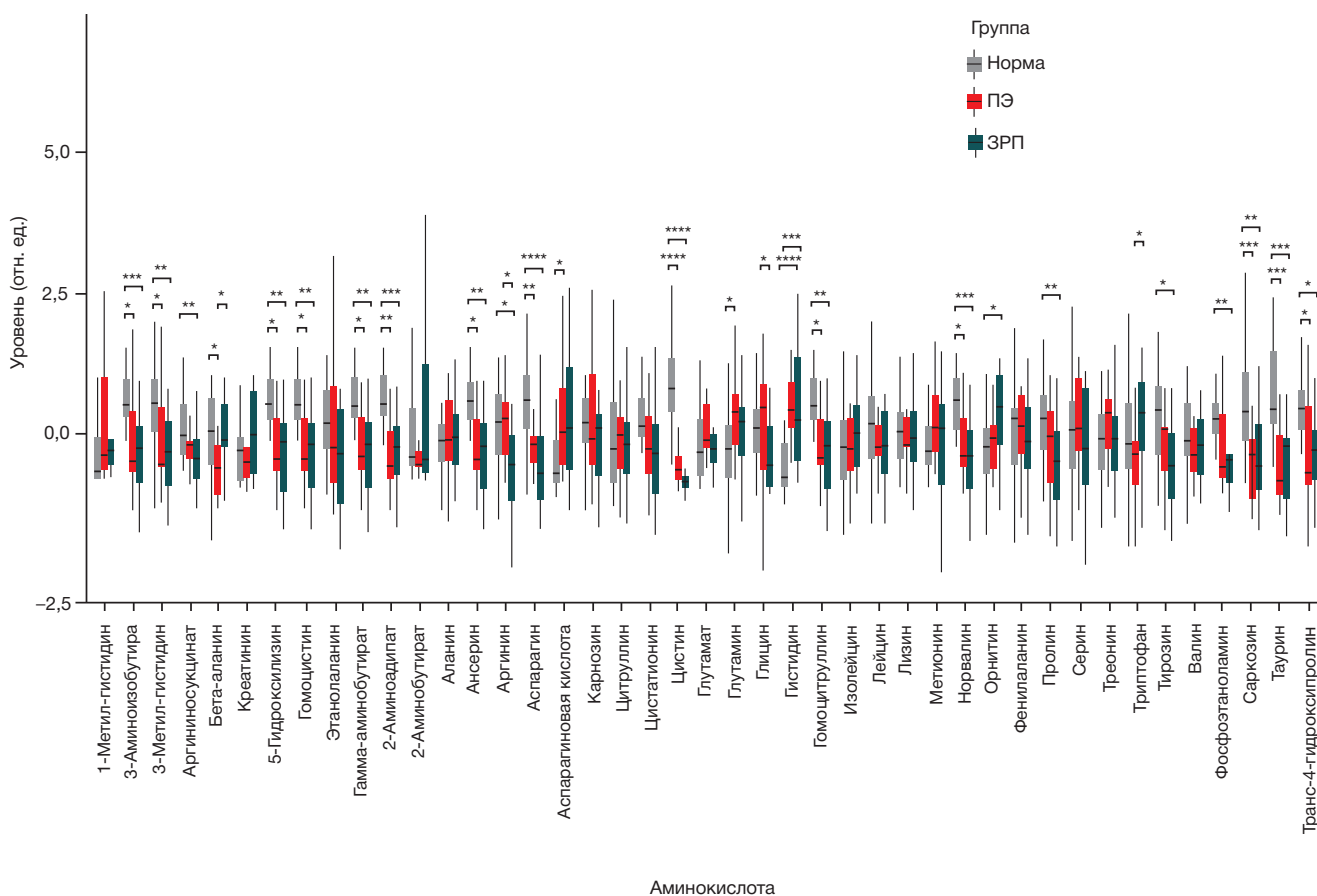


Рис. 1. Сравнение аминокислотного профиля плазмы крови пациенток групп «норма», «ПЭ» и «ЗРП». Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полутрети величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полутрети величины межквартильного расстояния

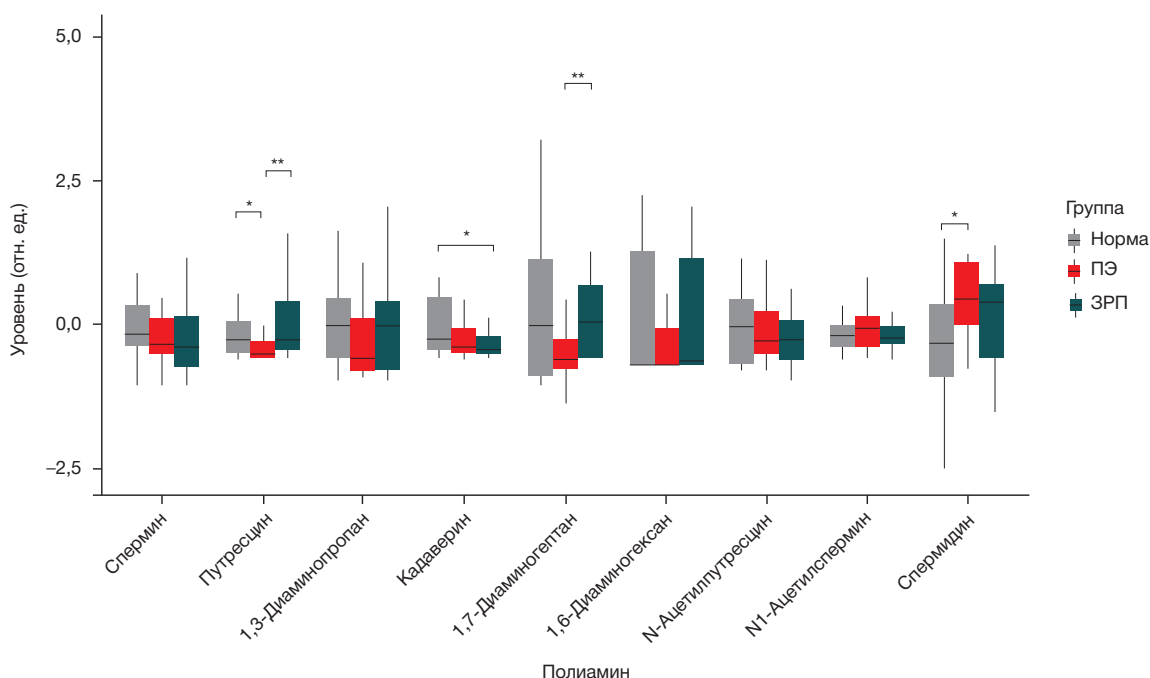


Рис. 2. Сравнение профиля полиаминов плазмы крови пациенток групп «норма», «ПЭ» и «ЗРП». Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния

лабораторных параллелей при ЗРП и ПЭ. Для этого был выполнен корреляционный анализ связи уровня значимых полиаминов и аминокислот и таких клинических показателей, как тяжесть течения ЗРП и ПЭ, число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденными, рожденными от матерей групп ПЭ и ЗРП (табл. 2).

В табл. 2 представлены статистически значимые связи между клиническими параметрами и уровнями аминокислот плазмы крови. Для уровня транс-4-гидроксипролина плазмы была зафиксирована статистически значимая обратная связь с декомпенсацией состояния плода при ЗРП, а также статистически значимая прямая связь с весом ребенка при рождении. Аналогично, уровень пролина статистически значимо прямо пропорционален весу ребенка и обратно — декомпенсации состояния

плода при ЗРП. Была также зафиксирована прямая связь уровня глутамина с тяжестью преэклампсии, обратная связь с уровнем аспарагиновой кислоты и числом койко-дней в стационаре.

Аналогичный анализ провели для полиаминов (табл. 2). При ЗРП обнаружена корреляционная связь с тяжестью течения данного осложнения и уровнями 1,7-диаминогептана и кадаверина. Уровень путресцина коррелировал с тяжестью ПЭ. Число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным, для групп ПЭ и ЗРП коррелировало с уровнем 1,7-диаминогептана.

Интерес представляют выявленные связи с пролином и 1,7-диаминогептаном. Эти метаболиты имеют среднюю и сильную корреляцию с клиническими данными, характеризующими акушерские исходы: вес ребенка при

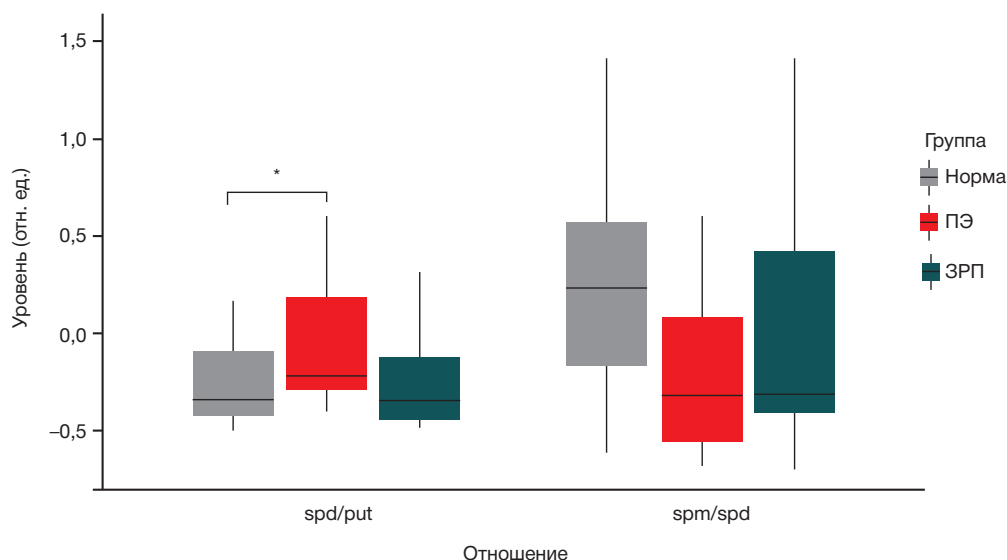


Рис. 3. Сравнение физиологически значимых отношений уровней полиаминов плазмы крови. Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния; spd/put — отношение спермидина к путресцину, активность спермидинсинтазы; spm/spd — отношение спермина к спермидину, активность сперминсинтазы

Таблица 2. Статистически значимые связи между клиническими параметрами и уровнем аминокислот и полиаминов, коэффициент корреляции, его доверительный интервал и значимость p

Параметр		R	ДИ R	p
Аминокислоты				
Декомпенсация состояния плода при ЗРП	Пролин	-0,56	-0,86 до -0,034	0,03
	Транс-4-гидроксипролин	-0,39	-0,59 до -0,066	0,01
Вес при рождении	Пролин	0,67	0,041 до 0,87	0,02
	Транс-4-гидроксипролин	0,36	0,14 до 0,54	0,002
ПЭ, тяжесть	Глутамин	0,38	0,058 до 0,48	0,01
Число койко-дней, проведенных в стационаре	Аспарагиновая кислота	-0,36	-0,5 до -0,088	0,007
Полиамины				
Декомпенсация состояния плода при ЗРП	1,7-Диаминогептан	-0,78	-0,92 до -0,37	0,002
	Кадаверин	-0,25	-0,46 до 0,013	0,04
ПЭ, тяжесть	Путресцин	-0,32	-0,52 до 0,083	0,009
Число койко-дней, проведенных в стационаре новорожденным	1,7-Диаминогептан	-0,76	-0,95 до 0,23	0,003

рождении и число койко-дней в стационаре, соответственно, что позволяет рассматривать их в качестве прогностических маркеров динамической оценки нарастания тяжести ЗРП и ранней ПЭ.

С целью первичной оценки прогностических и диагностических (оценка тяжести состояния плода) возможностей описанных метаболитов для выявления тяжести течения ПЭ и ЗРП и оптимизации акушерской тактики ведения данной когорты беременных построены математические модели. Высокой чувствительностью и специфичностью обладали четыре модели, включающие проанализированные в ходе работы полиамины (рис. 4).

В модели логистической регрессии в качестве независимой переменной выступали уровни полиаминов в плазме крови, в качестве зависимой переменной — принадлежность образца к группе ПЭ или ЗРП. Площадь

под операционной кривой для модели составила 0,865, чувствительность и специфичность — 0,95 и 0,76 соответственно. Пороговые значения для разработанных моделей были равны 0,45, 0,3, 0,24 и 0,26.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Аминокислоты являются основными строительными блоками белков, которые играют важную роль в росте и развитии плода. Аргинин, лизин и аспарагиновая кислота не только участвуют в синтезе белков, но и имеют важное значение для многих биохимических путей и функций организма. Пролин выполняет важную функцию в составе основного белка соединительной ткани — коллагена. Известно его влияние на развитие плаценты и плода за счет усиления плацентарного транспорта питательных веществ,

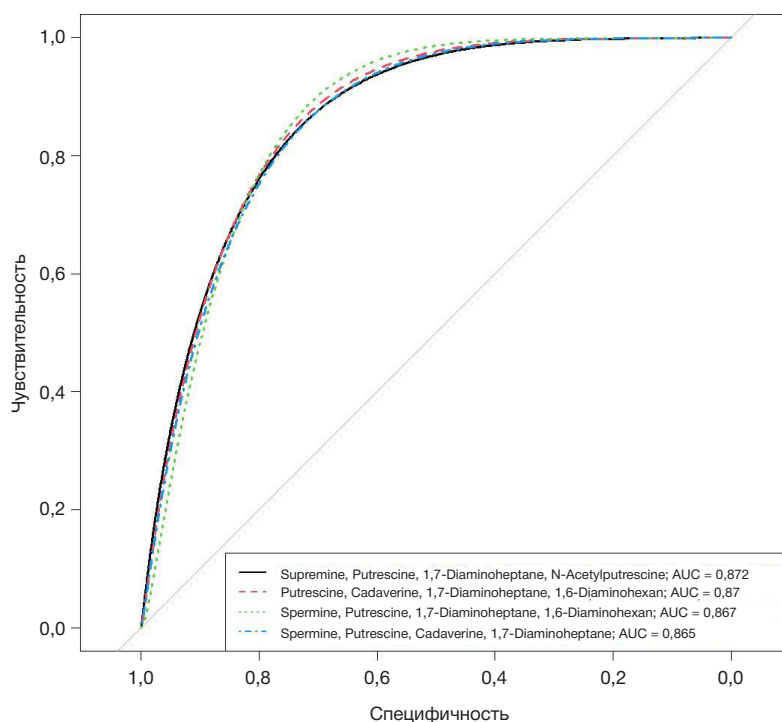


Рис. 4. ROC-кривые моделей логистической регрессии, в которой в качестве независимой переменной выступали уровни полиаминов в плазме крови, в качестве зависимой переменной — принадлежность образца к группе с ПЭ или ЗРП. На вставке указаны аминокислоты, уровни которых взяты в качестве независимой переменной, а также площадь под операционной кривой для соответствующей модели логистической регрессии

ангиогенеза и синтеза белка [18]. Снижение уровня пролина в крови беременных с ЗРП и ранней ПЭ, имеющее прямую корреляционную связь с весом новорожденного, указывает на его возможную роль в патогенезе данных осложненных беременностей. Коллаген является важным тканевым компонентом плацентарного комплекса и нарушение его структуры на этапах биосинтеза, секреции или сборки, вызванное снижением уровня пролина, вероятно может быть одним из существующих патологических механизмов реализации плацентарной недостаточности. Есть сообщение о снижении концентрации цервикального гидроксипролина у небеременных женщин с истмико-цервикальной недостаточностью в анамнезе [19].

Кроме аминокислот, входящих в состав белков, в организме имеется постоянный резерв свободных аминокислот, содержащихся в тканях и различных биологических жидкостях, которые находятся в динамическом равновесии. В течение беременности свободные аминокислоты могут служить индукторами синтеза стероидных гормонов, участвовать в процессе биосинтеза гликопротеинов, порфиринов, нейромедиаторов, полиаминов и оксида азота.

Метаболизм ряда аминокислот ведет к синтезу регуляторных полиаминов. Полиамины так же присутствуют в различных биологических жидкостях: крови, моче, ликворе и др. В крови содержание свободных полиаминов ниже, чем в тканях или в моче. Однако определение полиаминов именно в крови беременных в качестве маркера тяжести таких осложнений, как ПЭ и ЗРП, представляет интерес для практической медицины.

Изучение уровня свободных аминокислот и полиаминов может быть важным для понимания молекулярных процессов во время беременности [20].

Полученные нами данные демонстрируют значимую связь изменения уровня полиаминов в крови и плацента-ассоциированных осложнений беременности. Для таких полиаминов, как спермидин, путресцин, кадаверин и 1,7-диаминогептан, наблюдалось значимое изменение уровня в группах, представленных беременными с плацента-ассоциированными осложнениями. При ЗРП концентрация 1,7-диаминогептана была статистически значимо повышена, на фоне снижения при ПЭ. Особый интерес вызывает то, что данное наблюдение среди пациенток с ЗРП было описано нами ранее в публикации, посвященной диагностическому потенциалу полиаминов мочи [21]. Результаты наших исследований перекликаются с работой китайских ученых, которые рассматривали влияние N1-гуанил-1,7-диаминогептана (GС7), мощного ингибитора дезоксигипузинсинтазы, на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз эндотелиальных клеток [22]. Участие диаминогептанов в экспрессии белков клеточной пролиферации и апоптозе эндотелиальных клеток, указывает на возможность потенциального использования данного биомаркера для диагностики плацента-ассоциированных осложнений беременности и прогнозирования их тяжести. Повышение концентрации 1,7-диаминогептана в крови при ЗРП может косвенно указывать на дозозависимое ингибирование клеточной пролиферации, быть биомаркером ЗРП и изменяться в зависимости от нарастания тяжести состояния плода.

Учитывая многообразие и сложность метаболических путей, ответственных за адаптацию в условиях гипоксического поражения, следует ожидать, что их регуляция является координированной. Для изучения такого типа регуляции особый интерес могут представлять пути метаболизма низкомолекулярных антиоксидантов — пролина и полиаминов.

В норме гомеостаз пролина и полиаминов поддерживается сбалансированной системой их биосинтеза и деградации. Чаще всего общим предшественником в их биосинтезе является глутамат, который служит более отдаленным предшественником, превращающимся сначала в орнитин или аргинин. Образовавшиеся аминокислоты являются прямыми субстратами двух ферментов (орнитиндекарбоксилазы или аргининдекарбоксилазы), катализирующих биосинтез путресцина — предшественника более длинных полиаминов (спермидина и спермина). Несмотря на установленную связь путей синтеза пролина и полиаминов, вопрос о возможности координированной регуляции метаболизма этих низкомолекулярных соединений, особенно в стрессорных условиях, остается дискуссионным.

Интерес представлял анализ профиля свободных аминокислот крови при плацента-ассоциированных осложнениях беременности. По некоторым данным, уровни L-аргинина, L-пролина и L-орнитина могут отображать перинатальное поражение центральной нервной системы у новорожденных с внутриутробной задержкой роста [23]. Значимые корреляционные связи для ряда клинических параметров (декомпенсация состояния плода при ЗРП, тяжесть ПЭ, вес при рождении, число койко-дней в стационаре и отделении патологии новорожденных) и таких аминокислот, как пролин и транс-4-гидроксипролин, глутамин и аспарагиновая кислота, указывает на задействованность данных метаболитов в процессах синтеза белка, поддержании структуры рибосом и образования коллагена при ЗРП, как изолированной форме, так и сочетанной с ранней ПЭ.

Принимая во внимание, что данные были собраны на начальных клинических проявлениях акушерских синдромов, возможный потенциал полиаминов для определения прогноза течения ПЭ и ЗРП и сроков родоразрешения невероятно высок. Большой интерес представляет разработка методов диагностики и мониторинга уровня полиаминов у беременных женщин. Такие методы могут служить инструментами для прогнозирования риска акушерских синдромов и открывают окно возможностей для дальнейшего их применения после проведения углубленной валидации и динамического контроля в зависимости от течения ЗРП и ранней ПЭ во времени.

ВЫВОДЫ

Изучение роли полиаминов и их связи с уровнем свободных аминокислот в крови способствует разработке методов диагностики и предикции акушерских синдромов, что является важной областью исследований, которая может привести к появлению новых подходов в обследовании и лечении беременных женщин, а также улучшить заботу о здоровье матери и ребенка в период беременности.

Литература

- Xuan M, et al. Polyamines: their significance for maintaining health and contributing to diseases. *Cell Communication and Signaling*. 2023; 21 (1): 348.
- Bae D-H, et al. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Igarashi K, Kashiwagi K. The functional role of polyamines in eukaryotic cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019; 107: 104–15.
- Zahedi K, Barone S, Soleimani M. Polyamines and Their Metabolism: From the Maintenance of Physiological Homeostasis to the Mediation of Disease. *Medical Sciences*. 2022; 10 (3): 38.
- Abdulhussein AA, Wallace H.M. Polyamines and membrane transporters. *Amino Acids*. 2014; 46 (3): 655–60.
- Damiani E, Wallace HM. Polyamines and Cancer. 2018; 1694: 469–88.
- Holbert CE, Cullen MT, Casero RA Jr, Stewart TM. Polyamines in cancer: integrating organismal metabolism and antitumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2022; 22 (8): 467–80.
- Vrijzen S, Houdou M, Cascalho A, Eggemont J, Vangheluwe P. Polyamines in Parkinson's Disease: Balancing Between Neurotoxicity and Neuroprotection. *Annu Rev Biochem*. 2023; 92: 435–64.
- Proietti E, Rossini S, Grohmann U, Mondanelli G. Polyamines and Kynurenines at the Intersection of Immune Modulation. *Trends Immunol*. 2020; 41 (11): 1037–50.
- Lefèvre PLC, Palin M-F, Murphy BD. Polyamines on the Reproductive Landscape. *Endocr Rev*. 2011; 32 (5): 694–712.
- Aihara S, Torisu K, Uchida Y, Imazu N, Nakano T, Kitazono T. Spermidine from arginine metabolism activates Nrf2 and inhibits kidney fibrosis. *Commun Biol*. 2023; 6 (1): 676.
- Bae DH, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Zou D, Zhao Z, Li L, Min Y, Zhang D, Ji A, Jiang C, Wei X, Wu X. A comprehensive review of spermidine: Safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022; 21 (3): 2820–42.
- Cao Y, Liu S, Liu K, Abbasi IHR, Cai C, Yao J. Molecular mechanisms relating to amino acid regulation of protein synthesis. *Nutr Res Rev*. 2019; 32 (2): 183–91.
- Wu G, Meininger CJ, McNeal CJ, Bazer FW, Rhoads JM. Role of L-Arginine in Nitric Oxide Synthesis and Health in Humans. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1332: 167–87.
- Prameswari N, Irwinda R, Wibowo N, Saroyo YB. Maternal Amino Acid Status in Severe Preeclampsia: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2022; 14 (5): 1019.
- Березов Т. Т., Маклецова Марина Геннадьевна, Федорова Т. Н. Полиамины: их роль в норме и при патологии центральной нервной системы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2012; 2: 38–48.
- Wu G, Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, Li P, et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011; 40 (4): 1053–63.
- Petersen LK, Ulbjerg N. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996; 67 (1): 41–5.
- Rider JE, Hacker A, Mackintosh CA, Pegg AE, Woster PM, Casero RA Jr. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*. 2007; 33 (2): 231–40.
- Гасанбекова А. П., Франкевич Н. А., Чаговец В. В., Токарева А. О., Качиковски Ю. Н., Новоселова А. В., Карапетян Т. Э. Роль полиаминов в неинвазивной диагностике плаценто-ассоциированных осложнений беременности. *Акушерство и гинекология*. 2024; 2: 52–61.
- Lee Y, Kim HK, Park HE, Park MH, Joe YA. Effect of N1-guanyl-1,7-diaminoheptane, an inhibitor of deoxyhypusine synthase, on endothelial cell growth, differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biochem*. 2002; 237 (1–2): 69–76.
- Крукиер И. И., Авруцкая В. В., Нарезная Е. В., Левкович М. А., Кравченко Л. В., Никашина А. А., Рожков А. В., Галусьяк А. В. Роль продукции аминокислот в формировании церебральных поражений у новорожденных, родившихся у матерей с плацентарной недостаточностью и внутриутробной задержкой роста плода. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2022; 22 (4): 19.

References

- Xuan M, et al. Polyamines: their significance for maintaining health and contributing to diseases. *Cell Communication and Signaling*. 2023; 21 (1): 348.
- Bae D-H, et al. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Igarashi K, Kashiwagi K. The functional role of polyamines in eukaryotic cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019; 107: 104–15.
- Zahedi K, Barone S, Soleimani M. Polyamines and Their Metabolism: From the Maintenance of Physiological Homeostasis to the Mediation of Disease. *Medical Sciences*. 2022; 10 (3): 38.
- Abdulhussein AA, Wallace H.M. Polyamines and membrane transporters. *Amino Acids*. 2014; 46 (3): 655–60.
- Damiani E, Wallace HM. Polyamines and Cancer. 2018; 1694: 469–88.
- Holbert CE, Cullen MT, Casero RA Jr, Stewart TM. Polyamines in cancer: integrating organismal metabolism and antitumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2022; 22 (8): 467–80.
- Vrijzen S, Houdou M, Cascalho A, Eggemont J, Vangheluwe P. Polyamines in Parkinson's Disease: Balancing Between Neurotoxicity and Neuroprotection. *Annu Rev Biochem*. 2023; 92: 435–64.
- Proietti E, Rossini S, Grohmann U, Mondanelli G. Polyamines and Kynurenines at the Intersection of Immune Modulation. *Trends Immunol*. 2020; 41 (11): 1037–50.
- Lefèvre PLC, Palin M-F, Murphy BD. Polyamines on the Reproductive Landscape. *Endocr Rev*. 2011; 32 (5): 694–712.
- Aihara S, Torisu K, Uchida Y, Imazu N, Nakano T, Kitazono T. Spermidine from arginine metabolism activates Nrf2 and inhibits kidney fibrosis. *Commun Biol*. 2023; 6 (1): 676.
- Bae DH, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — General Subjects*. 2018; 1862 (9): 2053–68.
- Zou D, Zhao Z, Li L, Min Y, Zhang D, Ji A, Jiang C, Wei X, Wu X. A comprehensive review of spermidine: Safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022; 21 (3): 2820–42.
- Cao Y, Liu S, Liu K, Abbasi IHR, Cai C, Yao J. Molecular mechanisms relating to amino acid regulation of protein synthesis. *Nutr Res Rev*. 2019; 32 (2): 183–91.
- Wu G, Meininger CJ, McNeal CJ, Bazer FW, Rhoads JM. Role of L-Arginine in Nitric Oxide Synthesis and Health in Humans. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1332: 167–87.
- Prameswari N, Irwinda R, Wibowo N, Saroyo YB. Maternal Amino Acid Status in Severe Preeclampsia: A Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2022; 14 (5): 1019.
- Berezov TT, Maklecova MG, Fedorova TN. Poliaminy: ih rol' v norme i pri patologii central'noj nervnoj sistemy. *Annaly klinicheskoy i jeksperimental'noj nevrologii*. 2012; 2: 38–48. Russian.
- Wu G, Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, Li P, et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011; 40 (4): 1053–63.
- Petersen LK, Ulbjerg N. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996; 67 (1): 41–5.
- Rider JE, Hacker A, Mackintosh CA, Pegg AE, Woster PM,

- Casero RA Jr. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*. 2007; 33 (2): 231–40.
21. Gasanbekova AP, Frankevich NA, Chagovec VV, Tokareva AO, Kachikovski YuN, Novoselova AV, Karapetyan TYe. Rol' poliaminov v neinvazivnoj diagnostike placenta-associirovannyh oslozhnenij beremennosti. *Akusherstvo i ginekologija*. 2024; 2: 52–61. Russian.
22. Lee Y, Kim HK, Park HE, Park MH, Joe YA. Effect of N1-guanyl-1,7-diaminoheptane, an inhibitor of deoxyhypusine synthase, on endothelial cell growth, differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biochem*. 2002; 237 (1–2): 69–76.
23. Krukier II, Avruckaja VV, Narezhnaja EV, Levkovich MA, Kravchenko LV, Nikashina AA, Rozhkov AV, Galusyak AV. Rol' produkcii aminokislot v formirovanii cerebral'nyh porazhenij u novorozhdennyh, rodivshihjsja u materej s placentarnoj nedostatochnost'ju i vnutriutrobnoj zaderzhkoj rosta ploda. *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*. 2022; 22 (4): 19. Russian.

ДИСКРИМИНИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ МЕТОДА МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ МИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ КОИНФЕКЦИИ

Т. Г. Смирнова¹✉, С. Н. Андреевская¹, В. В. Устинова¹, Е. Е. Ларионова¹, Е. А. Киселева¹, Л. Н. Черноусова¹, А. Эргешов^{1,2}

¹ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия

² Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

Диагностика микобактериальной коинфекции — одна из актуальных проблем здравоохранения. Целью исследования было определить дискриминирующую способность метода мультиплексной ПЦР видовой идентификации при выявлении смешанных популяций микобактерий. Исследование выполнено на модельных образцах, представляющих собой смесь ДНК микобактерий двух видов в соотношении 1 : 1, 1 : 9, 1 : 99 и 1 : 999 с разной суммарной концентрацией ДНК (от 10³ ГЭ/мл до 10⁶ ГЭ/мл). Модельные образцы исследовали набором «Амплитуб-РВ-дифференциация» («Синтол»; Россия), основанном на мультиплексной ПЦР. Показано, что набор способен выявлять смеси видов микобактерий с высокой дискриминирующей способностью. Дискриминирующая способность метода ПЦР в режиме реального времени при анализе смеси ДНК двух видов микобактерий зависела от суммарного содержания ДНК в образце и варьировала от 0,1% для высоконагруженных образцов (суммарная концентрация ДНК × 10⁶ ГЭ/мл) до 50% для низконагруженных образцов (суммарная концентрация ДНК × 10³ ГЭ/мл) и соответствовала количеству ДНК вида в смеси не менее 5 × 10² ГЭ/мл. При количестве ДНК каждого вида в смеси не менее 5 × 10² ГЭ/мл результат ПЦР на выявление коинфекции не зависел от вида микобактерий, входящих в смесь, что необходимо учитывать при анализе результатов ПЦР.

Ключевые слова: микобактерии туберкулезного комплекса, нетуберкулезные микобактерии, микобактериальная коинфекция, мультиплексная ПЦР, микобактериоз, туберкулез

Финансирование: исследование проведено в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФГБНУ "ЦНИИТ" № НИОКТР 122041100246-3 «Межвидовой и внутривидовой полиморфизм микобактерий у больных туберкулезом и микобактериозом на фоне специфической терапии».

Вклад авторов: Т. Г. Смирнова — проведение эксперимента (постановка ПЦР в режиме реального времени), анализ полученных данных, подготовка черновика рукописи; С. Н. Андреевская — анализ литературы, интерпретация данных, обзор публикаций по теме статьи; В. В. Устинова — постановка ПЦР; Е. Е. Ларионова — анализ данных; Е. А. Киселева — подготовка модельных образцов, Л. Н. Черноусова, А. Эргешов — разработка дизайна исследования; все авторы участвовали в обсуждении результатов.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Геннадьевна Смирнова
Яузская аллея, д. 2, к. 1А, г. Москва, 107564, Россия; s_tatka@mail.ru

Статья получена: 21.06.2024 **Статья принята к печати:** 16.07.2024 **Опубликована онлайн:** 04.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.029

DISCRIMINATORY POWER OF MULTIPLEX PCR FOR DETECTION OF MYCOBACTERIAL CO-INFECTION

Smirnova TG¹✉, Andreevskaya SN¹, Ustinova VV¹, Larionova EE¹, Kiseleva EA¹, Chernousova LN¹, Ergeshov A^{1,2}

¹ Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia

² Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

The diagnosis of mycobacterial co-infection is one of the pressing public health issues. The study was aimed to determine discriminatory power of multiplex PCR used for species identification when detecting mixed mycobacterial populations. The study involved model samples representing the mixtures of DNA of two mycobacterial species with the ratios of 1 : 1, 1 : 9, 1 : 99, and 1 : 999 and different total DNA concentrations (10³ gEq/mL to 10⁶ gEq/mL). The model samples were assessed using the multiplex PCR-based AmpliTube-RV-Differentiation kit (Syntol LLC; Russia). It has been shown that the kit is capable of detecting the mixtures of mycobacterial species with high discriminatory power. The discriminatory power of real-time PCR used for analysis of the mixture of DNA of two mycobacterial species depended on the total DNA content in the sample and varied between 0.1% for high-rate samples (total DNA concentration 10⁶ gEq/mL) and 50% for low-rate samples (total DNA concentration 10³ gEq/mL) and corresponded to the amount of DNA of the species in the sample of at least 5 × 10² gEq/mL. When the amount of DNA of each species in the mixture was at least 5 × 10² gEq/mL, the results of PCR test for detection of co-infection did not depend on the mycobacterial species contained in the mixture, which should be taken into account when analyzing PCR results.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* complex, nontuberculous mycobacteria, mycobacterial co-infection, multiplex PCR, mycobacteriosis, tuberculosis

Funding: the study was conducted within the framework of the State Assignment of the Central Tuberculosis Research Institute, R&D project No. 122041100246-3 "Interspecific and intraspecific polymorphism of mycobacteria in patients with tuberculosis and mycobacteriosis receiving specific therapy"

Author contribution: Smirnova TG — experimental procedure (real-time PCR), data analysis, manuscript draft; Andreevskaya SN — literature review, data interpretation, review of publications on the issue; Ustinova VV — PCR; Larionova EE — data analysis; Kiseleva EA — model sample preparation; Chernousova LN, Ergeshov A — developing the study design; all authors contributed to discussion

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatiana G. Smirnova
Yauza alley, 2, str. 1A, Moscow, 107564, Russia; s_tatka@mail.ru

Received: 21.06.2024 **Accepted:** 16.07.2024 **Published online:** 04.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.029

Заболевания микобактериальной этиологии, в том числе туберкулез, представляют собой существенную проблему для здравоохранения. Туберкулез является второй по частоте причиной смерти от инфекционных заболеваний [1]. Заболеваемость туберкулезом в РФ снижается, а заболевания, вызываемые нетуберкулезными микобактериями, встречаются все чаще. Такая же тенденция

отмечена во всем мире [2–6]. Исследователи связывают рост микобактериоза со старением общемирового населения и повышением частоты встречаемости врожденных и приобретенных иммунодефицитных состояний [4, 7–9].

В ряде случаев, чаще в пожилом возрасте и при иммуносупрессии, пациент может быть инфицирован одновременно МБТК и НТМБ, или несколькими видами

НТМБ [2, 10–12]. В России частота встречаемости микобактериальной коинфекции составляет 1,16% от всех бактериовыделителей. Наиболее распространенными сочетаниями видов в составе смешанных популяций микобактерий являются *M. tuberculosis* + *M. avium*, *M. tuberculosis* + *M. abscessus*, *M. avium* + *M. intracellulare*, *M. avium* + *M. kansasii*, *M. avium* + *M. abscessus* [2].

Случаи смешанной микобактериальной инфекции важно вовремя диагностировать, так как невыявленное коинфицирование несколькими видами микобактерий неизбежно приведет к неудачному лечению. Неудача лечения будет обусловлена тем, что нетуберкулезные микобактерии устойчивы к большинству противотуберкулезных препаратов и имеют видоспецифичный профиль чувствительности к антибактериальным препаратам [13–15].

Поскольку туберкулез и микобактериоз имеют схожую клинико-рентгенологическую картину, дифференцировать их можно, проведя видовую идентификацию культуры микобактерий методами ВЭЖХ, масс-спектрометрии или молекулярно-генетическими методами [16–19]. Преимущество молекулярно-генетической диагностики туберкулеза и микобактериоза заключается в том, что она позволяет проводить анализ не только из культур, но и непосредственно из клинического диагностического материала. В 2021 г. в ФГБНУ «ЦНИИТ» совместно с «НПФ Синтол» был разработан тест «Амплитуб-НТМБ-дифференциация», основанный на мультиплексной ПЦР, который позволяет выявлять МБТК, проводить дифференциацию МБТК с НТМБ и выявлять 12 видов НТМБ (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. xenopi*, *M. chimaera*, *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. lentiflavum*, *M. paragordoniae*, *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. malmoense*) [20].

Согласно назначению, тест должен иметь хороший потенциал для выявления микобактериальной коинфекции, в том числе обусловленной несколькими видами НТМБ. Следовательно, представлялось актуальным определить способность этого набора выявлять смешанные популяции микобактерий в зависимости от видового состава смеси.

Цель исследования — определить дискриминирующую способность метода мультиплексной ПЦР для видовой идентификации при выявлении смешанных популяций микобактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Модельные образцы представляли собой смешанную в разных соотношениях ДНК микобактерий, наиболее часто выявляемых в составе смешанных популяций. Для создания модельных образцов использовали ДНК, выделенную из культур штаммов микобактерий из коллекции микобактериальных культур отдела микробиологии ФГБНУ «ЦНИИТ» *M. tuberculosis* H37Rv (TMC 102), *M. avium* (ATCC-35719), *M. intracellulare*. (ATCC-25120), *M. kansasii* (ATCC-12478), *M. abscessus* (ATCC-19977).

Таблица 1. Виды НТМБ и соответствующие им реакционные пробирки и каналы детекции

№ пробирки стрипа	Канал детекции			
	FAM	ROX	HEX	Cy5
1	МБТК	НТМБ	МБТК	-
2	<i>M. avium</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. chimaera</i>
3	<i>M. kansasii</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. lentiflavum</i>	<i>M. paragordoniae</i>
4	<i>M. abscessus</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. malmoense</i>

Дизайн исследования

ДНК из культур исследуемых видов микобактерий была выделена набором «Амплитуб-РВ» («Синтол»; Россия). Концентрацию ДНК микобактерий каждого вида определяли спектрофотометрически (Спектрофотометр Picopet «Picodrop»; Великобритания) и пересчитывали на число геномных эквивалентов. Далее готовили серийные разведения ДНК микобактерий каждого вида, которые смешивали в пропорциях 1:1, 1:9, 1:99 и 1:999, суммарная концентрация ДНК в смесях составляла 10^6 ГЭ/мл, 10^5 ГЭ/мл, 10^4 ГЭ/мл и 10^3 ГЭ/мл. Модельные образцы были исследованы с использованием набора «Амплитуб-НТМБ-дифференциация» («Синтол»; Россия). Амплификацию проводили в термоциклере с оптическим модулем CFX96Touch (Bio-Rad; США). Видовую идентификацию осуществляли согласно инструкции к набору по наличию кинетических кривых усиления флюоресценции по соответствующим сигналам: кинетические кривые в пробирке стрипа № 1 отражали накопление продуктов амплификации, соответствующих специфичным участкам генома МБТК и/или участкам генома, специфичным для всех видов НТМБ, в пробирках № 2–4 — кинетические кривые усиления сигнала флюоресценции соответствовали наличию в образце ДНК целевых для набора видов НТМБ (табл. 1).

Таким образом, были исследованы образцы разной степени нагрузки ДНК, каждый из которых содержал ДНК двух видов микобактерий, смешанную в разных пропорциях (табл. 2). Каждый вариант модельных образцов был исследован в 10-ти повторностях.

Дискриминирующую способность метода устанавливали по его предельной возможности обнаруживать два вида микобактерий, что будет выражено в наименьшей доле содержания в образце ДНК одного из видов микобактерий, обнаруживаемой в составе смеси во всех 10-ти повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования модельных образцов ДНК методом мультиплексной ПЦР для видовой идентификации микобактерий представлены в табл. 3. Дискриминирующая способность мультиплексной ПЦР для видовой идентификации зависела от суммарной концентрации ДНК в образце. При высокой суммарной концентрации ДНК, равной 10^6 ГЭ/мл дискриминирующая способность метода составляла 0,1%, при концентрации 10^5 ГЭ/мл — 1%, при 10^4 ГЭ/мл — 10% и при 10^3 ГЭ/мл — 50%. Такая закономерность была характерна для всех исследованных видов микобактерий и прослеживалась также при дифференциации МБТК и НТМБ. Во всех видах модельных образцов эта минимальная доля вида соответствовала концентрации ДНК вида микобактерий как минимум 5×10^2 ГЭ/мл.

Вероятность обнаружения каждого вида в доле, на одну ступень ниже дискриминируемой (далее —

Таблица 2. Характеристика модельных образцов ДНК

Соотношение (вид 1 : вид 2)	Концентрация ДНК видов микобактерий в смеси (ГЭ/мл) при суммарной нагрузке ДНК на образец:			
	10 ⁶ ГЭ/мл	10 ⁵ ГЭ/мл	10 ⁴ ГЭ/мл	10 ³ ГЭ/мл
1 : 1	5,00 × 10 ⁵ / 5,00 × 10 ⁵	5,00 × 10 ⁴ / 5,00 × 10 ⁴	5,00 × 10 ³ / 5,00 × 10 ³	5,00 × 10 ² / 5,00 × 10 ²
1 : 9	1,00 × 10 ⁵ / 9,00 × 10 ⁵	1,00 × 10 ⁴ / 9,00 × 10 ⁴	1,00 × 10 ³ / 9,00 × 10 ³	1,00 × 10 ² / 9,00 × 10 ²
1 : 99	1,00 × 10 ⁴ / 9,90 × 10 ⁵	1,00 × 10 ³ / 9,90 × 10 ⁴	1,00 × 10 ² / 9,90 × 10 ³	1,00 × 10 ¹ / 9,90 × 10 ²
1 : 999	1,00 × 10 ³ / 9,99 × 10 ⁵	1,00 × 10 ² / 9,99 × 10 ⁴	1,00 × 10 ¹ / 9,99 × 10 ³	1,00 × 10 ⁰ / 9,99 × 10 ²
9 : 1	9,00 × 10 ⁵ / 1,00 × 10 ⁵	9,00 × 10 ⁴ / 1,00 × 10 ⁴	9,00 × 10 ³ / 1,00 × 10 ³	9,00 × 10 ² / 1,00 × 10 ²
99 : 1	9,90 × 10 ⁵ / 1,00 × 10 ⁴	9,90 × 10 ⁴ / 1,00 × 10 ³	9,90 × 10 ³ / 1,00 × 10 ²	9,90 × 10 ² / 1,00 × 10 ¹
999 : 1	9,99 × 10 ⁵ / 1,00 × 10 ³	9,99 × 10 ⁴ / 1,00 × 10 ²	9,99 × 10 ³ / 1,00 × 10 ¹	9,99 × 10 ² / 1,00 × 10 ⁰

преддискриминируемая доля), варьировала для разных видов микобактерий, входящих в состав смеси (табл. 3). Наибольшая вероятность быть обнаруженной в составе смеси в преддискриминируемой доле (1 × 10² ГЭ/мл) была у МБТК, *M. avium* и *M. intracellulare*, которые выявлялись как второй вид в смеси в 7/10–9/10 повторностях, в зависимости от суммарного содержания ДНК. Вероятность выявления в преддискриминируемой доле *M. kansasii* была несколько ниже (5/10–6/10) и наименьшей — у *M. abscessus* (2/10–4/10). Такая же закономерность для вероятности обнаружения микобактерий в смеси в преддискриминируемой доле была показана и при анализе результатов дифференциации МБТК и НТМБ: *M. avium* как НТМБ в преддискриминируемой доле были выявлены в составе смеси с *M. tuberculosis* в 8/10–9/10 повторности, с *M. abscessus* — 4/10–5/10. При доле вида микобактерий, на две ступени ниже дискриминируемой (соответствует 1,00 × 10¹ ГЭ/мл), результат ПЦР на этот вид был отрицательным и в смеси регистрировали только доминирующий вид.

Таким образом, можно заключить, что мультиплексная ПЦР позволяет выявлять смесь видов микобактерий, если концентрация ДНК каждого из видов составляет не менее 5 × 10² ГЭ/мл. При более низкой концентрации ДНК микобактерий (1 × 10² ГЭ/мл) чувствительность набора для обнаружения смешанных популяций микобактерий будет зависеть от видового состава: вероятность выявить в смеси МБТК *M. avium* и *M. intracellulare* выше, чем *M. kansasii* и, особенно, *M. abscessus*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

МБТК и НТМБ вызывают заболевания человека, характеризующиеся практически идентичной клинико-рентгенологической картиной [21]. Однако, в зависимости от этиологического агента, схемы терапии пациентов будут кардинально различаться, поэтому необходимость дифференциальной диагностики заболеваний, вызванных МБТК и НТМБ, закреплена в нормативных документах [22, 23]. В существующих нормативах все же не учтена возможность инфицирования одного пациента несколькими видами микобактерий и не определена ценность методов этиологической диагностики микобактериальных коинфекций.

Особенно полезны при диагностике заболеваний микобактериальной природы молекулярно-генетические методы, которые позволяют определить возбудителя в течение суток, в отличие от культуральных исследований, результаты которых получают не ранее, чем через три недели [24]. Существует достаточно много отечественных ПЦР-тестов, которые позволяют выявлять МБТК и/или

проводить дифференциацию видов внутри комплекса МБТК [25]. Зарегистрированных в РФ наборов, детектирующих НТМБ в диагностическом материале, только два: набор «МТВ-тест» производства «ТестГен» (Россия), который предназначен для выявления МБТК или НТМБ, и использованный в представленном исследовании набор «Амплитуб-НТМБ-дифференциация» производства «НПФ Синтол» (Россия), который, помимо дифференциации МБТК от НТМБ, позволяет провести видовую идентификацию НТМБ. Следовательно, «Амплитуб-НТМБ-дифференциация» — единственный зарегистрированный в РФ отечественный набор, позволяющий проводить ускоренную видовую идентификацию возбудителей микобактериальных инфекций. Поэтому целью проведенного исследования было оценить возможность этого теста выявлять микобактериальную коинфекцию. Для этого были созданы модельные образцы, представляющие собой смешанную в разных соотношениях ДНК микобактерий разных видов. Было показано, что набор «Амплитуб-НТМБ-дифференциация» позволяет выявлять микобактериальную коинфекцию, если концентрация ДНК видов НТМБ в смеси составляет не менее 5 × 10² ГЭ/мл, или от 0,1 до 50% вида в смеси в зависимости от суммарной концентрации ДНК в образце.

Исследований, оценивающих диагностическую ценность молекулярно-генетических методов для выявления смешанной инфекции, недостаточно. Лишь в одном проведена оценка методов GeneXpert (Cepheid, США) и мультилокусного секвенирования для выявления смешанных культур микобактерий [26]. Его авторы показали, что GeneXpert способен идентифицировать МБТК в смеси с разными видами НТМБ в доле 1% (в рамках описанного исследования предел детекции вида в составе смеси — 3000 КОЕ/мл).

Сравнение результатов дискриминирующей способности картриджной технологии GeneXpert и метода ПЦР в режиме реального времени, описанного в нашем исследовании, показало, что дискриминирующая способность метода мультиплексной ПЦР при выявлении МБТК в составе смешанных популяций выше, чем установленная для GeneXpert (5 × 10² ГЭ/мл против 3 × 10³ КОЕ/мл соответственно). Кроме того, система GeneXpert выявляет только МБТК и не способна выявить смесь разных видов микобактерий. При наличии коинфекции МБТК и НТМБ результат исследования GeneXpert отразит только наличие МБТК, а при смеси видов НТМБ результат исследования GeneXpert будет отрицательным.

Дискриминирующая способность метода секвенирования, установленная ранее [26], зависела от видов микобактерий, входящих в состав смеси. Смесь МБТК с *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. abscessus* и *M. fortuitum* методом секвенирования определялась как два вида

Таблица 3. Результаты исследования модельных образцов смеси ДНК двух видов микобактерий методом мультиплексной ПЦР

Комбинация видов (вид 1 : вид 2)	Соотношение	Число положительных результатов ПЦР из числа исследованных образцов ДНК по целевым каналам детекции при суммарной концентрации ДНК			
		10 ⁶ ГЭ/мл	10 ⁵ ГЭ/мл	10 ⁴ ГЭ/мл	10 ³ ГЭ/мл
<i>M. tub.</i> : <i>M. avi.</i>	1 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10
	1 : 9	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. avi.</i> – 1/10
	1 : 99	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. avi.</i> – 2/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
	1 : 999	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. avi.</i> – 1/10	<i>M. avi.</i> – 10/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
	9 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –7/10; МБТК – 3/10
	99 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –7/10; МБТК – 3/10	МБТК – 10/10
	999 : 1	MIX –10/10	MIX –8/10; МБТК – 2/10	МБТК – 10/10	МБТК – 10/10
<i>M. tub.</i> : <i>M. abs.</i>	1 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10
	1 : 9	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. abs.</i> – 2/10
	1 : 99	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. abs.</i> – 1/10	<i>M. abs.</i> – 10/10
	1 : 999	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. abs.</i> – 2/10	<i>M. abs.</i> – 10/10	<i>M. abs.</i> – 10/10
	9 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –3/10 МБТК – 7/10
	99 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –3/10; МБТК – 7/10	МБТК – 10/10
	999 : 1	MIX –10/10	MIX –4/10; МБТК – 6/10	МБТК – 10/10	МБТК – 10/10
<i>M. avi.</i> : <i>M. int.</i>	1 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10
	1 : 9	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –7/10; <i>M. int.</i> – 3/10
	1 : 99	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. int.</i> – 2/10	<i>M. int.</i> – 100%
	1 : 999	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. int.</i> – 1/10	<i>M. int.</i> – 10/10	<i>M. int.</i> – 100%
	9 : 01	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. avi.</i> – 1/10
	99 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. avi.</i> – 2/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
	999 : 1	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. avi.</i> – 2/10	<i>M. avi.</i> – 10/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
<i>M. avi.</i> : <i>M. kans.</i>	1 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10
	1 : 9	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. kans.</i> – 2/10
	1 : 99	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. kans.</i> – 1/10	<i>M. kans.</i> – 10/10
	1 : 999	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. kans.</i> – 2/10	<i>M. kans.</i> – 10/10	<i>M. kans.</i> – 10/10
	9 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –5/10; <i>M. avi.</i> – 5/10
	99 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –5/10; <i>M. avi.</i> – 5/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
	999 : 1	MIX –10/10	MIX –6/10; <i>M. avi.</i> – 4/10	<i>M. avi.</i> – 10/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
<i>M. avi.</i> : <i>M. abs.</i>	1 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10
	1 : 9	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. abs.</i> – 1/10
	1 : 99	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –8/10; <i>M. abs.</i> – 2/10	<i>M. abs.</i> – 100%
	1 : 999	MIX –10/10	MIX –9/10; <i>M. abs.</i> – 1/10	<i>M. abs.</i> – 10/10	<i>M. abs.</i> – 100%
	9 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –2/10; <i>M. avi.</i> – 8/10
	99 : 1	MIX –10/10	MIX –10/10	MIX –4/10; <i>M. avi.</i> – 6/10	<i>M. avi.</i> – 10/10
	999 : 1	MIX –10/10	MIX –3/10; <i>M. avi.</i> – 7/10	<i>M. avi.</i> – 10/10	<i>M. avi.</i> – 10/10

Примечание: НТМБ — нетуберкулезные микобактерии; МБТК — микобактерии туберкулезного комплекса; *M. tub.* — *M. tuberculosis*; *M. avi.* — *M. avium*; *M. int.* — *M. intracellulare*; *M. kans.* — *M. kansasii*; *M. abs.* — *M. abscessus*; MIX — модельный образец распознан как смесь видов микобактерий; серым выделены ячейки с частотой выявления видов микобактерий в преддискриминируемой доле.

в том случае, если доля одного из видов составляла не менее 1% (3×10^3 КОЕ/мл). При исследовании методом секвенирования смеси МБТК и *M. avium*, наличие *M. avium* в смеси определяли, если ее доля составляла не менее 10% (3×10^4 КОЕ/мл), если доля *M. avium* была меньше 10% — определялись только МБТК [26]. Следовательно, дискриминирующая способность мультиплексной ПЦР выше, чем метода секвенирования для видов *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. abscessus*. Дискриминирующая способность метода мультиплексной ПЦР для смеси МБТК + *M. fortuitum* нами не определялась, так как вид *M. fortuitum*, по нашим данным, не является частой причиной заболеваний микобактериальной природы и крайне редко встречается в составе смешанных популяций, выделенных от пациентов [2]. Преимуществом мультиплексной

ПЦР перед секвенированием при выявлении микобактериальной коинфекции является также тот факт, что для секвенирования используют ДНК, выделенную из культур микобактерий, а для мультиплексной ПЦР — ДНК, выделенную непосредственно из диагностического материала, что ускоряет получение результата и делает его независимым от видоспецифичных культуральных особенностей микобактерий.

Выводы

Была изучена диагностическая ценность метода мультиплексной ПЦР при выявлении смешанных популяций микобактерий. Показано, что основанный на мультиплексной ПЦР набор «Амплитуб-НТМБ-дифференциация» способен

выявлять смеси видов микобактерий с высокой дискриминирующей способностью. Дискриминирующая способность метода ПЦР в режиме реального времени при анализе смеси ДНК двух видов микобактерий зависела от суммарного содержания ДНК в образце и варьировала от 0,1% для высоконагруженных образцов (суммарная концентрация ДНК 10^6 ГЭ/мл) до 50% для низконагруженных образцов (суммарная концентрация ДНК $\times 10^3$ ГЭ/мл) и соответствовала количеству ДНК вида в смеси не менее 5×10^2 ГЭ/мл. При количестве ДНК

каждого вида в смеси не менее 5×10^2 ГЭ/мл результат ПЦР на выявление коинфекции не зависел от видов микобактерий, входящих в смесь. Если количество ДНК вида микобактерий в смеси было ниже 5×10^2 ГЭ/мл, прослеживалась зависимость результатов ПЦР от вида микобактерий: вероятность выявить в составе смеси МБТК виды *M. avium* и *M. abscessus* была выше, чем *M. kansasii*; наименьшая вероятность быть выявленной в преддискриминируемой доле была у *M. abscessus*, что необходимо учитывать при анализе результатов ПЦР.

Литература

- Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization, 2023; 75 p.
- Смирнова Т. Г., Андреевская С. Н., Ларионова Е. Е., Черноусова Л. Н., Эргешов А. Смешанные популяции микобактерий у больных туберкулезом и микобактериозом: частота выявления и спектр видов. Туберкулез и социально-значимые заболевания. 2023; 2 (42): 19–24.
- Суркова Л. К., Залуцкая О. М., Скрягина Е. М., Николенко Е. Н., Яцкевич Н. В., Стринович А. Л. и др. Выделение и идентификация нетуберкулезных микобактерий и диагностика микобактериоза легких в Республике Беларусь. Клиническая инфектология и паразитология. 2020; 9 (2): 161–9.
- Park SC, Kang MJ, Han CH, Lee SM, Kim CJ, Lee JM, et al. Park SC, Kang MJ, Han CH, Lee SM, Kim CJ, Lee JM, Kang YA. Prevalence, incidence, and mortality of nontuberculous mycobacterial infection in Korea: a nationwide population-based study. BMC Pulm Med. 2019; 19 (1): 140.
- Nasiri MJ, Dabiri H, Darban-Sarokhalil D, Hashemi Shahraki A. Prevalence of Non-Tuberculosis Mycobacterial Infections among Tuberculosis Suspects in Iran: Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2015; 10 (6): e0129073.
- Brode SK, Daley CL, Marras TK. The epidemiologic relationship between tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial disease: a systematic review. Int J Tuberc Lung Dis. 2014; 18 (11): 1370–7.
- Henkle E, Winthrop KL. Nontuberculous mycobacteria infections in immunosuppressed hosts. Clin Chest Med. 2015; 36 (1): 91–9.
- To K, Cao R, Yegiazaryan A, Owens J, Venketaraman V. General Overview of Nontuberculous Mycobacteria Opportunistic Pathogens: Mycobacterium avium and Mycobacterium abscessus. J Clin Med. 2020; 9 (8): 2541.
- Lin CK, Yang YH, Lu ML, Tsai YH, Hsieh MJ, Lee YC, et al. Incidence of nontuberculous mycobacterial disease and coinfection with tuberculosis in a tuberculosis-endemic region: A population-based retrospective cohort study. Medicine (Baltimore). 2020; 99 (52): e23775.
- Ishiekwene C, Subran M, Ghitan M, Kuhn-Basti M, Chapnick E, Lin YS. Case report on pulmonary disease due to coinfection of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium abscessus: Difficulty in diagnosis. Respir Med Case Rep. 2017; 20: 123–4.
- Jun HJ, Jeon K, Um SW, Kwon OJ, Lee NY, Koh WJ. Nontuberculous mycobacteria isolated during the treatment of pulmonary tuberculosis. Respir Med. 2009; 103 (12): 1936–40.
- Kurahara Y, Tachibana K, Tsuyuguchi K, Suzuki K. Mixed pulmonary infection with three types of nontuberculous mycobacteria. Intern Med. 2013; 52 (4): 507–10.
- Андреевская С. Н., Ларионова Е. Е., Смирнова Т. Г., Андреевская И. Ю., Киселева Е. А., Черноусова Л. Н. Лекарственная чувствительность медленно растущих нетуберкулезных микобактерий. Туберкулез и болезни легких. 2016; 94 (4): 43–50.
- Shahraki AH, Heidarieh P, Bostanabad SZ, Khosravi AD, Hashemzadeh M, Khandan S, et al. "Multidrug-resistant tuberculosis" may be nontuberculous mycobacteria. Eur J Intern Med. 2015; 26 (4): 279–84.
- Bazzi AM, Abulhamayel Y, Rabaan AA, Al-Tawfiq JA. The impact of the coexistence of mycobacterium avium with mycobacterium tuberculosis on the result of GeneXpert and MGIT susceptibility test. J Infect Public Health. 2020; 13 (5): 827–9.
- Макарова М. В., Краснова М. А., Мороз А. М. Сравнительные данные применения высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации микобактерий, выделенных на жидкой и плотной питательных средах. Туберкулез и болезни легких. 2009; 86 (10): 46–48.
- Shitikov E, Ilna E, Chernousova L, Borovskaya A, Rukin I, Afanas'ev M, et al. Mass spectrometry based methods for the discrimination and typing of mycobacteria. Infect Genet Evol. 2012; 12 (4): 838–45.
- Смирнова Т. Г., Андреевская С. Н., Ларионова Е. Е., Андреевская И. Ю., Устинова В. В., Черноусова Л. Н. Мониторинг видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов Genotype Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Германия). Туберкулез и болезни легких. 2017; 95 (5): 54–59.
- Старкова Д. А., Журавлев Ю. В., Вязовая А. А., Соловьева Н. С., Куликова О. Н., Нарвская О. В. Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий у больных микобактериозом на территориях Северо-Западного федерального округа России. Туберкулез и болезни легких. 2019; 97 (6): 16–22.
- Smirnova T, Ustinova V, Andreevskaya S, Lariionova E, Kiseleva E, Chernousova L, et al. Evaluation of a new assay for nontuberculous mycobacteria species identification in diagnostic material and cultures. Tuberculosis (Edinb). 2021; 130: 102124.
- Гунтупова Л. Д., Борисов С. Е., Соловьева И. П. Микобактериозы во фтизиопульмонологической практике: обзор литературы и собственный опыт. Практическая медицина. 2011; 51 (3): 39–50.
- Приказ № 951 МЗ РФ от 29.12.2014. Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания.
- Севастьянова Э. В., Черноусова Л. Н. Современные алгоритмы микробиологической диагностики туберкулеза. Туберкулез и болезни легких. 2018; 96 (7): 11–17.
- Эргешов А. Э., Черноусова Л. Н., Андреевская С. Н. Новые технологии диагностики лекарственно-устойчивого туберкулеза. Вестник Российской академии медицинских наук. 2019; 74 (6): 413–22.
- Эргешов А. Э., Андреевская С. Н., Смирнова Т. Г., Черноусова Л. Н. Туберкулез с лекарственной устойчивостью возбудителя: механизмы формирования и методы молекулярно-генетической диагностики. Вестник Российской академии медицинских наук. 2023; 78 (6): 609–20.
- Liang Q, Shang Y, Huo F, Xue Y, Li Y, Dong L, et al. Assessment of current diagnostic algorithm for detection of mixed infection with Mycobacterium tuberculosis and nontuberculous mycobacteria. J Infect Public Health. 2020; 13 (12): 1967–71.

References

- Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization, 2023; 75 p.
- Smirnova TG, Andreevskaya SN, Larionova EE, Chernousova LN, Ergeshov A. Smeshannye populjicii mikobakterij u bol'nyh tuberkulezom i mikobakteriozom: chastota vyjavlenija i spektr vidov. *Tuberkulez i social'no-znachimnye zabolevanija*. 2023; 2 (42): 19–24. Russian.
- Surkova LK, Zaluckaya OM, Skryagina EM, Nikolenko EN, Jackevich NV, Strinovich AL, i dr. Vydelenie i identifikacija netuberkuleznych mikobakterij i diagnostika mikobakterioza legkih v Respublike Belarus'. *Klinicheskaja infektologija i parazitologija*. 2020; 9 (2): 161–9. Russian.
- Park SC, Kang MJ, Han CH, Lee SM, Kim CJ, Lee JM, et al. Park SC, Kang MJ, Han CH, Lee SM, Kim CJ, Lee JM, Kang YA. Prevalence, incidence, and mortality of nontuberculous mycobacterial infection in Korea: a nationwide population-based study. *BMC Pulm Med*. 2019; 19 (1): 140.
- Nasiri MJ, Dabiri H, Darban-Sarokhalil D, Hashemi Shahraki A. Prevalence of Non-Tuberculosis Mycobacterial Infections among Tuberculosis Suspects in Iran: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015; 10 (6): e0129073.
- Brode SK, Daley CL, Marras TK. The epidemiologic relationship between tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial disease: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014; 18 (11): 1370–7.
- Henkle E, Winthrop KL. Nontuberculous mycobacteria infections in immunosuppressed hosts. *Clin Chest Med*. 2015; 36 (1): 91–9.
- To K, Cao R, Yegiazaryan A, Owens J, Venketaraman V. General Overview of Nontuberculous Mycobacteria Opportunistic Pathogens: *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium abscessus*. *J Clin Med*. 2020; 9 (8): 2541.
- Lin CK, Yang YH, Lu ML, Tsai YH, Hsieh MJ, Lee YC, et al. Incidence of nontuberculous mycobacterial disease and coinfection with tuberculosis in a tuberculosis-endemic region: A population-based retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99 (52): e23775.
- Ishiekwene C, Subran M, Ghitan M, Kuhn-Basti M, Chapnick E, Lin YS. Case report on pulmonary disease due to coinfection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium abscessus*: Difficulty in diagnosis. *Respir Med Case Rep*. 2017; 20: 123–4.
- Jun HJ, Jeon K, Um SW, Kwon OJ, Lee NY, Koh WJ. Nontuberculous mycobacteria isolated during the treatment of pulmonary tuberculosis. *Respir Med*. 2009; 103 (12): 1936–40.
- Kurahara Y, Tachibana K, Tsuyuguchi K, Suzuki K. Mixed pulmonary infection with three types of nontuberculous mycobacteria. *Intern Med*. 2013; 52 (4): 507–10.
- Andreevskaya SN, Larionova EE, Smirnova TG, Andrievskaya IYu, Kiseleva EA, Chernousova LN. Lekarstvennaja chuvstvitel'nost' medlennorastushhij netuberkuleznych mikobakterij. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2016; 94 (4): 43–50. Russian.
- Shahraki AH, Heidarieh P, Bostanabad SZ, Khosravi AD, Hashemzadeh M, Khandan S, et al. "Multidrug-resistant tuberculosis" may be nontuberculous mycobacteria. *Eur J Intern Med*. 2015; 26 (4): 279–84.
- Bazzi AM, Abulhamayel Y, Rabaan AA, Al-Tawfiq JA. The impact of the coexistence of mycobacterium avium with mycobacterium tuberculosis on the result of GeneXpert and MGIT susceptibility test. *J Infect Public Health*. 2020; 13 (5): 827–9.
- Makarova MV, Krasnova MA, Moroz AM. Sravnitel'nye dannye primeneniya vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii dlja identifikacii mikobakterij, vydelenykh na zhidkoj i plotnoj pitatel'nyh sredah. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2009; 86 (10): 46–48. Russian.
- Shitikov E, Ilina E, Chernousova L, Borovskaya A, Rukin I, Afanas'ev M, et al. Mass spectrometry based methods for the discrimination and typing of mycobacteria. *Infect Genet Evol*. 2012; 12 (4): 838–45.
- Smirnova TG, Andreevskaya SN, Larionova EE, Andrievskaya IYu, Ustinova VV, Chernousova LN. Monitoring vidovogo raznoobrazija netuberkuleznych mikobakterij v rjace oblastej RF s ispol'zovaniem DNK-stripov Genotype Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Germanija). *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2017; 95 (5): 54–59. Russian.
- Starkova DA, Zhuravlev YuV, Vyazovaya AA, Soloveva NS, Kulikova ON, Narvskaya OV. Vidovoe raznoobrazie netuberkuleznych mikobakterij u bol'nyh mikobakteriozom na territorijah Severo-Zapadnogo federal'nogo okruga Rossii. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2019; 97 (6): 16–22. Russian.
- Smirnova T, Ustinova V, Andreevskaya S, Larionova E, Kiseleva E, Chernousova L, et al. Evaluation of a new assay for nontuberculous mycobacteria species identification in diagnostic material and cultures. *Tuberculosis (Edinb)*. 2021; 130: 102124.
- Guntupova LD, Borisov SE, Soloveva IP. Mikobakteriozy vo ftiziopul'monologicheskoi praktike: obzor literatury i sobstvennyj opyt. *Prakticheskaja medicina*. 2011; 51 (3): 39–50. Russian.
- Prikaz # 951 MZ RF ot 29.12.2014. Ob utverzhenii metodicheskikh rekomendacij po sovershenstvovaniju diagnostiki i lechenija tuberkuleza organov dyhanija. Russian.
- Sevastyanova YeV, Chernousova LN. Sovremennye algoritmy mikrobiologicheskoi diagnostiki tuberkuleza. *Tuberkuljoz i bolezni ljogkih*. 2018; 96 (7): 11–17. Russian.
- Ergeshov AE, Chernousova LN, Andreevskaya SN. Novye tehnologii diagnostiki lekarstvenno-ustojchivogo tuberkuleza. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2019; 74 (6): 413–22. Russian.
- Ergeshov AE, Andreevskaya SN, Smirnova TG, Chernousova LN. Tuberkulez s lekarstvennoj ustojchivost'ju vozбудitelja: mehanizmy formirovanija i metody molekularno-geneticheskoi diagnostiki. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2023; 78 (6): 609–20. Russian.
- Liang Q, Shang Y, Huo F, Xue Y, Li Y, Dong L, et al. Assessment of current diagnostic algorithm for detection of mixed infection with *Mycobacterium tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria. *J Infect Public Health*. 2020; 13 (12): 1967–71.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДОБАВЛЕНИЯ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ К ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ АСТЕНИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

А. А. Солдатенко¹, Л. Н. Гуменюк² ✉, Д. М. Бердиева², Э. И. Пономарчук²

¹ «ООО Рейн-ЛТД» Клиника Авиценна, Симферополь, Россия

² Медицинский институт имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского), Симферополь, Россия

Постковидный астенический синдром (ПКАС) остается предметом активного изучения. Целью исследования было оценить влияние применения системной озонотерапии в дополнение к фармакотерапии на показатели в плазме крови TNF α , IL1 β , IL6 и параметры психического статуса у пациентов с ПКАС. Обследовано и пролечено две рандомизированных группы пациентов с ПКАС ($n = 140$, возраст 18–45): пациентам основной группы ($n = 70$) дополнительно к фармакотерапии проводили системную озонотерапию; пациентам группы сравнения ($n = 70$) проводили только фармакотерапию. До и после лечения в плазме крови измеряли уровни TNF α , IL1 β , IL6 и оценивали психический статус пациентов по шкалам MFI-20, MoCa, ISI, HARS и CGI-S. По завершении терапии (на 30-й день) в основной группе уровни TNF α , IL1 β , IL6 не имели статистически значимых различий с показателями в контрольной группе ($p > 0,05$) и были ниже значений группы сравнения на 39% ($p = 0,003$), 33,3% ($p = 0,022$) и 36,1% ($p = 0,012$) соответственно. Изменения показателей психического статуса также более выражены в основной группе, чем в группе сравнения: средние итоговые баллы MFI-20 ниже на 36,7% ($p = 0,001$), ISI — на 50,5% ($p < 0,001$), HARS — на 45,8% ($p = 0,001$), MoCa — выше на 10,9% ($p = 0,046$) соответственно. В основной группе число пациентов с «отсутствием заболевания» по CGI-S — 94,2%, в группе сравнения — 62,9% ($p = 0,001$). В выполненном нами исследовании добавление системной озонотерапии к фармакотерапии у пациентов с ПКАС позволило добиться нормализации уровней TNF α , IL1 β , IL6 и полной редукции клинических проявлений ПКАС в 94,2% случаев. Таким образом, применение системной озонотерапии можно рассматривать в качестве одной из эффективных и патогенетически обоснованных стратегий комплексного лечения пациентов с ПКАС в амбулаторных условиях.

Ключевые слова: постковидный астенический синдром, системная озонотерапия, TNF α , IL1 β , IL6

Вклад авторов: А. А. Солдатенко — замысел и дизайн исследования, сбор данных; Л. Н. Гуменюк — анализ и интерпретация данных, написание статьи; Д. М. Бердиева — сбор данных; Э. И. Пономарчук — анализ и интерпретация данных.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Медицинского института имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» (протокол № 10 от 16 октября 2021 г.), спланировано и проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Все лица, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Леся Николаевна Гуменюк
бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, 295006, Республика Крым; lesya_gumenyuk@mail.ru

Статья получена: 02.07.2024 **Статья принята к печати:** 21.07.2024 **Опубликована онлайн:** 27.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.034

EFFECTIVENESS OF ENRICHING DRUG TREATMENT WITH SYSTEMIC OZONE THERAPY IN PATIENTS WITH POST-COVID ASTHENIC SYNDROME

Soldatenko AA¹, Gumenyuk LN² ✉, Berdieva DM², Ponomarchuk EI²

¹ Rein-LTD LLC, Avicenna Clinic, Simferopol, Russia

² Georgievsky Medical Academy, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

Post-COVID asthenic syndrome (PCAS) is still the subject of active study. The study was aimed to assess the effects of systemic ozone therapy used to complement drug therapy on plasma levels of TNF α , IL1 β , IL6 and parameters of mental status in patients with PCAS. Two randomized groups of patients with PCAS ($n = 140$, age 18–45) were assessed and treated: patients of the index group ($n = 70$) received systemic ozone therapy in addition to drug therapy; patients of the comparison group ($n = 70$) received drug therapy without systemic ozone therapy. Plasma levels of TNF α , IL1 β , IL6 were measured and the patients' mental status was assessed using the MFI-20, MoCa, ISI, HARS, and CGI-S scores before and after treatment. After the end of therapy (on day 30) the TNF α , IL1 β , IL6 levels reported for the index group showed no significant differences from the values reported for the control group ($p > 0.05$) and were lower, than the values of the comparison group by 39% ($p = 0.003$), 33.3% ($p = 0.022$), and 36.1% ($p = 0.012$), respectively. The changes in mental status were also more pronounced in the index group, than in the comparison group: the average final MFI-20 score was lower by 36.7% ($p = 0.001$), ISI by 50.5% ($p < 0.001$), HARS score by 45.8% ($p = 0.001$), while MoCa score was higher by 10.9% ($p = 0.046$), respectively. In the index group, the number of patients with "no disease" based on CGI-S was 94.2%, while in the comparison group it was 62.9% ($p = 0.001$). In our study adding systemic ozone therapy to drug therapy in patients with PCAS allowed us to achieve normalization of the TNF α , IL1 β , IL6 levels and complete reduction of PCAS clinical manifestations in 94.2% of cases. Thus, the use of systemic ozone therapy can be considered as one of the effective and pathogenetically substantiated strategies for combination treatment of patients with PCAS in outpatient settings.

Keywords: post-COVID asthenic syndrome, systemic ozone therapy, TNF α , IL1 β , IL6

Author contribution: Soldatenko AA — study concept and design, data acquisition; Gumenyuk LN — data analysis and interpretation, manuscript writing; Berdieva DM — data acquisition; Ponomarchuk EI — data analysis and interpretation.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University (protocol No. 10 dated 16 October 2021), planned and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The informed consent was submitted by all individuals included in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Lesya N. Gumenyuk
Bulvar Lenina, 5/7, Simferopol, 295006, Republic of Crimea; lesya_gumenyuk@mail.ru

Received: 02.07.2024 **Accepted:** 21.07.2024 **Published online:** 27.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.034

Постковидный астенический синдром (ПКАС), в структуре клинических проявлений которого ведущее место занимают хроническая усталость, когнитивная дисфункция, нарушения сна и тревога [1], остается предметом активного изучения.

По данным литературы, 40–70% пациентов вне зависимости от возраста и тяжести перенесенной COVID-19 страдают ПКАС [2, 3], который тесно сопряжен со значительным снижением уровня повседневного функционирования в 64%, профессионального и социального — в 70% [4] и качества жизни — в 92,4% [5]; до 20% пациентов не могут вернуться к работе через год после острой фазы инфекции [6]. Подобная статистика отражает серьезную социальную значимость ПКАС.

Доказано, что ПКАС имеет мультифакторный характер, патогенез которого сложен и изучен не до конца. В свете современных знаний одним из основных звеньев патологического процесса при ПКАС является системное воспаление, в развитии которого ключевое значение принадлежит абберантной экспрессии цитокинов [7]. Наиболее важными считают фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и провоспалительные интерлейкины IL1 β , IL6. Уровень этих медиаторов в плазме крови пациентов с ПКАС повышен и ассоциирован с тяжестью клинических проявлений [8, 9]. Эти данные позволяют рассматривать TNF α , IL1 β и IL6 как потенциальные мишени для терапии ПКАС, а динамику их изменений в качестве маркеров эффективности проводимого лечения [10, 11].

Определяющей терапевтической стратегией лечения пациентов с ПКАС принято считать фармакотерапию с использованием препаратов различных групп (в том числе антидепрессантов, транквилизаторов, ноотропных, нейрососудистых и нейрометаболических средств, витаминно-минеральных комплексов, адаптогенов) [12–14]. К сожалению, на сегодняшний день очевидно, что в качестве монофармакотерапии они далеко не всегда эффективны как в отношении симптоматики ПКАС, так и в отношении контроля состояния и качества жизни пациентов [15]. По этой причине часто применяют комбинацию нескольких групп препаратов [16]. Следует подчеркнуть, что комбинированная терапия имеет более высокую клиническую эффективность [15], однако ее применение ограничено ввиду потенциального риска развития полиорганной дисфункции и других серьезных нежелательных явлений (например, головокружения, тошноты, нарушений сна), а также снижения приверженности пациента к лечению. Поэтому особую актуальность приобретает применение методов физиотерапии, способных дополнить монофармакотерапию ПКАС, повысить эффективность проводимого лечения и избежать полипрагмазии [17].

С учетом основных механизмов развития и клинических проявлений ПКАС большой интерес может вызывать использование системной озонотерапии, которая обладает мощным и широким спектром противовоспалительного действия [18–20]. Наряду с этим системная озонотерапия оказывает мультимодальные иммуномодулирующий, антиоксидантный, метаболический, нейропротекторный и анксиолитический эффекты [21–24], что также важно для лечения пациентов с ПКАС. Системная озонотерапия имеет хорошую переносимость и надежные доказательства эффективности у пациентов с COVID-19 [25–27]. Так, у пожилых пациентов (старше 60 лет), госпитализированных в отделение интенсивной терапии с тяжелым течением COVID-19, снижение концентрации С-реактивного белка

(СРБ) на 48,2% и IL6 на 86,2% обнаружено уже через девять дней после применения системной озонотерапии в режиме пяти процедур, ежедневно в составе стандартного лечения [25]. В некоторых небольших исследованиях, выполненных в условиях специализированного стационара или санаторно-курортного лечения, сообщалось об эффективности озонотерапии в схеме комплексной терапии таких проявлений постковидного синдрома, как двухсторонняя полисегментарная пневмония [28], снижение толерантности к физическим нагрузкам, нарушение сна и хроническая усталость [29]. Значимым итогом исследований стало статистически значимое снижение концентрации С-реактивного белка (СРБ) [28, 29], нормализация уровня IL6, восстановление функционального статуса и качества жизни (КЖ) у 94,6% пациентов [29]. Эти данные позволяют предположить потенциальную эффективность системной озонотерапии в составе комплексного лечения ПКАС. Однако до настоящего времени отсутствуют доказательства, которые были бы получены в ходе проведения рандомизированных контролируемых исследований и указывали на эффективность добавления системной озонотерапии к фармакотерапии амбулаторных пациентов с ПКАС, сопровождающегося хронической усталостью, когнитивной дисфункцией, нарушениями сна и тревогой.

Цель исследования — оценить влияние применения системной озонотерапии в дополнение к фармакотерапии на показатели в плазме крови TNF α , IL1 β , IL6 и параметры психического статуса у пациентов с ПКАС.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

На базе Симферопольской городской клинической больницы № 7 (г. Симферополь) в период с 2022 по 2023 г. было проведено обследование и лечение 140 амбулаторных пациентов (женщины — 77 и мужчины — 63) в возрасте 18–45 лет (средний возраст — 34,2 [32,3; 36,2] лет) с астеническим синдромом в рамках состояния, отвечающего критериям рубрики U 09.9 Состояние после COVID-19 неуточненное по МКБ-10.

Критерии включения пациентов в исследование: возраст 18–45 лет; индекс массы тела — 18,5–24,9 кг/м²; перенесенная и верифицированная серологически COVID-19 в анамнезе; появление или заметное прогрессирование симптомов астенического синдрома (хронической усталости, когнитивной дисфункции, нарушений сна, тревоги) после COVID-19, сохраняющихся в течение 3–12 месяцев, которые не могут быть объяснены наличием альтернативного (помимо перенесенной коронавирусной инфекции) заболевания; итоговая оценка по шкале MFI-20 \geq 30 баллов, по шкале MoCa \leq 26 баллов, индексу ISI \geq 8 баллов, по шкале ESS \geq 11 баллов и шкале HARS \geq 8 баллов; отсутствие противопоказаний к проведению системной озонотерапии.

Критерии исключения: индекс массы тела < 18,5 и \geq 25 кг/м²; наличие психических расстройств, включая когнитивные дисфункции, нарушения сна, аффективную патологию, и прием психотропных средств в анамнезе; расстройства, связанные с употреблением алкоголя либо других психоактивных веществ в анамнезе; наличие неврологической очаговой симптоматики (по данным неврологического исследования); структурные нарушения головного мозга (по данным магнитно-резонансной томографии); повышенное внутричерепное давление; хронические инфекционные, воспалительные,

эндокринные, аутоиммунные, тромбофилические, онкологические заболевания; прием антибиотиков, противовирусных, сосудистых, метаболических, ноотропных, анаболических, мочегонных и антиоксидантных средств, пероральных контрацептивов в предшествующие три месяца до начала исследования; применение ранее фармакотерапии, психотерапии или реабилитационных мероприятий по поводу ПКАС; курение; отказ от участия в исследовании.

Пациенты в зависимости от метода лечения были рандомизированы на две группы. Основную группу составили 70 пациентов (43 женщины и 27 мужчин, средний возраст — 34,3 [32,5; 36,3] года), которые дополнительно к фармакотерапии получали системную озонотерапию. В группу сравнения было включено 70 пациентов (44 женщины и 26 мужчин, средний возраст — 33,7 [31,9; 35,9] года), которые получали только фармакотерапию.

В качестве модели монофармакотерапии пациентам обеих групп был рекомендован препарат на основе янтарнокислого комплекса с триметилгидразинием (АО «Биохимик», Россия) по предложенной производителем схеме: внутрь по 2 капсулы 2 раза в сутки (суточная доза 2000 мг) в течение 30 дней. Выбор препарата был обусловлен имеющимися официально утвержденными показаниями к применению при ПКАС, сопровождающемся повышенной утомляемостью, нарушениями сна, эмоциональной лабильностью и когнитивной дисфункцией [30], а также установленной эффективностью препарата при ПКАС [31]. Все пациенты согласились самостоятельно приобрести назначенный препарат. Пациентам основной группы с первого дня назначения фармакотерапии дополнительно проводили системную озонотерапию в виде внутривенного введения 200 мл озонированного 0,9% раствора натрия хлорида, каждый день, курсом 10 процедур, первые три процедуры — с концентрацией озона 2,0 мг/л, с последующим повышением концентрации озона до 3,0–4,0 мг/л. Все пациенты основной группы и группы сравнения успешно завершили исследование.

В порядке контроля обследовано 50 практически здоровых добровольцев, не привитых и не переносивших COVID-19. В эту группу вошли лица обоих полов 18–45 лет, с индексом массы тела 18,5–24,9 кг/м², итоговой оценкой по шкале MFI-20 <30 баллов, шкале MoCa >26 баллов, индексом ISI <8 баллов и оценкой по шкале HARS <8 баллов. Критерии невключения в группу контроля были идентичны таковым для группы пациентов с ПКАС. Группа контроля была паритетна по полу — 32 женщины и 18 мужчин, возрасту — 33,9 [32,3; 36,6] лет и индексу массы тела — 19,3 [18,8; 23,4] кг/м² с группой пациентов с ПКАС.

Всем пациентам проводили клинико-психопатологическое обследование, которое включало сбор жалоб, изучение анамнеза жизни и заболевания, а также изучение психического статуса, в том числе с помощью следующих методик: субъективной шкалы оценки астении (Multidimensional Fatigue Inventory, MFI-20) [32], Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment, MoCa) [33], индекса тяжести инсомнии (Insomnia Severity Index, ISI) [34], шкалы тревоги Гамильтона (The Hamilton Anxiety Rating Scale, HARS) [35], шкалы общего клинического впечатления (Clinical Global Impression Scale, CGI), а именно подшкалы CGI-S «Общее улучшение» [36] (до лечения и через 30 дней лечения). Кроме того, проводили регистрацию любых возмозжных нежелательных явлений (НЯ).

Всем здоровым добровольцам группы контроля однократно и пациентам с ПКАС в динамике (до лечения

и через 30 дней лечения) проводили исследование плазмы крови для оценки уровня TNF α , IL1 β и IL6 с помощью твердофазного иммуноферментного метода с использованием тестовых систем «ЗАО Вектор-Бест» (Россия). Взятие крови осуществляли из кубитальной вены утром (7.00–9.00) натощак (после 8–12 ч голодания).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft.Inc.; США). Количественные параметры представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили (%)], качественные — в виде доли и абсолютного количества значений. Для сравнительного анализа количественных параметров применяли U-критерий Манна-Уитни, для качественных — критерий χ^2 (хи-квадрат). Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные характеристики пациентов с ПКАС представлены в табл. 1. Группы пациентов были паритетны по всем показателям.

Исходно у пациентов основной группы и группы сравнения было зарегистрировано сопоставимое статистически значимое повышение в плазме крови показателей TNF α , IL1 β и IL6 по сравнению с группой контроля. По завершении терапии (на 30-й день) значения TNF α , IL1 β и IL6 статистически значимо уменьшились ($p < 0,05$) в обеих группах, однако разница в снижении была весьма значимой. В основной группе показатели TNF α , IL1 β и IL6 не имели статистически значимых различий с показателями контрольной группы ($p > 0,05$) и были ниже значений группы сравнения на 39% ($p = 0,003$), 33,3% ($p = 0,022$) и 36,1% ($p = 0,012$) соответственно (табл. 2).

Динамика параметров психического статуса при лечении пациентов с ПКАС представлена в табл. 3. На основании полученных данных можно сделать вывод, что по завершении терапии (на 30-й день) изменения были статистически значимыми ($p < 0,05$) и более выраженными в основной группе. Средняя разность изменений между основной группой и группой сравнения по средним итоговым баллам MFI-20 составила 36,7% ($p = 0,001$), MoCa — 10,9% ($p = 0,046$), ISI — 50,5% ($p < 0,001$), HARS — 45,8% ($p = 0,001$). В основной группе число пациентов с «отсутствием заболевания» по данным подшкалы CGI-S составило 66 (94,2%), в группе сравнения — 44 (62,9%) ($p = 0,001$).

В процессе исследования у пациентов основной группы и группы сравнения не зарегистрировано нежелательных явлений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как уже отмечалось, при ПКАС в плазме крови значительно повышается уровень провоспалительных цитокинов TNF α , IL1 β и IL6 [37], которые, проникая через гематоэнцефалический барьер в областях его повреждения или повышенной проницаемости, приводят к активации макрофагов и микроглиальных клеток [38]. Это вызывает трансформацию морфологии клеток и инициации экспрессии IBA1-антигена. В результате происходит секреция *de novo* цитокинов в мозге (особенно IL1 β и TNF α) и развитие нейровоспаления [39]. В то же время нейровоспаление признается важнейшим механизмом,

Таблица 1. Характеристика пациентов с ПКАС

Показатель	Основная группа (n = 70)	Группа сравнения (n = 70)	p_{1-2}
	1	2	
Средний возраст, лет (медиана [25%; 75%])	34,3 [32,5; 36,3]	33,7 [31,9; 35,9]	0,781
Женщины/мужчины	43 (61,4) / 27 (38,6)	44 (62,9) / 26 (37,1)	0,771
Индекс массы тела, кг/м ² (медиана [25%; 75%])	20,3 [18,3; 22,6]	21,0 [18,6; 22,7]	0,874
Легкое течение COVID-19 (n, %)	43 (61,4)	44 (62,9)	0,884
Среднетяжелое течение COVID-19 (n, %)	20 (28,5)	20 (28,5)	1
Тяжелое течение COVID-19 (n, %)	7 (10,0)	6 (8,6)	0,075
Срок появления симптомов ПКАС после острой COVID-19, месяцы (медиана [25%; 75%])	4,9 [3,0; 5,7]	4,4 [3,3; 5,1]	0,893
MFI-20 СИБ (медиана [25%; 75%])	81,9 [77,7; 84,9]	81,3 [78,1; 83,9]	0,801
MoCa СИБ (медиана [25%; 75%])	24,2 [24,0; 25,7]	24,1 [24,0; 25,4]	0,881
ISI СИБ (медиана [25%; 75%])	18,2 [16,3; 19,2]	17,7 [16,0; 18,8]	0,867
HARS СИБ (медиана [25%; 75%])	21,3 [19,2; 22,9]	20,9 [18,7; 22,7]	0,891
CGI-S выраженное расстройство (n, %)	41 (58,6)	39 (55,7)	0,072
CGI-S умеренно выраженное расстройство (n, %)	29 (41,4)	31 (44,3)	0,07

Примечание: СИБ — средние итоговые баллы.

посредством которого цитокины, изменяя молекулярные и эпигенетические процессы, в конечном счете приводят к нарушению клеточной пластичности, дисфункции нервной ткани [40] и развитию клинических проявлений ПКАС [41, 42]. Широкий спектр противовоспалительного действия системной озонотерапии хорошо изучен и довольно сложен. Системная озонотерапия ингибирует транскрипционную активность внутриклеточного сигнального пути ядерного фактора «каппа-би» (NF- κ B), в результате чего угнетается выделение ряда воспалительных медиаторов, которые участвуют в воспалительном ответе, таких как IL1 β , IL6 и TNF α [18]. Наряду с этим интенсивно подавляется активность ядерного фактора, родственного эритроидному фактору 2 (Nrf2) [43], что проявляется повышением активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза) [44, 45], участвующих в подавлении воспаления путем влияния на экспрессию цитокинов [46]. Кроме того, системная озонотерапия ингибирует сигнальный путь р38MAPK и ERK1/ERK2, тем самым уменьшая продукцию TNF α и IL1 β моноцитами [47]. Многочисленные исследования доказали, что эффекты системной озонотерапии последовательны, безопасны и обладают высоким терапевтическим потенциалом при многих

патологических состояниях, общим патогенетическим звеном которых является системное воспаление, в том числе и COVID-19 [25–27]. При этом к настоящему времени опубликовано лишь три исследования (1 наблюдательное и 2 рандомизированных контролируемых испытания (РКИ)), авторы которых изучали эффективность и безопасность системной озонотерапии в качестве монотерапии и составе комплексного лечения пациентов с постковидным синдромом.

Так, в одном из наблюдательных исследований 100 пациентам (средний возраст 55,2 \pm 12,72 лет) с симптомами ПКАС была проведена системная озонотерапия в режиме 2–3 процедуры в неделю (курс 6–9 процедур) [48]. К концу наблюдения у 40% пациентов отмечалась полная редукция астенической симптоматики и 60%-е значительное снижение ее выраженности (по данным шкалы «Fatigue Severity Scale»).

В другой работе в рамках РКИ изучали эффективность и безопасность включения системной озонотерапии в комплексное лечение (лечебная физкультура, физиотерапия: низкочастотная магнитотерапия и лекарственный электрофорез с KI, CaCl₂) госпитализированных пациентов в возрасте 29–78 лет с постковидной двусторонней полисегментарной пневмонией на втором этапе

Таблица 2. Динамика показателей в плазме крови TNF α , IL1 β , IL6 при лечении пациентов с ПКАС (медиана [25%; 75%])

Показатель	Контроль	Основная группа (n = 70)		Группа сравнения (n = 70)		Δ_{3-5} / p_{3-5}
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
		2	3	4	5	
TNF α , пг/мл	5,2 [2,8; 7,6]	14,9 [9,1; 15,2]	6,1 [3,6; 8,2]	15,2 [8,8; 15,7]	10,0 [7,4; 12,3]	39,0% / 0,003
		$\Delta_{3-2} -59,1\%$, $p_{3-2} < 0,001$		$\Delta_{5-4} -34,2\%$, $p_{5-4} = 0,002$		
		$p_{2-1} < 0,001$, $p_{3-1} = 0,074$		$p_{4-1} < 0,001$, $p_{5-1} = 0,001$		
IL1 β , пг/мл	2,9 [1,5; 4,1]	8,1 [6,6; 10,3]	3,6 [2,5; 4,8]	8,0 [6,4; 10,1]	5,4 [4,7; 7,3]	33,3% / 0,022
		$\Delta_{3-2} -55,6\%$, $p_{3-2} = 0,001$		$\Delta_{5-4} -32,5\%$, $p_{5-4} = 0,021$		
		$p_{2-1} < 0,001$, $p_{3-1} = 0,079$		$p_{4-1} < 0,001$, $p_{5-1} = 0,033$		
IL6, пг/мл	3,8 [2,0; 5,6]	9,9 [6,7; 12,4]	3,9 [2,7; 6,2]	9,6 [6,4; 13,0]	6,1 [5,5; 9,3]	36,1% / 0,012
		$\Delta_{3-2} -60,6\%$, $p_{3-2} < 0,001$		$\Delta_{5-4} -36,5\%$, $p_{5-4} = 0,016$		
		$p_{2-1} < 0,001$, $p_{3-1} = 0,082$		$p_{4-1} < 0,001$, $p_{5-1} = 0,026$		

Примечание: p — значимость различий между сравниваемыми группами, Δ — разность изменений.

Таблица 3. Динамика параметров психического статуса при лечении пациентов с ПКАС

Показатель	Основная группа (n = 70)		Группа сравнения (n = 70)		Δ_{4-2} / p_{4-2}
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
	1	2	3	4	
MFI-20 СИБ (медиана [25%; 75%])	81,9 [77,7; 84; 9]	20,5 [18,1; 22,3]	81,6 [78,3; 84; 6]	32,4 [29,0; 34,2]	36,7% / 0,001
	$\Delta_{2-1} -74,7\%$, $p_{2-1} < 0,001$		$\Delta_{4-3} -60,3\%$, $p_{4-3} < 0,001$		
MoCa СИБ (медиана [25%; 75%])	24,2 [24,0; 25,7]	28,5 [27,3; 29,5]	24,5 [24,2; 25,6]	25,7 [25,1; 26,2]	10,9% / 0,046
	$\Delta_{2-1} +17,1\%$, $p_{2-1} = 0,041$		$\Delta_{4-3} +4,9\%$, $p_{4-3} = 0,072$		
ISI СИБ (медиана [25%; 75%])	18,2 [16,3; 19,2]	5,0 [3,7; 7,5]	17,7 [16,0; 18,5]	10,1 [9,3; 11,7]	50,5% / <0,001
	$\Delta_{2-1} -81,3\%$, $p_{2-1} < 0,001$		$\Delta_{4-3} -42,9\%$, $p_{4-3} = 0,001$		
HARS СИБ (медиана [25%; 75%])	21,3 [19,2; 22,9]	5,8 [4,3; 6,8]	20,7 [18,8; 23,1]	10,7 [9,5; 12,1]	45,8 / 0,001
	$\Delta_{2-1} -72,8\%$, $p_{2-1} < 0,001$		$\Delta_{4-3} -48,3\%$, $p_{4-3} < 0,001$		
CGI-S отсутствие заболевания (n, %)	0	66 (94,2)	0	44 (62,9)	49,8% / 0,001
	$p_{2-1} < 0,001$		$p_{4-3} < 0,001$		
CGI-S легкое расстройство (n, %)	0	4 (5,8)	0	19 (27,1)	78,6% / 0,001
	$p_{2-1} = 0,072$		$p_{4-3} < 0,001$		
CGI-S выраженное расстройство (n, %)	41 (58,6)	0	39 (55,7)	0	5,0% / 0,893
	$p_{2-1} = 0,001$		$p_{4-3} = 0,001$		
CGI-S умеренно выраженное расстройство (n, %)	29 (41,4)	0	31 (44,3)	0	7,0% / 0,887
	$p_{2-1} = 0,001$		$p_{4-3} = 0,001$		

Примечание: СИБ — средние итоговые баллы, Δ — разность изменений.

реабилитации [28]. Были показаны статистически значимо лучшие результаты в группе пациентов системной озонотерапии по показателям СРБ, Д-димера, суммарной оценки клинического состояния и достигнутому улучшению качества жизни.

Также эффективность системной озонотерапии при добавлении к стандартному комплексу санаторно-курортного лечения (СКЛ) была оценена в РКИ при обследовании 140 пациентов (мужчины — 44,3%, женщины — 55,7%, средний возраст — 49,2 [46,5; 52,3] года) с постковидным синдромом, которые через 7 месяцев после перенесенной новой коронавирусной инфекции продолжали испытывать хроническую усталость, снижение настроения, одышку, непереносимость физических нагрузок [29]. Пациенты были рандомизированы на две группы: в 1-й группе (n = 70) проводили системную озонотерапию в виде внутривенных капельных инфузий озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 2,0 мг/л, курсом 10 процедур в режиме одна процедура в день + комплекс СКЛ (климатотерапия, лечебная физкультура, общий массаж с приоритетом на грудную клетку, пелоидотерапия грязями Сакского озера, ингаляции гиалуроновой кислотой); пациентам 2-й группы (n = 70) проводили тот же комплекс СКЛ без включения системной озонотерапии. Продолжительность СКЛ составила 14 дней. В ходе исследования установлено, что включение системной озонотерапии обеспечивало статистически значимое снижение уровня малонового диальдегида (в 3,3 раза, $p < 0,001$), возрастание активности глутатионпероксидазы (в 1,7 раза, $p = 0,003$), нормализацию уровня IL6, что сопровождалось значительным улучшением клинического состояния и качества жизни у 94,6% пациентов (против 62,3% во 2-й группе). Важно, что результаты вышеприведенных исследований продемонстрировали не только эффективность, но и высокий профиль безопасности системной озонотерапии у пациентов с постковидным синдромом [29, 49].

В настоящем исследовании представлены результаты применения системной озонотерапии в дополнение к фармакотерапии у амбулаторных пациентов с ПКАС, сопровождающегося хронической усталостью, когнитивной дисфункцией, нарушениями сна и тревогой.

Расчет на эффективность добавления системной озонотерапии связывали с ее широким спектром противовоспалительного действия, что полностью подтвердилось в нашей работе. По завершении терапии (на 30-й день) уровень TNF α снизился на 59,1% — с 14,9 [9,1; 15,2] пг/мл до 6,1 [3,6; 8,2] пг/мл, IL1 β на 55,6% — с 8,1 [6,6; 10,3] пг/мл до 3,6 [2,5; 4,8] пг/мл, т. е. полностью нормализовались и были более чем на 30% ниже относительно группы сравнения ($p = 0,003$ и $p = 0,022$ соответственно). Уровень IL6 также был значимо ниже (на 36,5%), чем в группе сравнения ($p = 0,012$). Очевидно, что это можно рассматривать как одно из проявлений противовоспалительного эффекта системной озонотерапии у пациентов с ПКАС. Полученные нами результаты иллюстрируют противовоспалительный эффект и преимущества добавления системной озонотерапии к фармакотерапии в коррекции изменений уровня TNF α , IL1 β и IL6 у пациентов с ПКАС. Так как повышенные уровни этих цитокинов тесно ассоциированы с тяжестью клинических проявлений ПКАС и прогнозом [8, 9], вышеприведенные данные позволяют рассматривать добавление системной озонотерапии не только эффективным, но и максимально патогенетически обоснованным.

В результате по завершении терапии (на 30-й день) у пациентов с ПКАС группы системной озонотерапии удалось добиться значительного улучшения клинического состояния в виде статистически значимого равномерного уменьшения выраженности всего комплекса симптоматики ПКАС, что нашло подтверждение в динамике оценок по MFI-20, MoCa, ISI и HARS. В частности, по завершении терапии (на 30-й день) суммарная оценка тяжести хронической усталости по шкале MFI-20 статистически значимо снизилась (на 74,7%) с медианы 81,9 баллов

«выраженная» до 20,5 баллов «симптомы хронической усталости отсутствуют»; шкале ISI — с медианы 18,2 баллов «умеренные нарушения сна» до 5,0 баллов «норма» (среднее снижение показателя составило 81,3%); по шкале HARS — с медианы 21,3 баллов «симптомы тревоги умеренно выраженные» до 5,8 баллов «отсутствие симптомов тревоги» (среднее снижение показателя составило 72,8%). Суммарная оценка когнитивного статуса по шкале MoCa возросла на 17,1% с медианы 24,2 баллов «когнитивные нарушения» до 28,5 баллов «когнитивные нарушения отсутствуют». Все достигнутые показатели статистически значимо отличались в лучшую сторону от показателей группы сравнения ($p = 0,001$).

В итоге по завершении терапии (на 30-й день) в группе системной озонотерапии число пациентов с «отсутствием заболевания», т. е. полной редукцией клинических проявлений ПКАС по данным шкалы CGI, составило 94,2% и их было намного больше, чем в группе сравнения ($p = 0,001$). Эти данные совпадают с результатами оценки других параметров эффективности и также подтверждают клинические преимущества добавления системной озонотерапии к фармакотерапии пациентов с ПКАС.

Переносимость системной озонотерапии при добавлении ее к фармакологическому лечению пациентами с ПКАС в нашем исследовании была хорошей (не зарегистрировано ни одного нежелательного явления), что соотносится с данными ранее выполненных исследований [28, 29].

Таким образом, по результатам исследования применение системной озонотерапии в дополнение к фармакотерапии является высокоэффективным и безопасным при лечении пациентов с ПКАС.

ВЫВОДЫ

В выполненном нами исследовании добавление системной озонотерапии к фармакологическому лечению у пациентов с ПКАС позволило добиться нормализации уровней TNF α , IL1 β и IL6 и полной редукции клинических проявлений ПКАС в 94,2% случаев. Применение системной озонотерапии может быть рассмотрено в качестве одной из эффективных и патогенетически обоснованных стратегий комплексного лечения пациентов с ПКАС в амбулаторных условиях.

Литература

- Buttery S, Philip KEJ, Williams P, Fallas A, West B, Cumella A, et al. Patient symptoms and experience following COVID-19: results from a UK-wide survey. *BMJ Open Respir Res.* 2021; 8 (1): e001075. DOI: 10.1136/bmjresp-2021-001075.
- Chen C, Haupt SR, Zimmermann L, Shi X, Fritsche LG, Mukherjee B. Global Prevalence of Post COVID-19 Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Infect Dis.* 2022; 226: 1593–607. DOI: 10.1093/infdis/jiac136
- Seang S, Itani O, Monsel G, Abdi B, Marcelin AG, Valantin MA, et al. Long COVID-19 symptoms: Clinical characteristics and recovery rate among non-severe outpatients over a six-month follow-up. *Infect Dis Now.* 2022; 52: 165–9. DOI: 10.1016/j.idnow.2022.02.005.
- Boutou AK, Asimakos A, Kortianou E, Vogiatzis I, Zouveleki A. Long COVID-19 pulmonary sequelae and management considerations. *J Personal Med.* 2021; 11 (9): 838. DOI: 10.3390/jpm11090838.
- Vélez-Santamaría R, Fernández-Solana J, Méndez-López F, Domínguez-García M, González-Bernal JJ, Magallón-Botaya R, et al. Functionality, physical activity, fatigue and quality of life in patients with acute COVID-19 and Long COVID infection. *Sci Rep.* 2023; 14: 13 (1): 19907. DOI: 10.1038/s41598-023-47218-1.
- Rooney S, Webster A, Paul L. Systematic Review of Changes and Recovery in Physical Function and Fitness after Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus Infection: Implications for COVID-19 Rehabilitation. *Phys Ther.* 2020; 100: 1717–29. DOI: 10.1093/ptj/pzaa129.
- Schultheiß C, Willscher E, Paschold L, Gottschick C, Klee B, Glasauer S, et al. From online data collection to identification of disease mechanisms: the IL1 β , IL6 and TNF α cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19 in a digital research cohort. *SSRN Electron J [Internet].* 2021. DOI: 10.2139/ssrn.3963839.
- Salamanna F, Veronesi F, Martini L, Landini MP, Fini M. Post-COVID-19 syndrome: the persistent symptoms at the post-viral stage of the disease: a systematic review of the current data. *Frontiers in medicine.* 2021; 8: 392. DOI: 10.3389/fmed.2021.653516.
- Liu Z, Lv Z, Zhou X, Shi J, Hong S, Huang H, Lv L. Efficacy of traditional Chinese exercises in patients with post-COVID-19 chronic fatigue syndrome: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2022; 18: 101 (46): e31450. DOI: 10.1097/MD.00000000000031450.
- Kappellmann N, Dantzer R, Khandaker GM. Interleukin-6 as potential mediator of long-term neuropsychiatric symptoms of COVID-19. *Psychoneuroendocrinology.* 2021; 131: 105295. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2021.105295.
- Yin JX, Agbana YL, Sun ZS, Fei SW, Zhao HQ, Zhou XN, et al. Increased interleukin-6 is associated with long COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty.* 2023; 12 (1): 43. DOI: 10.1186/s40249-023-01086-z.
- Захаров Д. В., Буряк Ю. В. Постковидные когнитивные расстройства. Современный взгляд на проблему, патогенез и терапию. *Обзор психиатрии и медицинской психологии им. В. М. Бехтерева.* 2021; 55 (4): 97–105.
- Хасанова Д. Р., Житкова Ю. В., Васкаева Г. Р. Постковидный синдром: обзор знаний о патогенезе, нейропсихиатрических проявлениях и перспективах лечения. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2021; 13 (3): 93–98.
- Ахмеджанова Л. Т., Остроумова Т. М., Солоха О. А. Ведение пациентов с болевыми синдромами на фоне COVID-19. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2021; 13 (5): 96–101.
- Хайбуллина Д. Х., Максимов Ю. Н. Астенический постковидный синдром. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2023; 123 (3): 61–69. DOI: 10.17116/inevro202312303161.
- Наумов К. М., Андреева Г. О., Баженов Д. А. Дифференцированный подход к коррекции вегетативных нарушений при постковидном синдроме. *Известия Российской Военно-медицинской академии.* 2021; 40 (S4): 88–91.
- Бахарева О. Н., Бахарев С. А., Конов К. Ю., Вантеев Д. А., Лягушин Р. С. Неврологические проявления постковидного синдрома и возможности реабилитации. *Лазерная медицина.* 2021; 25 (1): 16–20.
- AlMogbel AA, Albarrak MI, AlNumair SF. Ozone Therapy in the Management and Prevention of Caries. *Cureus.* 2023; 15 (4): e37510. DOI: 10.7759/cureus.37510.
- Bette M, Cors E, Kresse C, Schütz B. Therapeutic treatment of superoxide dismutase 1 (G93A) amyotrophic lateral sclerosis model mice with medical ozone decelerates trigeminal motor neuron degeneration, attenuates microglial proliferation, and preserves monocyte levels in mesenteric lymph nodes. *Int J Mol Sci.* 2022; 23: 3403. DOI: 10.3390/ijms23063403.
- Wang Z, Zhang A, Meng W, Wang T, Li D, Liu Z, Liu H. Ozone protects the rat lung from ischemia-reperfusion injury by attenuating NLRP3-mediated inflammation, enhancing Nrf2 antioxidant activity and inhibiting apoptosis. *Eur J Pharmacol.*

- 2018; 835: 82–93. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.07.059.
21. Sallustio F, Cardinale G, Voccola S, Picerno A, Porcaro P, Gesualdo L. Ozone eliminates novel coronavirus Sars-CoV-2 in mucosal samples. *New Microbes New Infect.* 2021; 43: 100927. DOI: 10.1016/j.nmni.2021.100927.
 22. Zheng Z, Dong M, Hu K. A preliminary evaluation on the efficacy of ozone therapy in the treatment of COVID-19. *J Med Virol.* 2020; 92: 2348–50. DOI: 10.1002/jmv.26040.
 23. Díaz-Soto MT, Pérez AF, Vaillant JD, Mallok A, Viebahn-hänsler R, Menéndez C, et al. Ozone Therapy Ameliorates Nervous System Disorders and Oxidative Stress in Patients During Ethanol Withdrawal - A Pilot Study, *Ozone: Science & Engineering.* 2012; 34 (6): 432–37. DOI: 10.1080/01919512.2012.717858.
 24. Руднев И. Е., Проценко И. В., Максимова Н. Е. Озонотерапия при тревожных и депрессивных расстройствах с паническими атаками. *Верхневолжский медицинский журнал.* 2018; 17 (4): 18–21.
 25. Franzini M, Valdenassi L, Ricevuti G, Chirumbolo S, Depfenhart M, Bertossi D, Tirelli U. Oxygen-ozone (O₂-O₃) immunoeceutical therapy for patients with COVID-19 Preliminary evidence reported. *Int Immunopharmacol.* 2020; 88: 106879. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106879.
 26. Shah M, Captain J, Vaidya V, Kulkarni A, Valsangkar K, Nair PMK, Ganu G. Safety and efficacy of ozone therapy in mild to moderate COVID-19 patients: A phase 1/11 randomized control trial (SEOT study). *Int Immunopharmacol.* 2021; 91: 107301. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107301.
 27. Fernandez-Cuadros ME, Albaladejo-Florin MJ, Alava-Rabasa S, Usandizaga-Elio I, Martinez-Quintanilla Jimenez D, Pena-Lora D, et al. Effect of Rectal ozone (O₃) in severe COVID-19 pneumonia: preliminary results. *SN Compr Clin Med.* 2020; 2: 1328–36. DOI: 10.1007/s42399-020-00374-1.
 28. Цветкова А. В., Конева Е. С., Костенко А. А., Бишева Д. Р., Сидякина И. В., Конев С. М., и др. Роль системной озонотерапии в реабилитации пациентов, перенесших COVID-19. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры.* 2022; 99 (4–2): 22–29. DOI: 10.17116/kurort20229904222.
 29. Гуменюк Л. Н., Терновая А. И., Паршикова В. О., Худякова А. С., Джепаров Э. Ф. Эффективность применения озонотерапии у пациентов с постковидным синдромом на этапе санаторно-курортного лечения. *Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования.* 2023; 3: 59–65.
 30. Танашян М. М., Кузнецова П. И., Раскуражев А. А., Заславская К. Я. Структура постковидного астенического синдрома. *Перспективы коррекции. Терапевтический архив.* 2023; 95 (5): 418–24. DOI: 10.26442/00403660.2023.05.202224.
 31. Танашян М. М., Раскуражев А. А., Кузнецова П. И., Бельи П. А., Заславская К. Я. Перспективы и возможности терапии пациентов с астеническим синдромом после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Терапевтический архив.* 2022; 94 (11): 1285–93. DOI: 10.26442/00403660.2022.11.201981.
 32. Smets EMA, Garssen B, Bonke B, De Haes JCJM. The multidimensional fatigue inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *Journal of Psychosomatic Research.* 1995; 39 (5): 315–25.
 33. Kopecek M, Stepankova H, Lukavsky J, Ripova D, Nikolai T, Bezdicsek O. Montreal Cognitive Assessment (MoCA): Normative Data for Old and Very Old Czech Adults// *Applied Neuropsychology: Adult.* 2016; 1–7. DOI: 10.1080/23279095.2015.1065261.
 34. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989; 28 (2): 193–213. DOI: 10.1016/0165-1781(89)90047-4.
 35. Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol.* 1959; 32: 50–55. DOI: 10.1111/j.2044-8341.1959.tb00467.x.
 36. Busner J, Targum SD. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont).* 2007; 4 (7): 28–37.
 37. Alonzo-Domínguez J, Gallego-Rodríguez M, Martínez-Barros I, Calderón-Cruz B, Leiro-Fernández V, Pérez-González A, Poveda E. High Levels of IL1 β , TNF α and MIP-1 α One Month after the Onset of the Acute SARS-CoV-2 Infection, Predictors of Post COVID-19 in Hospitalized Patients. *Microorganisms.* 2023; 26: 11 (10): 2396. DOI: 10.3390/microorganisms11102396.
 38. Majolo F, Silva GL, Vieira L, Anli C, Timmers LF, Laufer S, Goettert M. Neuropsychiatric disorders and COVID-19: what we know so far. *Pharmaceuticals.* 2021; 14 (9): 933. DOI: 10.3390/ph14090933.
 39. Ganong WF. Circumventricular organs: definition and role in the regulation of endocrine and autonomic function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2000; 27: 422–7. DOI: 10.1046/j.1440-1681.2000.03259.x.
 40. Evrensel A, Ünsalver BÖ, Ceylan ME. Neuroinflammation, Gut-Brain Axis and Depression. *Psychiatry Investig.* 2020; 17 (1): 2–8. DOI: 10.30773/pi.2019.08.09.
 41. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Front Immunol.* 2020; 11: 1708. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01708.
 42. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, Hasebe R, Tanaka Y, Murakami M, Hirano T. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflam Regen.* 2020; 40: 37. DOI: 10.1186/s41232-020-00146-3.
 43. Scassellati C, Galoforo AC, Bonvicini C, Esposito C, Ricevuti G. Ozone: a natural bioactive molecule with antioxidant property as potential new strategy in aging and in neurodegenerative disorders. *Ageing Res Rev.* 2020; 63: 101138. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101138.
 44. Kim AN, Jeon W-K, Lee JJ, Kim B-C. Up-regulation of heme oxygenase-1 expression through CaMKII-ERK1/2-Nrf2 signaling mediates the anti-inflammatory effect of bisdemethoxycurcumin in LPS-stimulated macrophages. *Free Radic Biol Med.* 2010; 49 (3): 323–33. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.015.
 45. Ahmed SM, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation. *BBA-Mol Basis Dis.* 2017; 1863 (2): 585–97. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.005.
 46. Ahmed SM, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017; 1863 (2): 585–97. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.005.
 47. Cenci A, Macchia I, La Sorsa V, Sbarigia C, Di Donna V, Pietraforte D. Mechanisms of Action of Ozone Therapy in Emerging Viral Diseases: Immunomodulatory Effects and Therapeutic Advantages With Reference to SARS-CoV-2. *Front Microbiol.* 2022; 21 (13): 871645. DOI: 10.3389/fmicb.2022.871645.
 48. Tirelli U, Franzini M, Valdenassi L, Pisconti S, Taibi R, Torrisi C, et al. Fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV2 (PASC) treated with oxygen-ozoneautohemotherapy - preliminary results on 100 patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021; 25 (18): 5871–5. DOI: 10.26355/eurrev_202109.

References

1. BATTERY S, PHILIP KEJ, WILLIAMS P, FALLAS A, WEST B, CUMELLA A, et al. Patient symptoms and experience following COVID-19: results from a UK-wide survey. *BMJ Open Respir Res.* 2021; 8 (1): e001075. DOI: 10.1136/bmjresp-2021-001075.
2. Chen C, Haupt SR, Zimmermann L, Shi X, Fritsche LG, Mukherjee B. Global Prevalence of Post COVID-19 Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Infect Dis.* 2022; 226: 1593–607. DOI: 10.1093/infdis/jiac136
3. Seang S, Itani O, Monsel G, Abdi B, Marcelin AG, Valantin MA, et al. Long COVID-19 symptoms: Clinical characteristics and recovery rate among non-severe outpatients over a six-month follow-up. *Infect Dis Now.* 2022; 52: 165–9. DOI: 10.1016/j.idnow.2022.02.005.
4. Boutou AK, Asimakos A, Kortianou E, Vogiatzis I, Tzouvelekas A. Long COVID-19 pulmonary sequelae and management considerations. *J Personal Med.* 2021; 11 (9): 838. DOI: 10.3390/jpm11090838.
5. Vélez-Santamaría R, Fernández-Solana J, Méndez-López F, Domínguez-García M, González-Bernal JJ, Magallón-Botaya R, et al. Functionality, physical activity, fatigue and quality of life in patients with acute COVID-19 and Long COVID infection. *Sci Rep.* 2023; 14: 13 (1): 19907. DOI: 10.1038/s41598-023-47218-1.
6. Rooney S, Webster A, Paul L. Systematic Review of Changes and Recovery in Physical Function and Fitness after Severe

- Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus Infection: Implications for COVID-19 Rehabilitation. *Phys Ther.* 2020; 100: 1717–29. DOI: 10.1093/ptj/pzaa129.
7. Schultheiß C, Willscher E, Paschold L, Gottschick C, Klee B, Glasauer S, et al. From online data collection to identification of disease mechanisms: the IL1 β , IL6 and TNF α cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19 in a digital research cohort. *SSRN Electron J [Internet]*. 2021. DOI: 10.2139/ssrn.3963839.
 8. Salamanna F, Veronesi F, Martini L, Landini MP, Fini M. Post-COVID-19 syndrome: the persistent symptoms at the post-viral stage of the disease: a systematic review of the current data. *Frontiers in medicine.* 2021; 8: 392. DOI: 10.3389/fmed.2021.653516.
 9. Liu Z, Lv Z, Zhou X, Shi J, Hong S, Huang H, Lv L. Efficacy of traditional Chinese exercises in patients with post-COVID-19 chronic fatigue syndrome: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2022; 18: 101 (46): e31450. DOI: 10.1097/MD.00000000000031450.
 10. Kappelmann N, Dantzer R, Khandaker GM. Interleukin-6 as potential mediator of long-term neuropsychiatric symptoms of COVID-19. *Psychoneuroendocrinology.* 2021; 131: 105295. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2021.105295.
 11. Yin JX, Agbana YL, Sun ZS, Fei SW, Zhao HQ, Zhou XN, et al. Increased interleukin-6 is associated with long COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty.* 2023; 12 (1): 43. DOI: 10.1186/s40249-023-01086-z.
 12. Zaharov DV, Buryak YU. Postkovidnye kognitivnye rasstroïstva. Sovremennyy vzglyad na problemu, patogenez i terapiyu. Obozrenie psihatrii i medicinskoï psihologii im. V. M. Bekhtereva. 2021; 55 (4): 97–105. Russian.
 13. Hasanova DR, Zhitkova YU, Vaskaeva GR. Postkovidnyï sindrom: obzor znanii o patogenezе, neiropsihiatricheskikh proyavleniyah i perspektivah lecheniya. *Nevrologiya, neiropsihiatriya, psihosomatika.* 2021; 13 (3): 93–98. Russian.
 14. Ahmedzhanova LT, Ostroumova TM, Soloha OA. Vedenie pacientov s boleвыми sindromami na fone COVID-19. *Nevrologiya, neiropsihiatriya, psihosomatika.* 2021; 13 (5): 96–101. Russian.
 15. Haibullina DH, Maksimov YuN. Astenicheskiï postkovidnyï sindrom. *Zhurnal nevrologii i psihatrii im. S. S. Korsakova.* 2023; 123 (3): 61–69. DOI: 10.17116/jnevro202312303161. Russian.
 16. Naumov KM, Andreeva GO, Bazhenov DA. Differencirovannyï podhod k korektsii vegetativnyh narushenii pri postkovidnom sindrome. *Izvestiya Rossiiskoi Voenno-meditsinskoï akademii.* 2021; 40 (S4): 88–91. Russian.
 17. Bahareva ON, Baharev SA, Konov KYu, Vanteev DA, Lyagushin RS. Nevrologicheskie proyavleniya postkovidnogo sindroma i vozmozhnosti reabilitatsii. *Lazernaya medicina.* 2021; 25 (1): 16–20. Russian.
 18. AlMogbel AA, Albarak MI, AlNumair SF. Ozone Therapy in the Management and Prevention of Caries. *Cureus.* 2023; 15 (4): e37510. DOI: 10.7759/cureus.37510.
 19. Bette M, Cors E, Kresse C, Schütz B. Therapeutic treatment of superoxide dismutase 1 (G93A) amyotrophic lateral sclerosis model mice with medical ozone decelerates trigeminal motor neuron degeneration, attenuates microglial proliferation, and preserves monocyte levels in mesenteric lymph nodes. *Int J Mol Sci.* 2022; 23: 3403. DOI: 10.3390/ijms23063403.
 20. Wang Z, Zhang A, Meng W, Wang T, Li D, Liu X, Liu H. Ozone protects the rat lung from ischemia-reperfusion injury by attenuating NLRP3-mediated inflammation, enhancing Nrf2 antioxidant activity and inhibiting apoptosis. *Eur J Pharmacol.* 2018; 835: 82–93. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.07.059.
 21. Sallustio F, Cardinale G, Voccola S, Picerno A, Porcaro P, Gesualdo L. Ozone eliminates novel coronavirus Sars-CoV-2 in mucosal samples. *New Microbes New Infect.* 2021; 43: 100927. DOI: 10.1016/j.nmni.2021.100927.
 22. Zheng Z, Dong M, Hu K. A preliminary evaluation on the efficacy of ozone therapy in the treatment of COVID-19. *J Med Virol.* 2020; 92: 2348–50. DOI: 10.1002/jmv.26040.
 23. Díaz-Soto MT, Pérez AF, Vaillant JD, Mallok A, Viebahn-hänsler R, Menéndez C, et al. Ozone Therapy Ameliorates Nervous System Disorders and Oxidative Stress in Patients During Ethanol Withdrawal - A Pilot Study. *Ozone: Science & Engineering.* 2012; 34 (6): 432–37. DOI: 10.1080/01919512.2012.717858.
 24. Rudnev IE, Proshchenko IV, Maksimova NE. Ozonoterapiya pri trevoznykh i depressivnykh rasstrojstvakh s panicheskimi atakami. *Verhnevolzhskij medicinskij zhurnal.* 2018; 17 (4): 18–21. Russian.
 25. Franzini M, Valdenassi L, Ricevuti G, Chirumbolo S, Depfenhart M, Bertossi D, Tirelli U. Oxygen-ozone (O₂-O₃) immunocellular therapy for patients with COVID-19 Preliminary evidence reported. *Int Immunopharmacol.* 2020; 88: 106879. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106879.
 26. Shah M, Captain J, Vaidya V, Kulkarni A, Valsangkar K, Nair PMK, Ganu G. Safety and efficacy of ozone therapy in mild to moderate COVID-19 patients: A phase 1/11 randomized control trial (SEOT study). *Int Immunopharmacol.* 2021; 91: 107301. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107301.
 27. Fernandez-Cuadros ME, Albaladejo-Florin MJ, Alava-Rabasa S, Usandizaga-Elio I, Martinez-Quintanilla Jimenez D, Pena-Lora D, et al. Effect of Rectal ozone (O₃) in severe COVID-19 pneumonia: preliminary results. *SN Compr Clin Med.* 2020; 2: 1328–36. DOI: 10.1007/s42399-020-00374-1.
 28. Cvetkova AV, Koneva ES, Kostenko AA, Bisheva DR, Sidiyakina IV, Konev SM, i dr. Rol' sistemnoi ozonoterapii v reabilitatsii pacientov, perenesshih COVID-19. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoi fizicheskoi kul'tury.* 2022; 99 (4–2): 22–29. DOI: 10.17116/kurort20229904222. Russian.
 29. Gumenyuk LN, Ternovaya AI, Parshikova VO, Hudyakova AS, Dzheparov EF. Effektivnost' primeneniya ozonoterapii u pacientov s postkovidnym sindromom na etape sanatorno-kurortnogo lecheniya. *Medicina. Sociologiya. Filosofiya. Prikladnye issledovaniya.* 2023; 3: 59–65. Russian.
 30. Tanashyan MM, Kuznecova PI, Raskurazhev AA, Zaslavskaya KYa. Struktura postkovidnogo astenicheskogo sindroma. *Perspektivy korektsii. Terapevticheskii arhiv.* 2023; 95 (5): 418–24. DOI: 10.26442/00403660.2023.05.202224. Russian.
 31. Tanashyan MM, Raskurazhev AA, Kuznecova PI, Belyj PA, Zaslavskaya KYa. Perspektivy i vozmozhnosti terapii pacientov s astenicheskim sindromom posle perenesennoj novoj koronavirusnoj infekcii COVID-19. *Terapevticheskij arhiv.* 2022; 94 (11): 1285–93. DOI: 10.26442/00403660.2022.11.201981. Russian.
 32. Smets EMA, Garssen B, Bonke B, De Haes JCJM. The multidimensional fatigue inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *Journal of Psychosomatic Research.* 1995; 39 (5): 315–25.
 33. Kopecek M, Stepankova H, Lukavsky J, Ripova D, Nikolai T, Bezdicek O. Montreal Cognitive Assessment (MoCA): Normative Data for Old and Very Old Czech Adults// *Applied Neuropsychology: Adult.* 2016; 1–7. DOI: 10.1080/23279095.2015.1065261.
 34. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989; 28 (2): 193–213. DOI: 10.1016/0165-1781(89)90047-4.
 35. Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol.* 1959; 32: 50–55. DOI: 10.1111/j.2044-8341.1959.tb00467.x.
 36. Busner J, Targum SD. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry (Edgmont).* 2007; 4 (7): 28–37.
 37. Alonso-Domínguez J, Gallego-Rodríguez M, Martínez-Barros I, Calderón-Cruz B, Leiro-Fernández V, Pérez-González A, Poveda E. High Levels of IL1 β , TNF α and MIP-1 α One Month after the Onset of the Acute SARS-CoV-2 Infection, Predictors of Post COVID-19 in Hospitalized Patients. *Microorganisms.* 2023; 26: 11 (10): 2396. DOI: 10.3390/microorganisms11102396.
 38. Majolo F, Silva GL, Vieira L, Anli C, Timmers LF, Lauffer S, Goettert MI. Neuropsychiatric disorders and COVID-19: what we know so far. *Pharmaceuticals.* 2021; 14 (9): 933. DOI: 10.3390/ph14090933.
 39. Ganong WF. Circumventricular organs: definition and role in the regulation of endocrine and autonomic function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2000; 27: 422–7. DOI: 10.1046/j.1440-1681.2000.03259.x.
 40. Evrensel A, Ünsalver BÖ, Ceylan ME. Neuroinflammation, Gut-Brain Axis and Depression. *Psychiatry Investig.* 2020; 17 (1): 2–8. DOI: 10.30773/pi.2019.08.09.
 41. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Front Immunol.* 2020; 11: 1708. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01708.

42. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, Hasebe R, Tanaka Y, Murakami M, Hirano T. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm Regen*. 2020; 40: 37. DOI: 10.1186/s41232-020-00146-3.
43. Scassellati C, Galoforo AC, Bonvicini C, Esposito C, Ricevuti G. Ozone: a natural bioactive molecule with antioxidant property as potential new strategy in aging and in neurodegenerative disorders. *Ageing Res Rev*. 2020; 63: 101138. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101138.
44. Kim AN, Jeon W-K, Lee JJ, Kim B-C. Up-regulation of heme oxygenase-1 expression through CaMKII-ERK1/2-Nrf2 signaling mediates the anti-inflammatory effect of bisdemethoxycurcumin in LPS-stimulated macrophages. *Free Radic Biol Med*. 2010; 49 (3): 323–33. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.015.
45. Ahmed SM, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation. *BBA–Mol Basis Dis*. 2017; 1863 (2): 585–97. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.005.
46. Ahmed SM, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017; 1863 (2): 585–97. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.005.
47. Cenci A, Macchia I, La Sorsa V, Sbarigia C, Di Donna V, Pietraforte D. Mechanisms of Action of Ozone Therapy in Emerging Viral Diseases: Immunomodulatory Effects and Therapeutic Advantages With Reference to SARS-CoV-2. *Front Microbiol*. 2022; 21 (13): 871645. DOI: 10.3389/fmicb.2022.871645.
48. Tirelli U, Franzini M, Valdenassi L, Piscoconti S, Taibi R, Torrisi C, et al. Fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV2 (PASC) treated with oxygen-ozoneautohemotherapy - preliminary results on 100 patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021; 25 (18): 5871–5. DOI: 10.26355/eurrev_202109.

СВЯЗЬ ЛОКАЛЬНОЙ БИОИМПЕДАНСОМЕТРИИ В АБДОМИНАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ С ЕЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ И БИОХИМИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ

Э. А. Бондарева¹✉, Г. Е. Леонов¹, О. И. Парфентьева¹, А. А. Арутюнян², Н. А. Бевзюк², О. Н. Ковалева², А. Н. Гаджихмедова¹, С. Е. Шемяков², Н. А. Кулемин¹

¹ Федеральное научно-клиническое центр физико-химической медицины имени Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Количественное определение подкожного и висцерального депо жира в абдоминальной области является перспективным методом оценки индивидуальных рисков развития кардиометаболических заболеваний и оценки эффективности некоторых лекарственных препаратов. Локальные отведения биоимпедансометрии (БИА) — новый перспективный метод раздельной количественной оценки двух депо жира в области живота. Он сочетает высокую точность, невысокую себестоимость и неинвазивность. Целью работы было провести анализ связей импедансных оценок, полученных в локальном отведении БИА с комплексом антропометрических и биохимических характеристик у мужчин и женщин. Обследованы 147 женщин и 42 мужчины в возрасте 18–73 лет. Для оценки подкожного жиротложения использовали локальное отведение БИА (ABC-02 «Медасс») по предложенной ранее схеме расположения электродов. При помощи программного обеспечения ABC-02 «Медасс» фиксировали локальный импеданс — $Z50_{sc}$, Ом. Корреляционный анализ выявил значимые связи $Z50_{sc}$ с индексом талия/рост, концентрацией инсулина, процентом жировой массы тела и HOMA-IR. Маркеры риска кардиометаболических заболеваний (абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность и доля жировой массы) связаны с повышенными значениями $Z50_{sc}$. Результаты ROC-анализа с индексом инсулинорезистентности (AUC 0,79 [0,72; 0,84], $p < 0,000$) позволяют рассматривать $Z50_{sc}$ в качестве перспективного маркера риска кардиометаболических заболеваний. Различия между подгруппами подтверждаются не только уровнем статистической значимости, но и значительным размером эффекта.

Ключевые слова: подкожное жиротложение, локальный БИА, абдоминальное ожирение, обхват талии, скрытое ожирение

Финансирование: научное исследование проведено при поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 22-75-10122).

Вклад авторов: Э. А. Бондарева — дизайн исследования, статистический анализ, написание статьи; Г. Е. Леонов — проведение БИА; О. И. Парфентьева, А. Н. Гаджихмедова — проведение УЗИ-сканирования, статистический анализ; А. А. Арутюнян, О. Н. Ковалева, Н. А. Бевзюк — проведение антропометрических измерений, БИА, УЗИ-сканирования; С. Е. Шемяков — анализ литературы, написание статьи; Н. А. Кулемин — написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФХМ имени Ю. М. Лопухина ФМБА России (протокол № 2022/12/06 от 06 декабря 2022 г.). Все обследованные подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Эльвира Александровна Бондарева
ул. Малая Пироговская, д. 1а, г. Москва, 119453, Россия; bondareva.e@gmail.com

Статья получена: 31.05.2024 **Статья принята к печати:** 21.07.2024 **Опубликована онлайн:** 07.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.030

ASSOCIATION OF LOCAL BIOIMPEDANCE ANALYSIS OF THE ABDOMINAL REGION WITH MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TRAITS

Bondareva EA¹✉, Leonov GE¹, Parfenteva OI¹, Arutiunian AA², Bevziuk NA², Kovaleva ON², Gadziakhmedova AN¹, Shemyakov SE², Kulemin NA¹

¹ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Quantification of the subcutaneous and visceral fat depot in the abdominal region is a promising method to assess individual risk of cardiometabolic disorders and estimate the efficacy of certain drugs. The local bioimpedance analysis (BIA) represent a new promising method for separate quantification of two fat depots in the abdominal region. The method combines high accuracy, low cost, and noninvasiveness. The study was aimed to analyze the relationships between the impedance estimates obtained in the local BIA lead and the complex of anthropometric and biochemical characteristics in males and females. A total of 147 females and 42 males aged 18–73 years were assessed. To estimate subcutaneous fat, we used the local BIA lead (ABC-02 Medass) in accordance with the earlier proposed electrode placement scheme. Local impedance ($Z50_{sc}$, Ohm) was recorded using the ABC-02 Medass software. The correlation analysis revealed significant correlations of $Z50_{sc}$ with the waist-to-height ratio, insulin concentration, body fat percentage, and HOMA-IR. Markers of the risk of cardiometabolic diseases (abdominal obesity, insulin resistance, and body fat percentage) are associated with the increased $Z50_{sc}$ values. The results of ROC analysis with the insulin resistance index (AUC 0.79 [0.72; 0.84], $p < 0.000$) make it possible to consider $Z50_{sc}$ a promising marker of the risk of cardiometabolic diseases. The differences between subgroups are confirmed by both statistical significance and large effect size.

Keywords: subcutaneous fat, local BIA, abdominal obesity, waist circumference, normal-weight obesity

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation (RSF grant No. 22-75-10122).

Author contribution: Bondareva EA — study design, statistical analysis, manuscript writing; Leonov GE — conducting BIA; Parfenteva OI, Gadziakhmedova AN — ultrasound scan, statistical analysis; Arutiunian AA, Kovaleva ON, Bevziuk NA — anthropometric measurements, BIA, ultrasound scan; Shemyakov SE — literature review, manuscript writing; Kulemin NA — manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of FMBA of Russia (protocol No. 2022/12/06 dated 06 December 2022). All the examined individuals submitted the informed consent to participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elvira A. Bondareva
Malaya Pirogovskaya, 1a, Moscow, 119453, Russia; bondareva.e@gmail.com

Received: 31.05.2024 **Accepted:** 21.07.2024 **Published online:** 07.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.030

Хорошо известно, что паттерн распределения жирового депо (топография жиротложения) является независимым фактором, ассоциированным с тяжестью течения сердечно-сосудистых заболеваний, риском развития метаболических заболеваний и общей смертности [1]. Своевременная оценка топографии жиротложения поможет выделить группы риска развития метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с развитием абдоминального (центрального) ожирения, независимо от индекса массы тела (ИМТ) (body mass index, BMI) и доли жировой массы тела [1]. В свою очередь, абдоминальное жиротложение формируется за счет депо подкожного и висцерального жира. Для оценки выраженности абдоминального жиротложения широко используют простые антропометрические признаки и индексы, такие как обхват талии, индекс талия/бедро (waist to hip ratio, WHR) и индекс талия/рост (waist to height ratio, WHtR). Однако на индивидуальном уровне эти оценки показали низкую чувствительность и оказались неэффективными для отдельной количественной оценки подкожного и висцерального жира [2]. Референсными методами оценки этих компонентов являются методы компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Но из-за высокой стоимости, лучевой нагрузки и высоких требований к квалификации персонала данные методы не могут быть использованы для массового скрининга населения, тем более они не могут быть использованы вне специализированных лечебных учреждений и/или исследовательских центров [3]. Количественный метод оценки абдоминального жиротложения, лишенный недостатков КТ и МРТ и обеспечивающий сравнимую с ними точность и чувствительность, востребован в медицине для прогноза рисков, ассоциированных со спецификой накопления жира в области живота.

Биоимпедансный анализ (БИА) состава тела широко распространен в мировой медицинской практике для оценки жировой и тощей массы тела, а также для оценки водных секторов организма [4]. Однако традиционные (рука–нога) схемы позволяют получить только интегральные оценки состава тела и не позволяют судить о распределении жирового депо или отдельно оценивать подкожное и висцеральное жиротложение в области живота. Более того, при использовании традиционных отведений вклад туловища в оценку импеданса составляет не более 5–10%. Это значит, что расчет интегральных показателей состава тела основан, главным образом, на импедансных оценках конечностей [4, 5].

Было показано, что количественную оценку толщины подкожного жира можно произвести в трансимпедансном измерении между двумя парами электродов, прикрепленными непосредственно над интересующей исследователя областью [5]. Были также представлены несколько схем расположения электродов в абдоминальной области. Анализ согласованности между количественной оценкой толщины подкожного жира методом МРТ и значением локального импеданса в широком морфологическом диапазоне показал сильную корреляционную зависимость между этими величинами ($r^2 = 0,984$) [6].

В России опубликованы два исследования, посвященные изучению локальных отведений БИА [7, 8]. Цель данной работы — анализ связей импедансных характеристик, полученных в локальной отведении в абдоминальной области, с комплексом морфологических и биохимических признаков взрослых мужчин и женщин.

Мы исследуем связи локальных отведений БИА с комплексом антропометрических признаков и индексов, характеризующих количество жира и его топографию, и дополняем полученные оценки данными о метаболических маркерах углеводного обмена и УЗИ-оценками толщины подкожного жира в абдоминальной области.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовали 189 условно здоровых добровольцев (147 женщин в возрасте 18–67 лет и 42 мужчины в возрасте 20–73 лет). Обследование проводили на базе поликлиники ФГБУ ФНКЦ ФХМ имени Ю. М. Лопухина ФМБА России в период с января 2022 по апрель 2023 г. Этническую принадлежность, уровень физической активности, а также наличие диагностированных заболеваний устанавливали в ходе анкетирования. Подавляющее большинство обследованных указали свою этническую принадлежность как русский (хотя бы один родитель был русским). Критерии включения: в исследование были включены совершеннолетние мужчины и женщины, без диагностированных хронических и острых заболеваний на момент обследования и прошедшие все этапы обследования (анкетирование, антропометрическое обследование и биохимический анализ крови). Критерии исключения: возраст младше 18 лет, беременность и лактация, наличие кардиостимулятора, наличие металлических имплантов в корпусе и/или конечностях.

Программа обследования включала измерение длины тела (ДТ) лазерным антропометром (КАФА; Россия) и массы (МТ) тела (Seca; Германия), обхватов талии (ОТ) и бедер (ОБ) неэластичной измерительной лентой. БИА выполняли с применением ABC-02 «Медасс» (НТЦ «Медасс»; Россия) при частоте зондирующего тока 50 кГц в двух отведениях.

1. По стандартной тетраполярной схеме «запястье — голеностопный сустав» на правой стороне тела с наложением электродов F3001 (FIAB; Италия) при положении испытуемых лежа на спине.

2. Для оценки подкожного жиротложения в абдоминальной области располагали токовые электроды на расстоянии 12 см, а измерительные электроды — на расстоянии 7 см слева и справа от пупка при положении испытуемых стоя [6] (рис. 1А).

При помощи программного обеспечения ABC01-0362 были определены показатели активного и реактивного сопротивления (R , Ом — для интегральной схемы; R_{sc} , Ом — для локальной схемы) и соответствующие им импедансы (Z_{50} и $Z_{50_{sc}}$). Из показателей интегрального отведения были определены абсолютные и относительные значения жировой (ЖМ и %ЖМ соответственно) и тощей массы (ТМ).

При помощи ультразвукового сканера BodyMetrix BX2000 (IntelaMetrix; США) для каждого обследованного были зафиксированы значения толщины (мм) подкожного жира в двух точках в области живота: возле пупка (SFL1) и над подвздошным гребнем (SFL2), которая соответствует верхнеостистоподвздошной кожно-жировой складке (рис. 1Б) [9]. В качестве контактной среды был использован гель для ультразвуковых исследований средней вязкости «Медиагель» («Гельтек»; Россия).

Антропометрические признаки были использованы для расчета индексов: ИМТ — индекс массы тела, WHR — индекс талия/бедро, WHtR — индекс талия/рост [10]. Нутритивный статус (недостаток массы тела, нормальная масса тела, избыточная масса тела и ожирение) определяли по

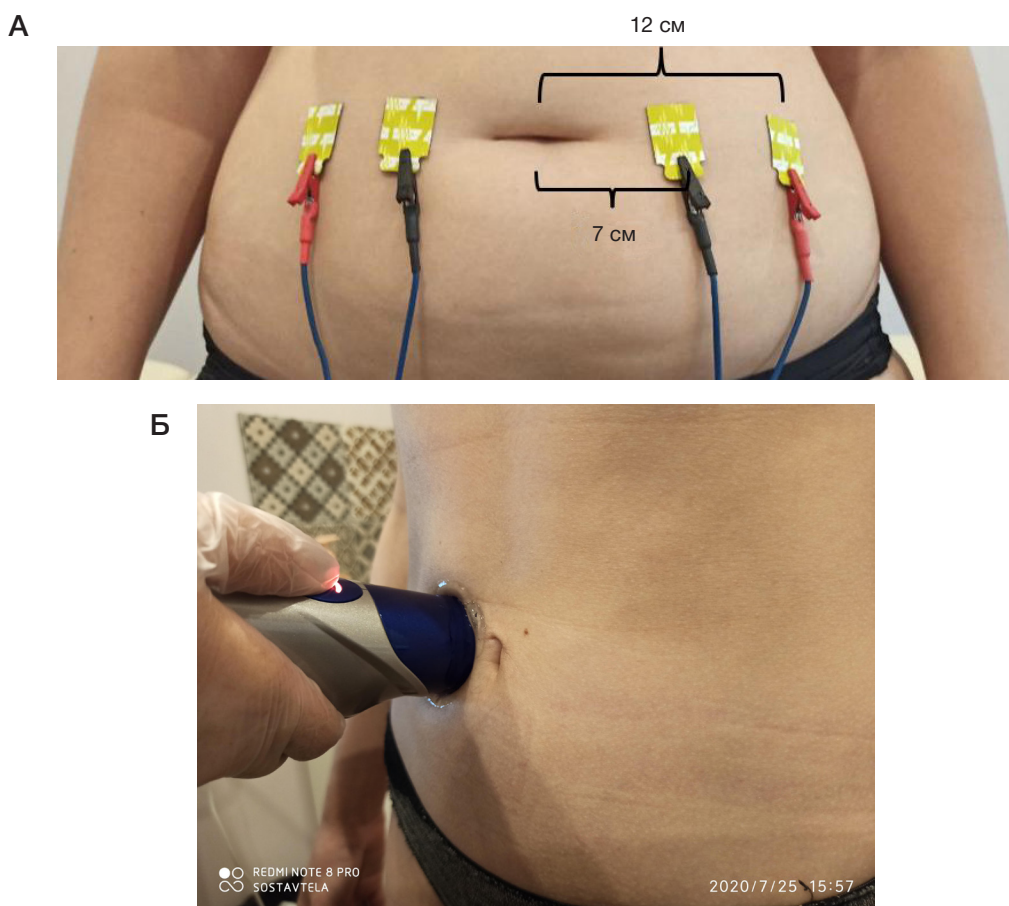


Рис. 1. А. Схема расположения электродов в локальном отведении БИА (ABC-02 «Медасс») для оценки подкожного жиросотложения в области живота. **Б.** Измерение толщины подкожного жира возле пупка УЗИ-сканером BodyMetrix BX2000

значению ИМТ согласно критериям ВОЗ. Кроме того, ожирение диагностировали по значению доли жировой массы тела $\geq 30\%$ для женщин и $\geq 25\%$ для мужчин. Центральное ожирение оценивали по значению индекса WHtR $\geq 0,5$ [10].

Для оценки параметров углеводного обмена (концентрации инсулина, глюкозы натощак и гликированного гемоглобина) проводили биохимический анализ крови. Эти данные использовали для расчета индексов HOMA (Homeostasis model assessment): HOMA-IR, HOMA-%B HOMA-%S. Также при помощи онлайн-калькулятора (<https://www.2.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>) были рассчитаны показатели HOMA2-IR, HOMA2-%B и HOMA2-%S. Значение HOMA-IR $> 2,7$ считали состоянием инсулинорезистентности.

Статистический анализ

Оценку параметров положения, варьирования и формы распределения исследованных признаков проводили в программе PAST (<https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past/>). Для проверки согласия данных с нормальным распределением использовали критерии Шапиро–Уилка, Андерсона–Дарлинга, Лиллифорса и Харке–Бера. В расчетных процедурах всех критериев, за исключением Шапиро–Уилка, реализован алгоритм Монте–Карло. При статистических сравнениях не ограничивались вычислениями p -значений, но оценивали стандартизированный размер эффекта по Коуэну (d_c) для парных сравнений и меру ϵ^2 для критерия Краскела–Уоллиса. Заслуживающими внимания признано считать размеры эффекта, нижняя граница

95%-х доверительных интервалов (ДИ) для которых превышает значение $d_c = 1$ [11].

Для анализа различий между группами использовали t -критерий с поправкой Уэлча, критерий Манна–Уитни и критерий Краскела–Уоллиса. При множественных сравнениях использовали поправку Беньямини–Хохберга. Анализ различий между подгруппами и корреляционный анализ были проведены в программах Past и JASP (JASP Team (2024). JASP (Version 0.18.3) [Computer software]), а также с использованием пакетов «ggpubr» (Kassambara A (2023). _ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots_. R package version 0.6.0, <<https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>>) и «rstatix» (Kassambara A (2023). _rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests_. R package version 0.7.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=rstatix>>) в среде R (R Core Team (2023). _R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>). Для всех оцениваемых статистик был рассчитан 95%-й ДИ. Для ROC-анализа использовали EasyROC (<http://biosoft.erciyes.edu.tr/app/easyROC>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Подгруппы мужчин и женщин не различались по возрасту, ИМТ, WHtR, абсолютному количеству жировой массы тела, $Z50_{sc}$, толщинам подкожного жира на животе, биохимическим параметрам и индексам HOMA2. Признаки, по которым наблюдались значимые различия ($p < 0,001$), между подгруппами мужчин и женщин представлены в табл. 1.

Таблица 1. Признаки, по которым обнаружены значимые половые различия

Признак	Пол	Среднее (SD)	Размер эффекта [95%ДИ]
WHR	Ж	0,764 (0,091)	-1,221 [-1,602; -0,834]
	М	0,860 (0,063)	
Длина тела, см	Ж	167,1 (7,6)	-1,871 [-2,302; -1,433]
	М	179,4 (5,3)	
Масса тела, кг	Ж	69,7 (15,6)	-1,023 [-1,407; -0,632]
	М	86,6 (17,4)	
Окружность талии, см	Ж	77,8 (13,2)	-0,823 [-1,190; -0,450]
	М	88,6 (13,1)	
Доля ЖМ (%)	Ж	30,6 (8,7)	0,910 [0,533; 1,282]
	М	22,9 (8,2)	
Безжировая масса тела, кг	Ж	47,3 (6,1)	-2,719 [-3,315; -2,114]
	М	65,6 (7,3)	

Как следует из представленных данных (табл. 1), половой диморфизм не наблюдается для значений толщин подкожного жира в области живота и локального импеданса в абдоминальной области. На фоне половых различий в ОТ и WHR отсутствие полового диморфизма в значениях SFL1, SFL2 и Z50_{sc} может свидетельствовать о различиях в количестве висцерального жира, а также о потенциальной возможности количественной оценки висцерального жиротложения методами локального БИА. Для этого необходимо дополнить обследование локальным отведением в сагиттальной области живота. Корреляционный анализ комплекса исследуемых

признаков (рис. 2) выявил значимые связи Z50_{sc} с WHtR (0,739 [0,667; 0,797]), массой тела (0,609 [0,510; 0,691]), обхватом талии (0,700 [0,510; 0,766]), ИМТ (0,731 [0,657; 0,791]), ЖМ и ее долей (0,724 [0,648; 0,786] и 0,662 [0,573; 0,735]), толщиной подкожного жира на животе (0,692 [0,608; 0,761] и 0,743 [0,671; 0,802]), концентрацией инсулина (0,541 [0,428; 0,637]), HOMA2-IR (0,539 [0,425; 0,636]) и HOMA2-%S (-0,539 [-0,636; -0,425]).

Широкий диапазон морфологических признаков, представленный в обследованной выборке, позволяет провести сравнительный анализ значений Z50_{sc} в различных подгруппах: по нутритивному статусу, определенному по

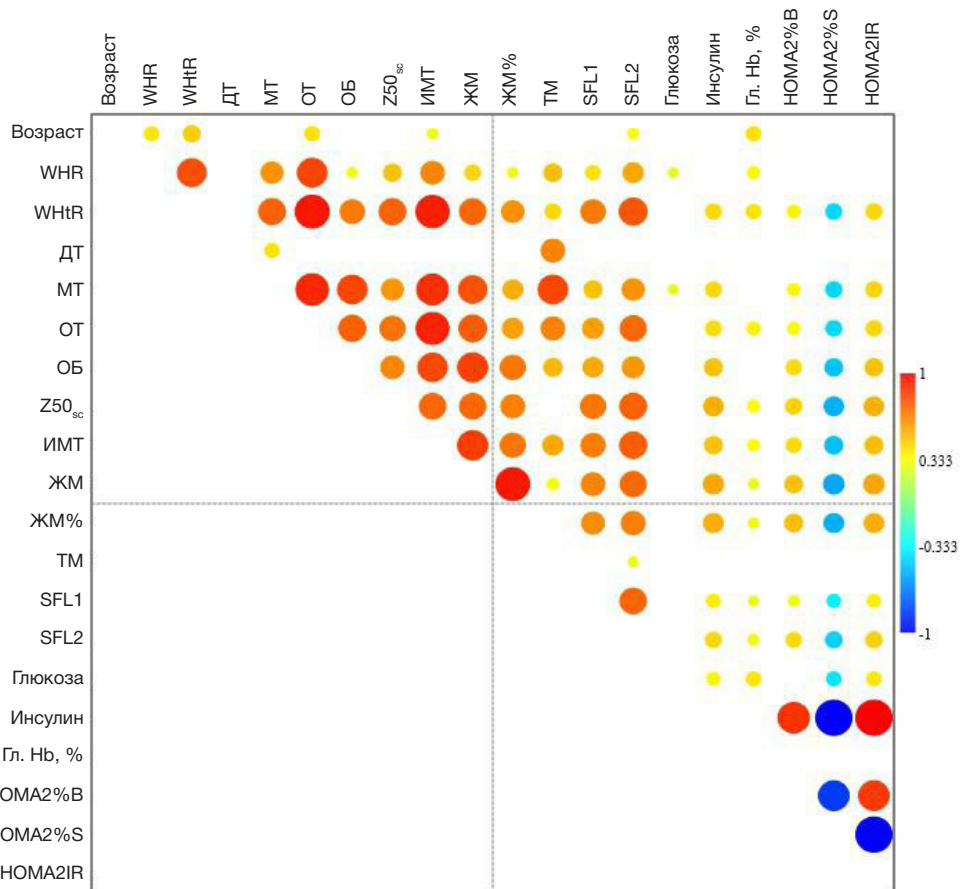


Рис. 2. Корреляционные связи комплекса исследованных признаков. DT — длина тела, MT — масса тела, ОТ — обхват талии, ОБ — обхват бедер, SFL1 — толщина подкожного жира возле пупка, SFL2 — толщина подкожного жира в области верхнеэпистоподвздошной КЖС. Показаны только статистически значимые корреляции

Таблица 2. Сравнительный анализ $Z50_{sc}$ в различных подгруппах обследованной выборки

Признак	Подгруппа	$Z50_{sc}$	Размер эффекта [95%ДИ]	p -значение
Пол	Ж	51,6 (23,1)	-0,112 [-0,455; 0,232]	0,525
	М	54,2 (25,8)		
WhtR	<0,5	41,1 (14,1)	2,252 [1,77; 2,73]	< 0,001
	$\geq 0,5$	79,9 (19,9)		
НОМА-IR	Норма	44,7 (19,1)	-1,718 [-2,007; -1,521]	< 0,001
	ИР	69,6 (24,7)		
%ЖМ	Норма	38,6 (13,6)	-1,654 [-1,984; -1,320]	< 0,001
	Ожирение	68,8 (22,8)		
ИМТ	Норма	39,6 (13,1)	0,533 [0,44; 0,62]	< 0,001
	Избыток	59,0 (18,8)		
	Ожирение	82,2 (20,3)		

Примечание: для ИМТ в качестве размера эффекта использовали меру e^2 , для всех остальных — d_c ; ИР — инсулинорезистентность (НОМА-IR > 2,7)

значению ИМТ, по наличию ожирения, определенному по значению %ЖМ, а также по наличию абдоминального ожирения по значению WhtR (табл. 2).

Повышенные значения признаков, ассоциированных с риском развития кардиометаболических заболеваний (абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность и доля жировой массы), связаны с большими значениями локального импеданса. Различия между подгруппами подтверждаются не только уровнем статистической значимости, но и значительным размером эффекта (табл. 2).

Далее для этих признаков был проведен ROC-анализ с целью оценки возможности использования $Z50_{sc}$ в качестве диагностического критерия абдоминального ожирения,

доли ЖМ и инсулинорезистентности (рис. 3). Максимальные значения AUC наблюдаются для индекса WhtR. Для НОМА-IR AUC меньше, однако значимо отличается от безразличного значения ($AUC = 0,5$), что свидетельствует о необходимости дальнейшего исследования $Z50_{sc}$ с привлечением групп с диагностированным преддиабетом и диабетом 2-го типа.

Таким образом, большим значениям признаков, ассоциированных с повышенным жиротложением и риском развития коморбидных заболеваний, соответствуют высокие значения локального импеданса (рис. 3). Значения AUC свидетельствуют о том, что $Z50_{sc}$ потенциально может служить в качестве диагностического теста, а конкретные

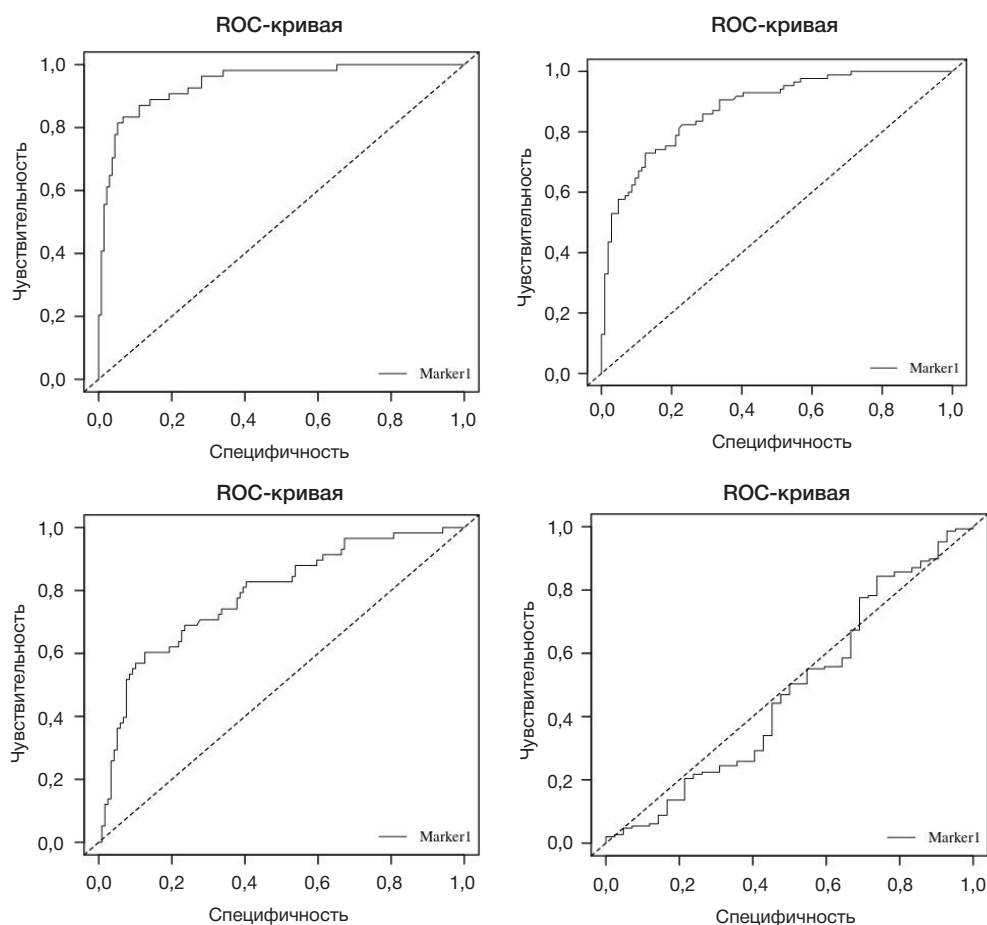


Рис. 3. ROC-анализ значений локального импеданса в абдоминальной области ($Z50_{sc}$) в подгруппах по полу, наличию абдоминального ожирения, наличию ожирения по доле жировой массы тела и наличию инсулинорезистентности по индексу НОМА-IR

пороговые значения $Z50_{sc}$ в перспективе могут стать дополнительным неинвазивным экспресс-методом оценки кардиометаболических рисков.

Сочетание ИМТ и %ЖМ позволяет уточнить диагностику ожирения и выделить людей со скрытым ожирением [12] и людей с повышенным ИМТ (избыточная масса тела), но нормальной долей жира. На рис. 4 представлены значения $Z50_{sc}$ в подгруппах с возрастающей массой тела и долей жировой массы тела: недостаток массы тела (UW) — ИМТ < 18,5 кг/м²; нормальная масса тела и %ЖМ (NWNO) — ИМТ в пределах 18,5–24,9 кг/м² и %ЖМ < 25% для мужчин и < 30% для женщин; скрытое ожирение (NW_O) — ИМТ в пределах 18,5–24,9 кг/м² и %ЖМ ≥ 25% для мужчин и ≥ 30% для женщин; избыточная масса тела по ИМТ и нормальное значение %ЖМ (OWNO) — ИМТ в пределах 25,0–29,9 и %ЖМ < 25% для мужчин и < 30% для женщин; избыточная масса тела по ИМТ и ожирение по %ЖМ (OWO) — ИМТ в пределах 25,0–29,9 и %ЖМ ≥ 25% для мужчин и ≥ 30% для женщин; ожирение по ИМТ и %ЖМ (OB) — ИМТ > 29,9 и %ЖМ ≥ 25% для мужчин и ≥ 30% для женщин.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что локальные импедансные оценки в абдоминальной области возрастают по мере увеличения ИМТ и %ЖМ. Обнаружены значимые различия между подгруппами с нормальной массой тела и подгруппой со скрытым ожирением (NWNO vs NW_O; $p = 0,029$) и отсутствие значимых различий между подгруппами со скрытым ожирением и избыточной массой тела и ожирением (NW_O vs OWO; $p = 0,097$), а также между подгруппами NWNO и OWNO ($p = 0,118$). Подгруппа с ожирением (OB) значительно отличается от всех остальных подгрупп ($p < 0,005$). Обхват талии, толщина подкожного слоя жира возле пупка и WHtR не отличаются между NWNO и NW_O, однако по SFL2 данные подгруппы статистически значимо различны ($p = 0,015$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поиск наилучших характеристик, описывающих индивидуальный фенотип ожирения, сместился от антропометрических измерений к раздельной оценке жировой и безжировой массы тела, а в настоящий момент к количественной оценке различных депо жира и особенностей его распределения [13, 14]. Исследованию возможности количественной оценки висцерального жира отложения методом БИА посвящено несравнимо больше работ, по сравнению с подкожным жиротложением на животе [15].

В данном исследовании проведен анализ связей локального импеданса в абдоминальной области, определенного с применением российского биоимпедансного анализатора (ABC-02 «Медасс»), с толщиной подкожной жировой клетчатки в области живота и биохимическими маркерами углеводного обмена. Полученные результаты подтверждают тесную связь оценок, получаемых в локальном отведении БИА, с комплексом морфологических и метаболических признаков, характеризующих накопление подкожного жира в области живота. Следует отметить, что зарубежные производители биоимпедансного оборудования выпускают серийные приборы (Y-score InBody, Корея и Maltron BioScan 920-II, Великобритания), позволяющие производить количественную оценку подкожного и висцерального жиротложения в локальных отведениях. Однако уравнения оценки не опубликованы производителями. Поэтому изучение возможностей отечественного БИА,

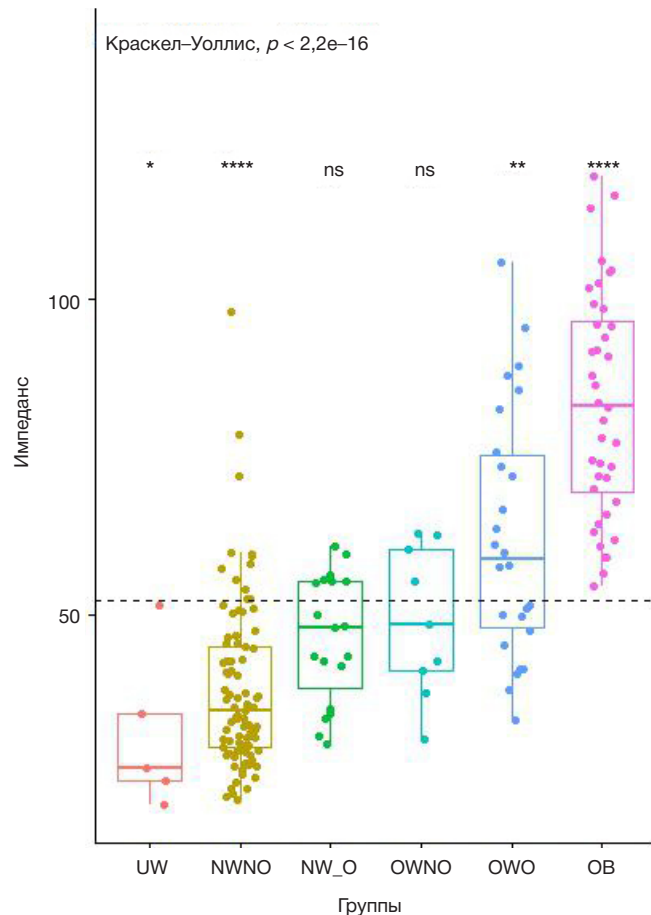


Рис. 4. Распределение значений $Z50_{sc}$ в подгруппах обследованной выборки, сформированных по возрастанию ИМТ и %ЖМ. UW — недостаток массы тела; NWNO — нормальная масса тела и %ЖМ; NW_O — ожирение при нормальном весе; OWNO — избыточная масса тела по ИМТ и нормальное значение %ЖМ; OWO — избыточная масса тела по ИМТ и ожирение по %ЖМ; OB — ожирение по ИМТ и %ЖМ. Пунктирная горизонтальная линия — среднее значение $Z50_{sc}$ в обследованной выборке. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$; ns — $p \geq 0,05$

получившего широкое распространение в лечебных и исследовательских учреждениях РФ, для оценки подкожного и висцерального жиротложения в локальных схемах, на наш взгляд, особенно актуально.

Для значений $Z50_{sc}$ не наблюдается половой диморфизм, в отличие от ОТ и %ЖМ. Коэффициенты корреляции $Z50_{sc}$ с WHtR, МТ, ОТ, ИМТ, SFL1 и SFL2 выше, чем для %ЖМ, определенной в интегральной схеме БИА. Однако следует отметить, что 95%ДИ коэффициентов корреляции $Z50_{sc}$, %ЖМ и ОТ практически для всех пар признаков перекрываются, что свидетельствует об отсутствии значимых различий между данными корреляционными парами для обследованной выборки (рис. 5). Корреляционные связи $Z50_{sc}$ и %ЖМ с концентрацией инсулина были выше, чем корреляция инсулина с ОТ, однако локальная оценка не дает преимуществ по сравнению с %ЖМ, рассчитанной в традиционной схеме.

Корреляционные оценки, полученные в данном исследовании для пар $Z50_{sc}$ –%ЖМ и $Z50_{sc}$ –ОТ, близки к оценкам, полученным в предыдущем исследовании [7]. Тогда как оценки, полученные для группы алтайцев, оказались значительно ниже для пары $Z50_{sc}$ –ОТ, и аналогичными по своим значениям парам $Z50_{sc}$ –WHtR и $Z50_{sc}$ –%ЖМ [8].

Результаты ROC-анализа (рис. 3; HOMA-IR) позволяют предполагать, что $Z50_{sc}$ может быть использован

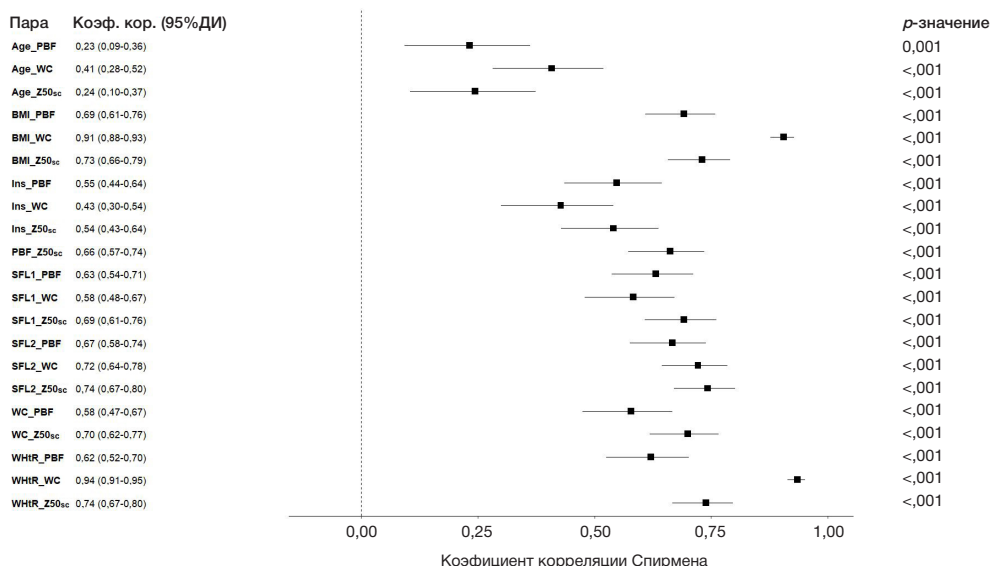


Рис. 5. Значения коэффициентов корреляции Спирмена и их 95%ДИ для пар исследованных признаков. Age — возраст, PBF — %ЖМ, WC — обхват талии, Z50_{sc} — импеданс в локальном отведении, BMI — ИМТ, Ins — инсулин мкМЕ/мл, SFL1 — толщина слоя подкожного жира возле пупка, SFL2 — толщина слоя подкожного жира над подвздошным гребнем, WHtR — индекс талия/рост

в качестве дополнительного критерия для оценки инсулинорезистентности у взрослых, однако необходимо увеличение объема выборки и включения в группу людей с подтвержденными кардиометаболическими заболеваниями. Также необходима оценка диагностической ценности Z50_{sc} в группах, сформированных по полу. Количественная оценка подкожного абдоминального жиротложения важна и с позиции изучения ремоделинга белой жировой ткани, как для исследования формирования метаболических нарушений при ожирении, так и для оценки эффективности применения ряда лекарственных препаратов [13, 16]. Связь двух количественных оценок подкожного жира — локальной БИА и толщины подкожного жира, определенной в УЗИ-сканировании, — позволяет разработать уравнения для расчета толщины слоя подкожного жира или площади поперечного сечения из показателей локального отведения ABC-02 «Медасс». При соответствующей верификации референсными методами данные уравнения могут заменить КТ и МРТ в массовых скрининговых исследованиях [6, 16].

Оценки, получаемые в локальных отведениях БИА (импеданс, активное и реактивное сопротивление), могут быть использованы для разработки различных индексов, например, производные от активного сопротивления [8, 17]. Нами также был проанализирован индекс подкожного жиротложения ($R_{sc} \cdot OT, m^2$). ИПЖ был предложен ранее [7] по аналогии с индексом висцерального жиротложения в более ранней работе [17]. На сегодняшний день эти индексы не были валидированы как критерии оценки рисков коморбидных ожирению заболеваний. Корреляция ИПЖ с WHtR (0,87 [0,71; 0,90]), OT (0,87 [0,81; 0,91]) и WHR (0,66 [0,59; 0,73]) выше, чем корреляции Z50_{sc} с данными индексами (0,74 [0,67; 0,80], 0,70 [0,62; 0,77] и 0,49 [0,38; 0,59] соответственно). Корреляция Z50_{sc} с ИПЖ составила 0,95 [0,92; 0,97]. В целом, ИПЖ не показал каких-либо принципиальных отличий от Z50_{sc}, за исключением значимых различий между подгруппами женщин и мужчин (36,2 (29,5) против 47,9 (35,3), Ом/м²; $p = 0,021$). Полученные корреляционные оценки ИПЖ согласуются с опубликованными ранее данными [7], однако медианные значения и корреляции ИПЖ с морфологическими признаками в группе этнических алтайцев оказались значительно ниже [8].

Интересно, что из всех исследованных признаков только показатели Z50_{sc} и SFL2 позволяют отличить группу людей со скрытым ожирением от группы с таким же ИМТ, но нормальной долей жировой массы. Также по Z50_{sc} группы с высокой долей жира, но разными ИМТ не отличаются друг от друга, тогда как по OT, WHtR и SFL1 для данных групп обнаруживаются значимые различия. Аналогично подгруппы без ожирения по %ЖМ, но разным ИМТ не показывают различий по Z50_{sc}. Это связано с тем, что Z50_{sc} в большой степени отражает именно жировой компонент, тогда как OT и WHtR служат суррогатными оценками абдоминального жиротложения, и большие значения данных признаков могут быть связаны с развитием скелетных мышц у физически активных людей. Или, наоборот, нормальные значения OT и WHtR обусловлены замещением мышечной ткани на жировую с сохранением небольшого обхвата талии, как в случае со скрытым ожирением. В целом паттерн изменения локальной импедансной оценки в абдоминальной области в данных группах соответствует %ЖМ, определенной в интегральной схеме, но корреляция Z50_{sc} с %ЖМ в объединенной выборке мужчин и женщин составила 0,662 [0,573; 0,735], т. е. не является высокой.

К ограничениям исследования следует отнести малочисленность группы взрослых с недостаточной массой тела (ИМТ < 18,5 кг/м²), а также людей с низкой долей жира, но хорошим развитием скелетной мускулатуры.

Выводы

В данном исследовании показана связь признака Z50_{sc}, полученного в локальном отведении БИА на отечественном биоимпедансном оборудовании, с комплексом антропометрических и биохимических признаков у мужчин и женщин. В целом, большие значения Z50_{sc} соответствуют более выраженному жиротложению и его абдоминальной топографии. Корреляционные связи Z50_{sc} с толщиной подкожного жира в области живота позволяют потенциально разработать уравнения для пересчета показателей Z50_{sc} в толщину подкожного жира на животе (площадь поперечного сечения подкожной жировой клетчатки). Результаты ROC-анализа Z50_{sc} с индексом HOMA-IR

позволяют в перспективе рассматривать локальное отведение БИА в качестве простого и неинвазивного критерия для оценки нарушений углеводного обмена, связанных с избыточным накоплением подкожного жира на животе. Однако необходимы дальнейшие исследования для установления количественных характеристик такого теста для оценки диагностической ценности $Z50_{sc}$: оценка порогового значения, чувствительности и специфичности. Количественные оценки локальных депо жира используются для разработки критериев (например, с поправкой на

ИМТ и пол) дифференциальной оценки рисков развития коморбидных заболеваний [18]. В перспективе возможна разработка уравнений для количественной оценки площади подкожного и висцерального депо жира из данных, получаемых в локальных отведениях БИА, а также индексов на их основе. Эти оценки могут стать новыми дополнительными диагностическими критериями для оценки индивидуального риска развития кардиометаболических заболеваний или персонализированного подхода к их лечению в зависимости от пола и возраста пациентов.

Литература

- Alser M, Elrayess MA. From an Apple to a Pear: Moving Fat around for Reversing Insulin Resistance. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19 (21): 14251. DOI: 10.3390/ijerph192114251.
- Zhu K, Walsh JP, Murray K, Hunter M, Hui J, Hung J. DXA-Derived vs Standard Anthropometric Measures for Predicting Cardiometabolic Risk in Middle-Aged Australian Men and Women. *J Clin Densitom*. 2022; 25 (3): 299–307. DOI: 10.1016/j.jocd.2022.01.006.
- Lee MH, Zea R, Garrett JW, Summers RM, Pickhardt PJ. AI-based abdominal CT measurements of orthotopic and ectopic fat predict mortality and cardiometabolic disease risk in adults. *Eur Radiol*. 2024; 12. DOI: 10.1007/s00330-024-10935-w.
- Catapano A, Trinchese G, Cimmino F, Petrella L, D'Angelo M, Di Maio G, et al. Impedance Analysis to Evaluate Nutritional Status in Physiological and Pathological Conditions. *Nutrients*. 2023;15 (10): 2264. DOI: 10.3390/nu15102264.
- Gonzalez CA, Zuniga O, Padilla LE. Detection of animal tissue thickness using simple vertical electric sounding (VES). *Physiol Measmt* 1997; 18: 85–91.
- Scharfetter H, Schlager T, Stollberger R, Felsberger R, Hutten H, Hinghofer-Szalkay H. Assessing abdominal fatness with local bioimpedance analysis: basics and experimental findings. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25 (4): 502–11. DOI: 10.1038/sj.ijo.0801556.
- Соловьева А. Е., Гиль-Ордонес Э., Гонзалес-Корреа К. Х., Руднев С. Г. Применение локальной импедансометрии для оценки подкожного и висцерального жиротложения и их связь с комплексом эндогенных и экзогенных факторов в группе взрослого населения Республики Алтай. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2021; 76 (1): 33–40.
- Bondareva EA, Parfenteva OI, Troshina EA, Ershova EV, Mazurina NV, Komshilova KA, et al. Agreement between bioimpedance analysis and ultrasound scanning in body composition assessment. *Am J Hum Biol*. 2024; 36 (4): e24001. DOI: 10.1002/ajhb.24001.
- Sadeghi E, Khodadadiyan A, Hosseini SA, Hosseini SM, Aminorroaya A, Amini M, et al. Novel anthropometric indices for predicting type 2 diabetes mellitus. *BMC Public Health*. 2024; 24 (1): 1033. DOI: 10.1186/s12889-024-18541-7.
- Solla F, Tran A, Bertonecchi D, Musoff C, Bertonecchi CM. Why a P-Value is Not Enough. *Clin Spine Surg*. 2018; 31 (9): 385–88. DOI: 10.1097/BSD.0000000000000695.
- De Lorenzo A, Martinoli R, Vaia F, Di Renzo L. Normal weight obese (NWO) women: an evaluation of a candidate new syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006; 16 (8): 513–23. DOI: 10.1016/j.numecd.2005.10.010.
- Zhao JY, Zhou LJ, Ma KL, Hao R, Li M. MHO or MUO? White adipose tissue remodeling. *Obes Rev*. 2024; 25 (4): e13691. DOI:10.1111/obr.13691
- Piché ME, Tchernof A, Després JP. Obesity phenotypes, diabetes, and cardiovascular diseases. *Circ Res*. 2020; 126 (11): 1477–500.
- Lai CL, Lu HK, Huang AC, Chu LP, Chuang HY, Hsieh KC. Bioimpedance analysis combined with sagittal abdominal diameter for abdominal subcutaneous fat measurement. *Front Nutr*. 2022; 9: 952929. DOI: 10.3389/fnut.2022.952929.
- Gastaldelli A, Cusi K, Fernández Landó L, Bray R, Brouwers B, Rodríguez Á. Effect of tirzepatide versus insulin degludec on liver fat content and abdominal adipose tissue in people with type 2 diabetes (SURPASS-3 MRI): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022; 10 (6): 393–406.
- Watson S, Blundell HL, Evans WD, Griffiths H, Newcombe RG, Rees DA. Can abdominal bioelectrical impedance refine the determination of visceral fat from waist circumference? *Physiol Meas*. 2009; 30 (7): N53–8. DOI: 10.1088/0967-3334/30/7/N01.
- Agrawal S, Klarqvist MDR, Diamant N, Stanley TL, Ellnor PT, Mehta NN, et al. BMI-adjusted adipose tissue volumes exhibit depot-specific and divergent associations with cardiometabolic diseases. *Nat Commun*. 2023; 14 (1): 266. DOI: 10.1038/s41467-022-35704-5.

References

- Alser M, Elrayess MA. From an Apple to a Pear: Moving Fat around for Reversing Insulin Resistance. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19 (21): 14251. DOI: 10.3390/ijerph192114251.
- Zhu K, Walsh JP, Murray K, Hunter M, Hui J, Hung J. DXA-Derived vs Standard Anthropometric Measures for Predicting Cardiometabolic Risk in Middle-Aged Australian Men and Women. *J Clin Densitom*. 2022; 25 (3): 299–307. DOI: 10.1016/j.jocd.2022.01.006.
- Lee MH, Zea R, Garrett JW, Summers RM, Pickhardt PJ. AI-based abdominal CT measurements of orthotopic and ectopic fat predict mortality and cardiometabolic disease risk in adults. *Eur Radiol*. 2024; 12. DOI: 10.1007/s00330-024-10935-w.
- Catapano A, Trinchese G, Cimmino F, Petrella L, D'Angelo M, Di Maio G, et al. Impedance Analysis to Evaluate Nutritional Status in Physiological and Pathological Conditions. *Nutrients*. 2023;15 (10): 2264. DOI: 10.3390/nu15102264.
- Gonzalez CA, Zuniga O, Padilla LE. Detection of animal tissue thickness using simple vertical electric sounding (VES). *Physiol Measmt* 1997; 18: 85–91.
- Scharfetter H, Schlager T, Stollberger R, Felsberger R, Hutten H, Hinghofer-Szalkay H. Assessing abdominal fatness with local bioimpedance analysis: basics and experimental findings. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25 (4): 502–11. DOI: 10.1038/sj.ijo.0801556.
- Soloveva AE, Gil-Ordones Ye, Gonzales-Korrea KH, Rudnev SG. Primenenie lokal'noj impedansometrii dlja ocenki podkozhnogo i visceral'nogo zhirootlozhenija v abdominal'noj oblasti u studentov vuza. *Morfologija*. 2019; 156 (4): 85–90. Russian.

8. Rokkina AN, Pravednikova AYе. Shidlovskij YuV, Popova EV, Zadorozhnaja LV, Homjakova IA. Indeksy podkozhnogo i visceral'nogo zhirootlozhenija i ih svjaz' s kompleksom jendogennyh i jekzogennyh faktorov v gruppe vzroslogo naselenija Respubliki Altaj. Vestnik Moskovskogo universiteta. Serija 16. Biologija. 2021; 76 (1): 33–40. Russian.
9. Bondareva EA, Parfenteva OI, Troshina EA, Ershova EV, Mazurina NV, Komshilova KA, et al. Agreement between bioimpedance analysis and ultrasound scanning in body composition assessment. *Am J Hum Biol.* 2024; 36 (4): e24001. DOI: 10.1002/ajhb.24001.
10. Sadeghi E, Khodadadiyan A, Hosseini SA, Hosseini SM, Aminorroaya A, Amini M, et al. Novel anthropometric indices for predicting type 2 diabetes mellitus. *BMC Public Health.* 2024; 24 (1): 1033. DOI: 10.1186/s12889-024-18541-7.
11. Solla F, Tran A, Bertocelli D, Musoff C, Bertocelli CM. Why a P-Value is Not Enough. *Clin Spine Surg.* 2018; 31 (9): 385–88. DOI: 10.1097/BSD.0000000000000695.
12. De Lorenzo A, Martinoli R, Vaia F, Di Renzo L. Normal weight obese (NWO) women: an evaluation of a candidate new syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006; 16 (8): 513–23. DOI: 10.1016/j.numecd.2005.10.010.
13. Zhao JY, Zhou LJ, Ma KL, Hao R, Li M. MHO or MUO? White adipose tissue remodeling. *Obes Rev.* 2024; 25 (4): e13691. DOI:10.1111/obr.13691
14. Piché ME, Tchernof A, Després JP. Obesity phenotypes, diabetes, and cardiovascular diseases. *Circ Res.* 2020; 126 (11): 1477–500.
15. Lai CL, Lu HK, Huang AC, Chu LP, Chuang HY, Hsieh KC. Bioimpedance analysis combined with sagittal abdominal diameter for abdominal subcutaneous fat measurement. *Front Nutr.* 2022; 9: 952929. DOI: 10.3389/fnut.2022.952929.
16. Gastaldelli A, Cusi K, Fernández Landó L, Bray R, Brouwers B, Rodríguez Á. Effect of tirzepatide versus insulin degludec on liver fat content and abdominal adipose tissue in people with type 2 diabetes (SURPASS-3 MRI): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022; 10 (6): 393–406.
17. Watson S, Blundell HL, Evans WD, Griffiths H, Newcombe RG, Rees DA. Can abdominal bioelectrical impedance refine the determination of visceral fat from waist circumference? *Physiol Meas.* 2009; 30 (7): N53–8. DOI: 10.1088/0967-3334/30/7/N01.
18. Agrawal S, Klarqvist MDR, Diamant N, Stanley TL, Ellinor PT, Mehta NN, et al. BMI-adjusted adipose tissue volumes exhibit depot-specific and divergent associations with cardiometabolic diseases. *Nat Commun.* 2023; 14 (1): 266. DOI: 10.1038/s41467-022-35704-5.

СТРУКТУРА ВРЕМЕННОЙ ПЕРСПЕКТИВЫ УЧАСТНИКОВ БОЕВЫХ ДЕЙСТВИЙ С АМПУТАЦИЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ

В. Б. Никишина, Е. А. Петраш , Н. Ю. Юнина-Пакулова, Е. С. Лукьянов

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Актуальность предлагаемого исследования обусловлена необходимостью четкого определения мишени психологического воздействия у участников боевых действий с ампутацией конечностей. Временная перспектива, являясь интегральной характеристикой, обеспечивает целостность жизненного опыта: все события жизни в границах прошлого, настоящего и будущего взаимосвязаны. Целью исследования было оценить структуру временной перспективы участников боевых действий с ампутацией конечностей. Объем выборки составил 78 мужчин 20–53 лет, имеющих опыт участия в боевых действиях и находящихся на лечении либо реабилитации после ранений. В работе использовали Миссисипскую шкалу для оценки посттравматических реакций, опросник временной перспективы Ф. Зимбардо, методику событийной реконструкции временной перспективы личности Никишиной В. Б. и Петраш Е. А., методику SR-45 П. И. Юнацкевича, опросник уровня инфантилизма А. А. Серегина. Факторная структура временной перспективы участников боевых действий с ампутацией верхних конечностей включает в себя фактор нерефлексивного будущего, фактор ограниченности временной перспективы и фактор ситуативно-поведенческих рисков. При ампутации нижних конечностей представлены фактор ситуативного будущего, фактор ориентированности на прошлое, а также фактор ситуативно-поведенческих рисков. При отсутствии ампутации конечностей в структуре временной перспективы участников боевых действий представлены фактор перспективы рефлексивного будущего, фактор ограниченно-фаталистического настоящего, а также фактор направленности в прошлое.

Ключевые слова: временная перспектива, ампутация конечностей, посттравматическое стрессовое расстройство, опыт участия в боевых действиях

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации №122051700017-2.

Вклад авторов: всеми авторами был внесен равнозначный вклад в подготовку рукописи статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 57 от 21 сентября 2023 г.); все участники подписали добровольное информированное согласие на обследование.

 **Для корреспонденции:** Екатерина Анатольевна Петраш
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; petrash@mail.ru

Статья получена: 24.06.2024 **Статья принята к печати:** 28.06.2024 **Опубликована онлайн:** 31.07.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.028

STRUCTURE OF TIME PERSPECTIVE IN COMBATANTS WITH AMPUTATED LIMBS

Nikishina VB, Petrash EA , Yunina-Pakulova NYu, Lukyanov ES

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia


The relevance of the reported study results from the need to clearly define the target of psychological impact in combatants with amputated limbs. The time perspective being an integral characteristic ensures the life experience integrity: all life events are intertwined within the boundaries of the past, present and future. The study was aimed to assess the time perspective structure in combatants with amputated limbs. The sample consisted of 78 males aged 20–53 years, who had combat experience and underwent treatment or rehabilitation after getting injured. The study involved the use of the Mississippi Scale for Combat-Related Post-Traumatic Stress Disorder, Zimbardo Time Perspective Inventory, method for event-based reconstruction of a person's time perspective by V.B. Nikishina and E.A. Petrash, SR-45 method by P.I. Yunatskevich, infantilism inventory by A.A. Seregin. The factor structure of time perspective in combatants with amputated upper limbs includes the factor of non-reflexive future, factor of limited time perspective, and the situational and behavioral risk factor. In cases of amputated lower limbs, the situational future factor, past orientation factor, and situational and behavioral risk factor are represented. In cases of no amputated limbs, the combatants' time perspective structure includes the factor of reflexive future perspective, factor of limited present fatalistic, and past orientation factor.

Keywords: time perspective, amputation of limbs, post-traumatic stress disorder, combat experience

Funding: the study was conducted within the framework of the State Assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 122051700017-2.

Author contribution: the authors contributed to manuscript writing equally.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol No. 57 dated 21 September 2023); the informed consent to examination was submitted by all subjects.

 **Correspondence should be addressed:** Ekaterina A. Petrash
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997, Russia; petrash@mail.ru

Received: 24.06.2024 **Accepted:** 28.06.2024 **Published online:** 31.07.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.028

Актуальность исследования структурной организации временной перспективы участников боевых действий с ампутацией конечностей обусловлена необходимостью поиска мишеней психологического воздействия. Хронологическое сужение временной перспективы, а также событийная (содержательная) ограниченность характеризуют проявления посттравматического стрессового расстройства [1–3]. Изучение трансформации структурной организации временной перспективы личности в качестве мишени психологического воздействия позволит изменить эмоционально-поведенческий

статус участников боевых действий, тем самым снизить интенсивность переживаний травмирующих событий.

В качестве психотравмирующих воздействий у участников боевых действий выступает как сам опыт участия в боевых действиях, так и получение различных физических травм и увечий. Целый ряд авторов указывают на то, что в условиях длительного воздействия психотравмирующих факторов, в том числе приводящих к развитию посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), происходит изменение временной перспективы личности: изменяются хронологические границы, меняется

соотношение параметров прошлого–настоящего–будущего, изменяется эмоциональная оценка содержания временной перспективы [4–10].

Выстраивая наши рассуждения, мы исходили из предположения о том, что временная перспектива, содержательно характеризующаяся оценкой событий как травматических, осуществляется с учетом эмоционально-поведенческого статуса, проявляющегося в уровне выраженности ПТСР, уровнем личностной зрелости или проявлением инфантилизма (рассматриваемого как противоположность личностной зрелости), а также склонностью к суицидальным реакциям на уровне поведения. Соответственно, одни и те же события разные люди могут оценивать по-разному: то, что для одного выступает в качестве психотравмирующего фактора, другой оценивает как обычное, рядоположенное событие (одно из множества других).

Целью исследования было изучить структуру временной перспективы участников боевых действий с ампутацией конечностей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 78 испытуемых мужского пола в возрасте 20–53 года ($31,16 \pm 4,28$ года), проходящие лечение и реабилитацию (ранний этап — подготовка к протезированию) после минно-взрывных и огнестрельных травм, полученных в ходе участия в боевых действиях. Критерии включения в исследование: полученные в ходе участия в боевых действиях ранения (минно-взрывные и огнестрельные травмы без тяжелых повреждений внутренних органов); нормативный когнитивный статус, который оценивали с помощью краткой шкалы оценки психического статуса MMSE (Mini-Mental State Examination) [11]. В исследование включали испытуемых, результат оценки которых соответствовал 28–30 баллам. Критерии исключения: женский пол, снижение когнитивного статуса (менее 28 баллов по шкале MMSE), тяжелые повреждения внутренних органов в ходе полученных ранений. В экспериментальную группу вошли 42 человека с травматической ампутацией (26 человек с ампутацией нижних конечностей на уровне стопы/голеней и 16 человек с ампутацией верхних конечностей на уровне кисти/предплечья) до этапа протезирования. Контрольную группу составили 36 участников боевых действий с минно-взрывными и огнестрельными повреждениями мягких тканей без ампутации конечностей.

Исследование проводили с использованием следующих методов: Миссисиппская шкала для оценки посттравматических реакций (Mississippi Scale — MS, Keane et al., в адаптации Н. В. Тарабриной) — военный вариант; опросник временной перспективы Ф. Зимбардо; методика событийной реконструкции временной перспективы личности В. Б. Никишиной, Е. А. Петраш; методика выявления склонности к суицидальным реакциям (CP-45) П. И. Юнацкевича; опросник уровня инфантилизма А. А. Серегина [7, 12–17].

Исследование осуществляли последовательно в три этапа. На первом этапе оценивали значимость различий в параметрах временной перспективы и событийного пространства у участников боевых действий по группам с учетом ампутации. Задачей второго этапа была оценка эмоционально-поведенческого статуса участников боевых действий с учетом ампутации конечностей. Эмоционально-поведенческий статус изучали в параметрах уровня

выраженности проявлений ПТСР, уровня инфантилизма и склонности к суицидальным реакциям. Данные параметры изучали в группах участников боевых действий с ампутацией и без ампутации, а также с учетом характера ампутации (при ампутации верхних и нижних конечностей). На третьем этапе осуществляли оценку факторной структуры временной перспективы с показателями эмоционально-поведенческого статуса по группам испытуемых.

Статистическую обработку проводили с использованием методов сравнительной статистики (непараметрический *U*-критерий Манна-Уитни с соблюдением ограничений в его использовании). Осуществляли также расчет многомерной статистики — факторный анализ с *varimax*-вращением ($p < 0,05$) по исследуемым параметрам.

Целью исследования было изучить структуру временной перспективы участников боевых действий с ампутацией конечностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе проводили оценку показателей временной перспективы участников боевых действий в группах с ампутациями и без ампутации конечностей. Установлено, что в обеих группах временная перспектива характеризуется преобладанием ориентированности на будущее и позитивное прошлое (рис. 1).

Отражая общую направленность на будущее, можем констатировать, что поведение участников боевых действий вне зависимости от наличия/отсутствия ампутации определяется стремлениями к целям и вознаграждениям будущего. Однако хронологические границы этого будущего определяются текущим периодом госпитализации и последующей реабилитации также в условиях специализированных учреждений (в хронологической протяженности до 1–3 месяцев). Позитивное прошлое характеризуется позитивной реконструкцией прошлого, но только до момента начала участия в боевых действиях. При этом участники боевых действий, перенесшие ампутацию, фиксируют меньшую выраженность позитивного прошлого в сравнении с участниками боевых действий без ампутации ($p = 0,026^*$). Статистически значимые различия также получены по показателям негативного прошлого ($p = 0,024^*$) и фаталистического настоящего ($p = 0,023^*$). В группе участников боевых действий без перенесенной ампутации данные показатели значимо выше, что свидетельствует о большей дифференцированности и структурированности временной перспективы.

При исследовании показателей временной перспективы у участников боевых действий с учетом характера ампутации (ампутация верхних/нижних конечностей) установлено значимое преобладание показателей негативного прошлого, будущего и фаталистического настоящего у участников боевых действий при ампутации нижних конечностей в сравнении с участниками боевых действий с ампутацией верхних конечностей. При ампутации верхних конечностей временная перспектива характеризуется более низкими значениями выраженности показателей при их сбалансированности, в то время как при ампутации нижних конечностей пациенты ориентированы на будущее (относительно краткосрочное, не превышающее этап лечения и реабилитации) с преобладанием негативной оценки прошлого (причем не только связанного с травматическим событием, но и негативной окраской нейтральных событий) и фаталистичностью настоящего (рис. 2).



Рис. 1. Профили средних значений показателей временной перспективы участников боевых действий с учетом ампутации конечностей

Оценивая событийную наполненность временной перспективы через размер событийного пространства, установлено, что количество событий прошлого ($p = 0,031^*$) и будущего ($p = 0,033^*$) у участников боевых действий с минно-взрывными и огнестрельными ранениями мягких тканей без ампутации значительно превышает таковое у участников боевых действий с ампутацией. Число событий настоящего при этом значимо не отличается.

Вне зависимости от наличия/отсутствия ампутации в структуре событийного пространства максимальное количество событий относится к прошлому при минимальном количестве событий настоящего. Оценивая общее количество событий, можем констатировать, что при ампутации конечностей у участников боевых действий общее количество событий (относящихся как к прошлому, так и к настоящему и будущему) меньше. Это указывает на значимое сужение событийного пространства вокруг событий с посттравматическими последствиями,

аккумулирующими на себе систему межсобытийных связей и нарушающими временную перспективу личности участников боевых действий (рис. 3).

Оценивая интегрированность событийного пространства участников боевых действий с учетом ампутации, фиксируем факт значимого превышения количества межсобытийных взаимосвязей в группе участников боевых действий с ампутацией конечностей в координатах прошлого ($p = 0,034^*$), настоящего ($p = 0,031^*$) и будущего ($p = 0,027^*$). Полученные данные свидетельствуют о фиксации участников боевых действий на очевидно травматическом событии. В обеих группах при этом, вне зависимости от наличия/отсутствия ампутации, вся временная перспектива проходит через систему взаимосвязей травматического события (которое участниками исследования обозначается как факт участия в боевых действиях, получение ранения, ампутация и все, что связано с данной ситуацией).



Рис. 2. Профили средних значений показателей временной перспективы участников боевых действий в группах с ампутацией верхних и нижних конечностей

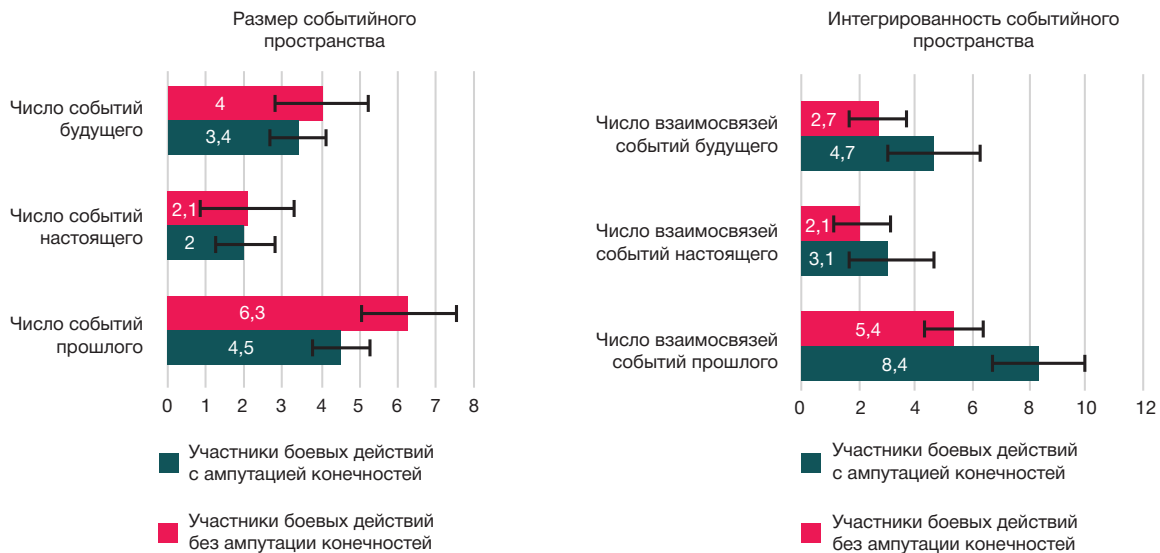


Рис. 3. Показатели размера и интегрированности событийного пространства участников боевых действий с учетом ампутации конечностей

При изучении событийной наполненности временной перспективы участников боевых действий с ампутацией верхних и нижних конечностей достоверно установлено, что при ампутации нижних конечностей число событий прошлого ($p = 0,022^*$), настоящего ($p = 0,023^*$) и будущего ($p = 0,022^*$) значительно превышает таковое у участников боевых действий с ампутацией верхних конечностей. При оценке количества взаимосвязей в границах настоящего ($p = 0,026^*$) и будущего ($p = 0,024^*$) выявлено преобладание количества взаимосвязей у участников боевых действий с ампутацией нижних конечностей в сравнении с участниками боевых действий с ампутацией верхних конечностей. При этом большее число событий прошлого у участников боевых действий с ампутацией нижних конечностей включено в значительно меньшее количество взаимосвязей ($p = 0,046^*$) в сравнении с участниками боевых действий с ампутацией верхних конечностей (рис. 4).

При решении задачи по оценке уровня выраженности проявлений ПТСР у участников боевых действий достоверно установлено, что при ампутации конечностей у участников боевых действий уровень выраженности проявлений ПТСР значительно выше, чем у участников боевых действий без ампутации конечностей, однако в обеих группах он соответствует диапазону средних

значений с тенденцией к высокому уровню ($98,4 \pm 2,86$), что характеризует нарушение адаптации. При этом при оценке значимости различий в группе участников боевых действий с ампутацией верхних и нижних конечностей, достоверно установлено, что при ампутации верхних конечностей уровень выраженности проявлений ПТСР ($92,2 \pm 2,31$), проявляющийся в нарушении адаптации, значительно выше, чем при ампутации нижних конечностей ($88,3 \pm 2,57$). Полученные результаты обусловлены тем, что при ампутации верхних конечностей существенным образом нарушаются навыки самообслуживания, возрастает ощущение беспомощности и безысходности (со слов самих испытуемых). При ампутации нижних конечностей нарушение адаптации менее выражено, так как ограничения касаются преимущественно перемещений в пространстве, которые возможно компенсировать при использовании вспомогательных средств передвижения.

Рассматривая инфантильность как комплексную характеристику личности, выраженную в незрелости эмоционально-волевой сферы, снижении мотивации достижения, несамостоятельности в принятии решений и действий, подчиняемости, неорганизованности поведения, ориентированности на гедонистические ценности, а также низкой способности к рефлексии и несформированности

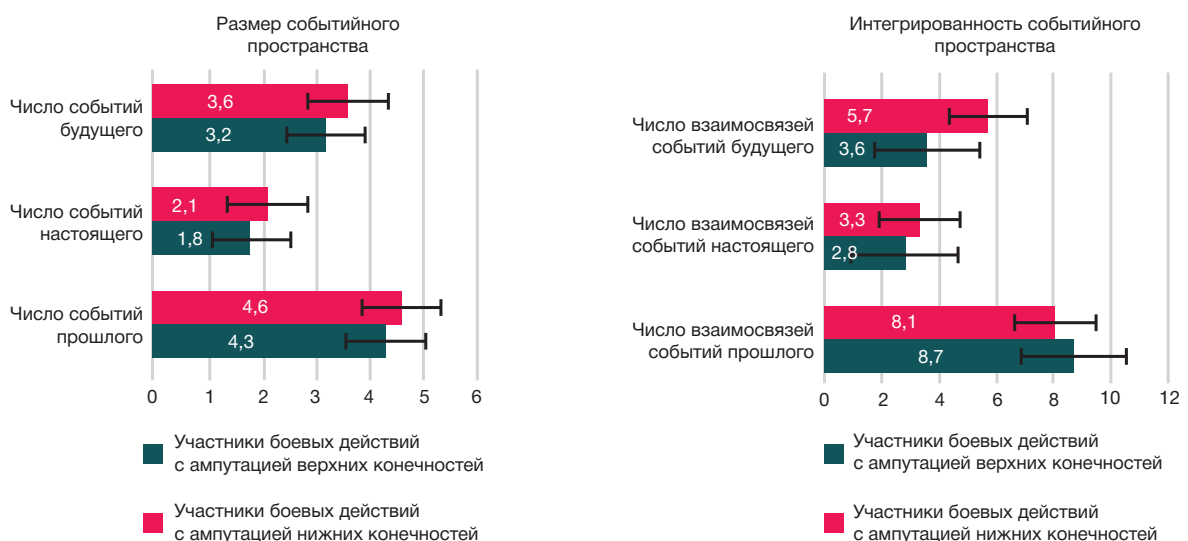


Рис. 4. Показатели размера и интегрированности событийного пространства участников боевых действий с ампутацией верхних и нижних конечностей

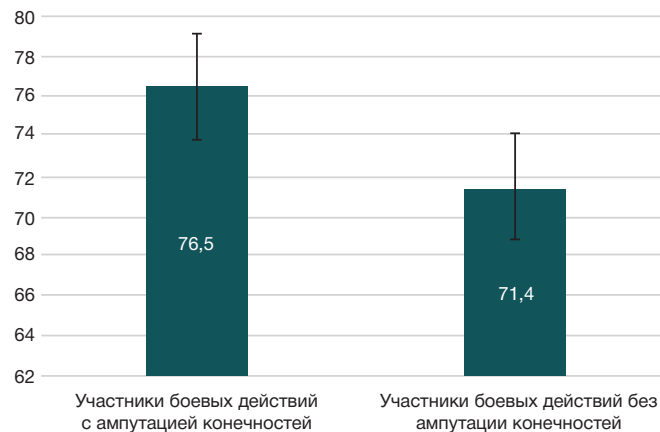


Рис. 5. Показатели средних значений общего уровня инфантилизма участников боевых действий с учетом ампутации конечностей

преодолевающего поведения, в обеих группах участников боевых действий, вне зависимости от наличия/отсутствия ампутации выявлен средний уровень общего показателя инфантильности. При оценке значимости различий достоверно установлено значимое превышение общего уровня инфантильности у участников боевых действий с ампутацией конечностей ($p = 0,021^*$) в сравнении с участниками боевых действий без ампутации (рис. 5). При оценке значимости различий общего уровня инфантилизма в группах участников боевых действий с ампутацией верхних конечностей и с ампутацией нижних конечностей статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,129$).

Являясь интегративным показателем, общий уровень инфантильности включает в себя целый ряд показателей, позволяющих определить, какие личностные проявления характеризуются незрелостью (какой уровень личностных проявлений обеспечивает черты инфантильности — эмоционально-волевой, ценностный, мотивационный или поведенческий).

При рассмотрении параметров инфантильности участников боевых действий достоверно установлено, что в обеих группах испытуемых личностная незрелость проявляется на ценностном и мотивационно-поведенческом уровнях (рис. 6).

Участники боевых действий без ампутации конечностей со средним уровнем инфантильности, характеризующимся ситуативностью контроля эмоций, при наличии жизненных целей испытывают затруднения с планированием способов их достижения, характеризуются выраженной позицией иждивенчества и перекладывания ответственности на других. Данной позиции соответствует избегающее поведение в ситуациях затруднения и неопределенности. У участников боевых действий, перенесших ампутацию конечностей (как верхних, так и нижних), при среднем общем уровне инфантилизма ценностные ориентации

($p = 0,022^*$), трудовая мотивация ($p = 0,021^*$), позиция иждивенчества ($p = 0,019^*$) и хаотичность поведения ($p = 0,043^*$) значимо выше в сравнении с участниками боевых действий без ампутации конечностей. Полученные результаты закономерны, так как травматическая ампутация объективно выступает в качестве фактора, дезорганизующего поведение.

Статистически значимых различий по шкалам показателей инфантилизма внутри экспериментальной группы (при сравнении показателей инфантилизма у участников боевых действий с ампутацией нижних конечностей и с ампутацией верхних конечностей) не выявлено.

На следующем этапе оценивали склонность к суицидальным реакциям участников боевых действий. В результате выявлена статистическая значимость различий в уровне выраженности склонности к суицидальным реакциям как между экспериментальной и контрольной группами ($p = 0,024^*$), так и внутри экспериментальной группы ($p = 0,038^*$). Установлено, что участники боевых действий вне зависимости от наличия/отсутствия ампутации конечностей при значениях уровня склонности к суицидальным реакциям ниже среднего характеризуются вероятностью ситуативного возникновения суицидального риска: суицидальная реакция может возникнуть только на фоне длительного психотравмирующего воздействия либо при реактивных состояниях психики (рис. 7).

Участники боевых действий с ампутацией конечностей характеризуются более выраженной ситуативной склонностью к суицидальным реакциям в сравнении с участниками боевых действий без ампутации конечностей. Ситуативная склонность к суицидальным реакциям выше у участников боевых действий с ампутацией верхних конечностей в сравнении с участниками боевых действий с ампутацией нижних конечностей.

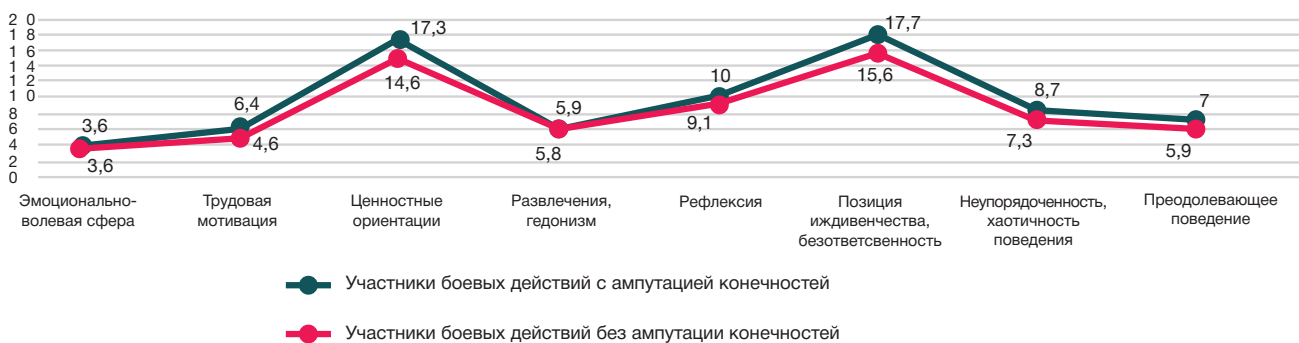


Рис. 6. Показатели средних значений проявлений инфантилизма участников боевых действий с учетом ампутации конечностей

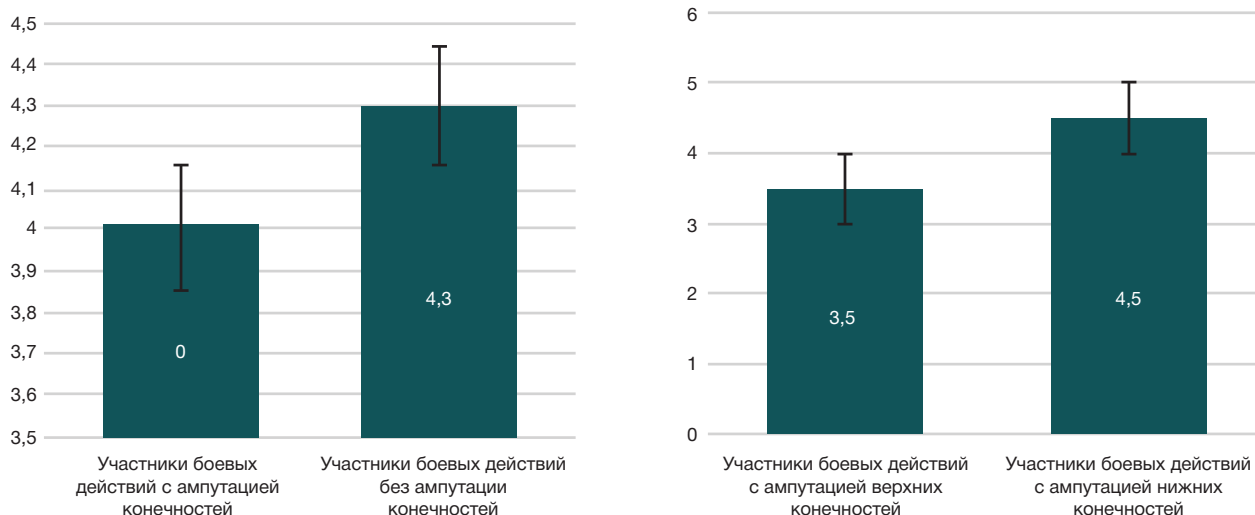


Рис. 7. Гистограммы средних значений показателей уровня выраженности склонности к суицидальным реакциям участников боевых действий с учетом ампутации конечностей

На следующем этапе осуществляли процедуру факторизации исследуемых параметров по группам испытуемых.

Факторная структура временной перспективы участников боевых действий с ампутацией верхних конечностей включает в себя три фактора с максимальной факторной нагрузкой: фактор неререфлексивного будущего (включающий ориентацию на будущее — 0,736) с позиции перекалывания ответственности — 0,729), фактор ограниченности временной перспективы (характеризующийся негативным прошлым — 0,691, в содержании которого представлено психотравмирующее переживание — 0,704) и фактор ситуативно-поведенческих рисков (включая ситуативную склонность к суицидальному риску — 0,726 при фаталистичности оценки настоящего — 0,808) (рис. 8).

Факторная структура временной перспективы участников боевых действий с ампутацией нижних конечностей имеет трехфакторную структуру, включающую фактор ситуативного будущего (характеризующего ограниченность событий будущего — 0,709 при ситуативном контроле эмоций — 0,806), фактор ориентированности на прошлое (включая событийную наполненность прошлого — 0,725, которая реализуется в избегающем поведении — 0,748), а также фактор ситуативно-поведенческих рисков (включая ситуативную склонность к суицидальному риску — 0,734; фаталистическое настоящее — 0,731; проявления ПТСР — 0,764).

Факторная структура временной перспективы участников боевых действий без ампутации конечностей также включает в себя три фактора с максимальной факторной нагрузкой: фактор перспективы рефлексивного будущего (ориентированность в будущее — 0,752 при негативной оценке прошлого — 0,702 и позиции перекалывания ответственности — 0,729), фактор ограниченно-фаталистического настоящего (при фаталистичности событий настоящего — 0,801, являющихся психотравмирующими), а также фактор направленности в прошлое (при позитивной оценке прошлого — 0,736 с позиции перекалывания ответственности — 0,705).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выявленные в результате исследования особенности структурной организации временной перспективы

участников боевых действий согласуются с данными, полученными в более ранних исследованиях [4, 5, 9, 12], согласно которым авторы отчетливо фиксируют рассогласованность временной перспективы, ориентированность на события прошлого, а также сужение хронологических границ прошлого, настоящего, будущего. В качестве факторов, определяющих структурную организацию временной перспективы участников боевых действий, выступают, с одной стороны, травматические события (либо опыт участия в боевых действиях, либо его сочетание с получением физического дефекта в форме травматической ампутации конечностей), с другой стороны — уровень личностной зрелости (вернее, наоборот — уровень инфантилизма), а также склонность к суицидальным реакциям. Соответственно полученным результатам, выявлена закономерность, подтверждающая наше предположение о том, что чем выше уровень проявлений ПТСР, выше уровень инфантильности (что наблюдается в группе участников боевых действий с травматической ампутацией конечностей), тем более рассогласованной является временная перспектива.

Рассогласованность структурной организации временной перспективы участников боевых действий с ампутацией верхних конечностей представляется наиболее сложной, так как именно в данной группе выше проявления деструктивного эмоционально-поведенческого статуса (выше уровень проявлений ПТСР и склонности к суицидальным реакциям), которые существенным образом ограничивают перспективу будущего, его планирование. Им свойственно перекалывание ответственности в событиях будущего при фаталистичности настоящего, которое, в свою очередь, обусловлено событиями (психотравмирующими) прошлого. При ампутации нижних конечностей у участников боевых действий структурная организация временной перспективы схожа с ранее описанной, однако есть и специфические особенности. Событийная ограниченность будущего при избирательном ситуативном контроле эмоций, которая обеспечивается преимущественно событиями прошлого (каждое событие будущего «вытекает» из событий прошлого с травматическим содержанием). Событийная наполненность прошлого при этом реализуется в избегающем поведении — травматические события не обозначаются как травматические, а чаще оцениваются как негативные.

Участники боевых действий с ампутацией верхних конечностей

<p>Нерефлексивное будущее</p> <ul style="list-style-type: none"> – Будущее – Позиция перекалывания ответственности – Рефлексия 	<p>Ограниченность временной перспективы</p> <ul style="list-style-type: none"> – Нецеленаправленность поведения – Проявление ПТСР – Негативное прошлое 	<p>Ситуативно-поведенческие риски</p> <ul style="list-style-type: none"> – Ситуативная склонность к суицидальному риску – Фаталистическое настоящее
---	--	--

Участники боевых действий с ампутацией нижних конечностей

<p>Ситуативное будущее</p> <ul style="list-style-type: none"> – Будущее – Ситуативность контроля эмоций – Количество взаимосвязей будущего 	<p>Ориентированность на прошлое</p> <ul style="list-style-type: none"> – Негативное прошлое – Преодолевающее поведение по типу избегания – Количество событий прошлого 	<p>Ситуативно-поведенческие риски</p> <ul style="list-style-type: none"> – Ситуативная склонность к суицидальному риску – Фаталистическое настоящее – Проявление ПТСР
--	---	---

Участники боевых действий без ампутации конечностей

<p>Перспектива рефлексирующего будущего</p> <ul style="list-style-type: none"> – Будущее – Негативное прошлое – Позиция перекалывания ответственности 	<p>Ограниченно-фаталистическое настоящее</p> <ul style="list-style-type: none"> – Фаталистическое настоящее – Ситуативность контроля эмоций – Проявление ПТСР – Количество событий настоящего 	<p>Направленность в прошлое</p> <ul style="list-style-type: none"> – Позитивное прошлое – Проявление ПТСР – Позиция перекалывания ответственности
---	---	---

Рис. 8. Факторная структура временной перспективы участников боевых действий с учетом ампутации конечностей

Структура временной перспективы участников боевых действий без ампутации конечностей характеризуется также хронологической и содержательной (событийной) ограниченностью будущего при фаталистичности настоящего и позитивной оценке прошлого. Травмирующие события при этом являются содержанием фаталистического настоящего — данные события еще не «переместились» в хронологическое прошлое. Такой факт существенно ограничивает возможности перспективного планирования и прогнозирования перспективы будущего.

ВЫВОДЫ

В результате изучения структурной организации временной перспективы участников боевых действий достоверно установлена фаталистичность настоящего при ориентированности в будущее как в группе мужчин, перенесших ампутацию конечностей, так и в группе мужчин с минно-взрывными и огнестрельными ранениями мягких тканей без ампутации. При этом будущее хронологически сокращается до 1–3 месяцев и характеризуется отсутствием конкретных жизненных целей, неконкретностью и хаотичностью средств их достижения, а также формированием позиции с отсутствием ответственности и избегающим поведением при необходимости преодоления трудностей. Рассогласованность структурной организации временной перспективы участников боевых действий

более выражена в группах с ампутацией конечностей (как верхних, так и нижних) в сравнении с группой участников боевых действий без ампутации. Рассогласование временной перспективы при ампутации конечностей (как нижних, так и верхних) обусловлено более высоким уровнем выраженности проявлений ПТСР. Будучи одним из ключевых проявлений ПТСР, диссоциация проявляется в том числе на уровне временной перспективы, четко разграничивая события прошлого, настоящего и будущего. Средний уровень инфантильности данной группы испытуемых проявляется в формировании выраженной иждивенческой позиции в перспективе будущего, хаотичности поведения и ситуативной склонности к суицидальным реакциям (как одному из проявлений преодолевающего поведения в форме избегания). Участники боевых действий без ампутации конечностей оценивают свое прошлое как негативное, ограничивая его лишь событиями, связанными с опытом участия в боевых действиях с последующим получением ранения. Настоящее, ограниченное длительностью текущего момента (не более суток), характеризуется избегающим поведением, основывающимся на гедонистических ценностях. Склонность к суицидальным реакциям не выражена. Мотивационно-неупорядоченная ретроспективная оценка прошлого является препятствием в формировании перспективного будущего, предполагающего упорядочивание целей, а также способов и средств их достижения.

Литература

- Иванов А. Л., Рубцов В. В., Жуматий Н. В., Давлетшина М. В. Психологические последствия участия военнослужащих в боевых действиях в Чеченской республике и их медико-психолого-социальная коррекция. Консультативная психология и психотерапия. 2003; 11 (4): 146–62.
- Караяни А. Г. Психологическая реабилитация участников боевых действий. М., 2003; 80 с.
- Квасова О. Г. Трансформация временной перспективы

личности в экстремальной ситуации. Прикладная психология как ресурс социально-экономического развития России в условиях преодоления глобального кризиса. М., 2010; с. 125–127.

4. Авдентова В. Б. Изменение временной перспективы у взрослого человека в стрессовых ситуациях. *Universum: психология и образование*. 2023; 1 (103): 20–23.
5. Акимова А. Р. Сравнительный анализ стрессоустойчивости личности с различным типом саморегуляции во временной перспективе. *Психология. Историко-критические обзоры и современные исследования*. 2017; 6 (2A): 68–76.
6. Головаха Е. И. Психологическое время личности. Киев: Наукова думка, 1984; 207 с.
7. Зимбардо Ф., Бойд Дж. Парадокс времени. СПб.: Речь, 2010; 352 с.
8. Зудова Е. А. Взаимосвязь психологической травмы и временной перспективы личности. *Инновационная наука*. 2024; 1–2: 181–6.
9. Руденко С. В. Динамика временной перспективы в условиях нестабильной военно-политической ситуации. *Вестник Донецкого национального университета. Серия Д: Филология и психология*. 2023; 1: 99–106.
10. Яницкий М. С., Серый А. В., Балабашук Р. О.

Хронотопические характеристики образа мира осужденных, находящихся в местах лишения свободы. *Психопедагогика в правоохранительных органах*. 2022; 27 (3-90): 298–306.

11. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of psychiatric research*. 1975; 12 (3): 189–98. DOI:10.1016/0022-3956(75)90026-6.
12. Никишина В. Б., Петраш Е. А., Кузнецова А. А. Апробация методики событийной реконструкции временной перспективы личности. *Вопросы психологии*. 2015; 2: 140–8.
13. Никишина В. Б., Петраш Е. А. Структура событийного пространства личности на разных этапах возрастного развития. *Вопросы психологии*. 2017; 3: 28–39.
14. Тарабрина Н. В., редактор. *Психология посттравматического стресса. Практическое руководство в 2 частях*. М., 2007.
15. Тарабрина Н. В. *Практикум по психологии посттравматического стресса*. СПб.: Питер, 2001; 272 с.
16. Юнацкевич П. И. *Основы психолого-педагогической диагностики и коррекции суицидального поведения*. СПб.: ВИКА им. Можайского, 1998; 160 с.
17. Keane NM, Caddell JM, Taylor KL. Mississippi Scale for Combat-Related ПТСР: Three Studies in Reliability and Validity. *J Consulting and Clinical Psychology*. 1988; 56 (1).

References

1. Ivanov AL, Rubcov VV, Zhumatij NV, Davletshina MV. Psihologicheskie posledstviya uchastija voennosluzhashhih v boevyh dejstvijah v Chechenskoj respublike i ih mediko-psihologosocial'naja korekcija. *Konsul'tativnaja psihologija i psihoterapija*. 2003; 11 (4): 146–62. Russian.
2. Karajani AG. Psihologicheskaja rehabilitacija uchastnikov boevyh dejstvij. М., 2003; 80 s. Russian.
3. Kvasova OG. Transformacija vremennoj perspektivy lichnosti v jekstremal'noj situacii. *Prikladnaja psihologija kak resurs social'no-jekonomicheskogo razvitija Rossii v uslovijah preodolenija global'nogo krizisa*. М., 2010; s. 125–127. Russian.
4. Avdentova VB. Izmenenie vremennoj perspektivy u vzroslogo cheloveka v stressovyh situacijah. *Universum: psihologija i obrazovanie*. 2023; 1 (103): 20–23. Russian.
5. Akimova AR. Sravnitel'nyj analiz stressoustojchivosti lichnosti s razlichnym tipom samoreguljacii vo vremennoj perspektive. *Psihologija. Istoriko-kriticheskie obzory i sovremennye issledovanija*. 2017; 6 (2A): 68–76. Russian.
6. Golovaha EI. Psihologicheskoe vremja lichnosti. Kiev: Naukova dumka, 1984; 207 s. Russian.
7. Zimbardo F, Boyd Dzh. Paradoкс времени. SPb.: Rech', 2010; 352 s. Russian.
8. Zudova EA. Vzaimosvjaz' psihologicheskoi travmy i vremennoj perspektivy lichnosti. *Innovacionnaja nauka*. 2024; 1–2: 181–6. Russian.
9. Rudenko SV. Dinamika vremennoj perspektivy v uslovijah nestabil'noj voenno-politicheskoj situacii. *Vestnik Doneckogo nacional'nogo universiteta. Serija D: Filologija i psihologija*. 2023; 1: 99–106. Russian.
10. Janickij MS, Seryj AV, Balabashhuk RO. Hronotopicheskie harakteristiki obraza mira osuzhdennyh, nahodjashhihsja v mestah lishenija svobody. *Psihopedagogika v pravooxranitel'nyh organah*. 2022; 27 (3-90): 298–306. Russian.
11. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of psychiatric research*. 1975; 12 (3): 189–98. DOI:10.1016/0022-3956(75)90026-6.
12. Nikishina VB, Petrash EA, Kuznecova AA. Aprobacija metodiki sobytijnoj rekonstrukcii vremennoj perspektivy lichnosti. *Voprosy psihologii*. 2015; 2: 140–8. Russian.
13. Nikishina VB, Petrash EA. Struktura sobytijnogo prostranstva lichnosti na raznyh jetapah voznrastnogo razvitija. *Voprosy psihologii*. 2017; 3: 28–39. Russian.
14. Tarabrina NV, redaktor. *Psihologija posttravmaticheskogo stressa. Prakticheskoe rukovodstvo v 2 chastjah*. М., 2007. Russian.
15. Tarabrina NV. *Praktikum po psihologii posttravmaticheskogo stressa*. SPb.: Piter, 2001; 272 s. Russian.
16. Junackevich PI. *Osnovy psihologo-pedagogicheskoi diagnostiki i korekcii suicidal'nogo povedenija*. SPb.: VIKА im. Mozhajskogo, 1998; 160 s. Russian.
17. Keane NM, Caddell JM, Taylor KL. Mississippi Scale for Combat-Related ПТСР: Three Studies in Reliability and Validity. *J Consulting and Clinical Psychology*. 1988; 56 (1).

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ДИФФУЗИОННЫХ КАМЕР В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИМПЛАНТАЦИИ НА СОСУДИСТО-НЕРВНОМ ПУЧКЕ

Е. А. Марзоль , М. В. Дворниченко, Н. С. Митряйкин, Н. А. Апаршев

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Поликапролактон как материал при создании нанокomпозитных структур достаточно изучен с позиции терапевтического эффекта и безопасности применения. Однако его биосовместимость в виде объемных макрокамер-носителей остается предметом дискуссии ввиду изменения способа 3D-печати. Целью работы было определить биосовместимость диффузионной камеры из поликапролактона при ее имплантации на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы. Исследование проводили на половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животным группы 1 (экспериментальная, $n = 4$) проводили имплантацию диффузионной камеры из поликапролактона на бедренный сосудисто-нервный пучок. В группу 2 (контрольная, $n = 3$) вошли интактные крысы. В ходе макроскопической оценки не было выявлено патологических изменений на месте имплантации и в органах-мишенях. При микроскопии тканей не выявлено системной реакции, количество двуядерных гепатоцитов составило 1,05%. Показатели стромально-паренхиматозного отношения составили: печень — 1/33,20, надпочечники — 1/19,53, почки — 1/23,65, селезенка — 1/26,52. На 40-е сутки картина крови включала в себя повышение числа лимфоцитов на 4%, уменьшение сегментоядерных нейтрофилов на 17% и моноцитов на те же 17%. Эти результаты подтверждают безопасность использования диффузионной камеры из поликапролактона и ее биосовместимость при постановке на крупные сосудисто-нервные пучки, однако влияние продуктов биодegradации поликапролактона требует более широкого исследования при более длительных сроках биоинтеграции.

Ключевые слова: диффузионная камера, поликапролактон, биосовместимость, клеточные технологии, системная реакция, микрофлюидные технологии

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №23-25-00346.

Вклад авторов: Е. А. Марзоль, М. В. Дворниченко — разработка концепции и дизайна; Е. А. Марзоль, Н. А. Апаршев, Н. С. Митряйкин — анализ и интерпретация данных; Е. А. Марзоль, Н. С. Митряйкин, М. В. Дворниченко — обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания; М. В. Дворниченко — утверждение рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (протокол № ЦДИ-005 от 5 февраля 2022 г.). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей», с соблюдением правил и норм Европейского общества (86/609/EEC), Хельсинкской декларации и приказов Министерства здравоохранения СССР (№ 742 от 13.11.1984 и № 48 от 23.01.1985).

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Александровна Марзоль
ул. Карташова, 29б, кв. 78, г. Томск, 634 041; Katya4803@mail.ru

Статья получена: 27.06.2024 **Статья принята к печати:** 21.07.2024 **Опубликована онлайн:** 19.08.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.032

ESTIMATION OF DIFFUSION CHAMBER BIOCOMPATIBILITY IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF IMPLANTATION IN THE NEUROVASCULAR BUNDLE

Marzol EA , Dvornichenko MV, Mitryaikin NS, Aparshev NA

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Polycaprolactone as a material used when constructing nanocomposite structures is sufficiently studied in terms of therapeutic effect and safety of use. However, its biocompatibility in the form of three-dimensional carrier macrochambers is still a matter of debate due to changes in the way the 3D printing is done. The study was aimed to determine biocompatibility of the diffusion chamber made of polycaprolactone after implantation in the rat femoral neurovascular bundle. The study involved mature male Wistar rats. Animals of group 1 (experimental, $n = 4$) underwent implantation of the polycaprolactone diffusion chamber in the femoral neurovascular bundle. Group 2 (control, $n = 3$) included intact rats. Macroscopic assessment revealed no abnormalities at the site of implantation and in the target organs. Tissue microscopy revealed no systemic response; the number of binucleated hepatocytes was 1.05%. The stromal–parenchymal relationship values were as follows: liver — 1/33.20, adrenal glands — 1/19.53, kidney — 1/23.65, spleen — 1/26.52. On day 40, hemogram showed the increase in lymphocyte counts by 4%, the decrease in segmented neutrophil counts by 17% and monocyte counts by 17%. These findings confirm safety of using the polycaprolactone diffusion chamber and its biocompatibility when installed in the large neurovascular bundle. However, the effects of polycaprolactone degradation products require more extensive study over the longer periods of biointegration.

Keywords: diffusion chambers, polycaprolactone, biocompatibility, cell technologies, systemic reaction, microfluidic technologies

Funding: the study was supported by the RSF (research project No. 23-25-00346).

Author contribution: Marzol EA, Dvornichenko MV — developing concept and design; Marzol EA, Aparshev NA, Mitryaikin NS — data analysis and interpretation; Marzol EA, Mitryaikin NS, Dvornichenko MV — substantiation of manuscript or verification of critical intellectual content; Dvornichenko MV — final approval of manuscript before publishing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Siberian State Medical University (protocol No. CDI-005 dated 5 February 2022). Animals were handled in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council on the protection of animals used for scientific purposes dated 22 September 2010, rules and regulations of the European Community (86/609/EEC), Declaration of Helsinki, and orders of the Ministry of Health of the USSR (No. 742 dated 13 November 1984 and No. 48 dated 23 January 1985).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina A. Marzol
Kartashova, 29b, kv. 78, Tomsk, 634 041; Katya4803@mail.ru

Received: 27.06.2024 **Accepted:** 21.07.2024 **Published online:** 19.08.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.032

В современном тканевом моделировании используют материалы, обладающие наибольшей биосовместимостью при имплантации, к которым относятся поликапролактон, поливинилпирролидон, полигликолевая кислота и др. [1–2]. В этом ряду поликапролактон (PCL) — синтетический полимер из класса алифатических полиэфиров, синтезированный в начале 1930-х гг., является наиболее перспективным для биоинженерных конструкций [3]. Его особые физико-химические и механические свойства, вязкоупругость и простота формования привели к производству продуктов различной формы для биомедицинской сферы: от наложения швов до замены тканей и органов с помощью 3D-печати, в частности, изоляционных (диффузионных) камер для имплантации клеточного материала. В настоящее время нанокompозитные модификации и аддитивные технологии каркасных структур (скэффолдов) из поликапролактона для регенеративной медицины исследованы как с точки зрения терапевтической эффективности, так и с позиции безопасности применения [4]. Однако формирование из поликапролактона объемных, полых макрокамер-носителей клеточного материала (диффузионных камер), позволяющих в определенной степени изолировать ее содержимое от сред организма-реципиента и не теряющих при этом достаточных адгезивных свойств, требует модификации условий 3D-печати, что ведет к изменению плотности и архитектуры волокон материала, а, следовательно, изменяет его физико-химические свойства и степень биосовместимости [5–6]. Для PCL доказана низкая биорезорбция в противовес умеренной биодеградации, которые можно корректировать изменением объема формируемой структуры, поляризацией или дополнительным введением противовоспалительных цитокинов [7–8]. Параметры деградации PCL зависят от молекулярной массы, формы полимера и локализации имплантации, а именно от степени васкуляризации. В соответствии с этим возможна как полная элиминация продуктов до углекислого газа, капроновой кислоты и воды, так и распад до промежуточных кристаллов полимера, 6-гидроксикапроновой кислоты, аморфных коллоидов в составе эндосом макрофагов [9]. Исследования подобных конструкций большей частью проводят на уровне реакции инородного тела (FBR), учитывающей локальные изменения в тканях, морфологию иммунного ответа *in situ* и резорбтивный потенциал в течение малого промежутка времени, что отчасти позволяет экспоненциально оценивать сроки возможной имплантации, период полувыведения и возможные последствия для организма-носителя [1, 10–11]. Однако такой подход не позволяет с уверенностью говорить о том, что морфофункциональные изменения, включающие в себя повышение осмотического давления по отношению к окружающим тканям, сдвиг pH в кислую сторону, вялотекущее продуктивное воспаление и волновой окислительный стресс, связанный с неравномерным и аутокаталитическим отщеплением низкомолекулярных фрагментов, ограничиваются лишь локальным уровнем [12–14].

В условиях постановки диффузионной камеры на сосудисто-нервный пучок (СНП) важным критерием биорезорбции является прямой перенос кристаллов PCL и продуктов его распада макрофагами непосредственно в сосудистое русло [15–16], что в сочетании с физико-химическими свойствами материала может изменять как качественные характеристики сосуда, так и клеточный состав капсулы, вероятно, приводящие к более острому

окислительному стрессу для организма-реципиента на локальном (в области постановки конструкции) [17] и системном уровнях [18].

Таким образом, существует необходимость в исследовании влияния продуктов биодеградации поликапролактона и общего значения имплантации на локальном и системном морфофункциональных уровнях, что может быть достигнуто в условиях применения диффузионной камеры *in vivo* на бедренном СНП крысы [19].

Цель работы — определить биосовместимость диффузионной камеры из поликапролактона при ее имплантации на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диффузионная камера (ДК) была спроектирована при помощи программного обеспечения с открытым исходным кодом Blender и выполнена методом послойного наплавления нитей (FFF) из поликапролактона (Natural works Ingeo 40-43d NatureWorks LLC), полученных электроспиннингом, при помощи 3D-принтера CreatBot Duo (CreatBot 3D Printer; КНП). Камера состоит из двух частей, соединяющихся между собой защелками в полую капсулу с выемками в торцевых стенках (рис. 1), что позволяет фиксировать ее на СНП. Материал камеры представляет собой биоразлагаемый полиэфир (PCL 100%), разрешенный к медицинскому применению, с низкой температурой плавления (59–64 °С).

Стерилизацию ДК проводили в парах 100%-го этиленоксида при 37 °С в течение 9 ч в газовом стерилизаторе 3M Steri-Vac Sterilizer/Aerator (3M; США), согласно рекомендациям ГОСТ ISO 11135-2017.

В качестве экспериментальной модели использовали крыс линии Wistar массой 280–300 г, которых содержали в стандартных условиях вивария без проведения антибиотикотерапии на базе лаборатории биологических моделей Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Для эксперимента животные были разделены на две группы: в экспериментальную группу 1 ($n = 4$) вошли животные с имплантированными ДК на бедренный СНП; в контрольную группу 2 ($n = 3$) — интактные крысы. Имплантацию ДК экспериментальным

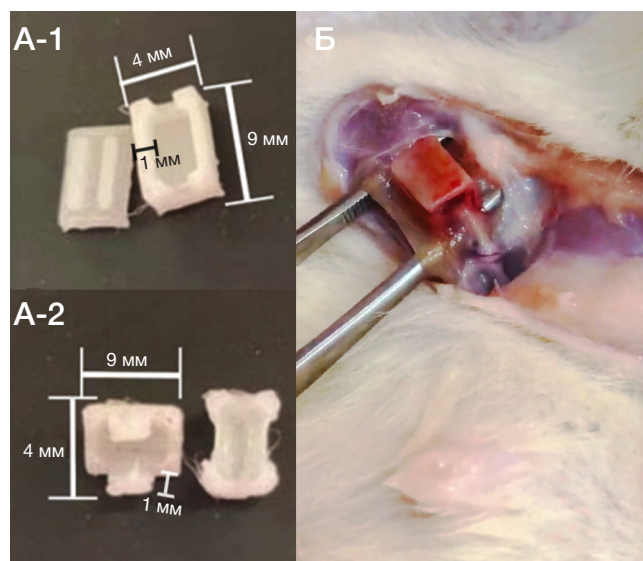


Рис. 1. А-1, А-2. Параметры экспериментальной модели ДК из PCL (длина — 9 мм, ширина — 4 мм, толщина — 1 мм). Б. Операционное поле области имплантации ДК (PCL)

Таблица 1. Макроскопические параметры биосовместимости диффузионных камер из поликапролактона при их имплантации на бедренный сосудисто-нервный пучок крысам линии Wistar

Группы исследования	Воспаление	Гиперемия места имплантации	Инкапсуляция камеры
Экспериментальная группа	0	1	1,5
$n = 4$	(0–0)	(1–1,5)	(1–1,5)
Контрольная группа	0	0	-
$n = 3$	(0–0)	(0–1)	

животным производили под изофлураном. За 15 мин до операции внутримышечно вводили атропин в дозировке 0,2 мг/кг для предотвращения интраоперационных осложнений. Оперативный доступ выполняли из разреза в 2–3 см в глубине паховой складки, в направлении внутрь от пульсации бедренной артерии (рис. 1).

Через 40 дней по окончании эксперимента животные были подвергнуты эвтаназии методом CO_2 -ингаляции. Макроскопическую (визуальную) оценку места имплантации проводили на 3, 7, 12 сутки, а также через 40 суток после начала эксперимента при некропии и оценивали по степени кровенаполнения сосудов, инкапсуляции и визуальных признаков воспалительной реакции (наличие гиперемии, отека, инфильтрата) в балловой системе, где 0 баллов означает отсутствие признака, 1 балл — слабая степень, 2 балла — умеренная степень.

В рамках исследования реактивной реакции организма реципиента проводили взятие мазка крови из хвостовой вены до имплантации и на 40-е сутки. Окрашивание мазков крови проводили по методике Романовского–Гимзы. Приготовление гистологических препаратов органов-мишеней — печени, селезенки, почки, надпочечников — после некропии осуществляли по стандартной методике с окрашиванием гематоксилином и эозином [20]. Микроскопию проводили на световом микроскопе Carl Zeiss Observer D1 (Carl Zeiss; Германия).

Морфометрия для оценки возможных реактивных изменений органов была проведена по изображениям, полученным цифровой камерой для световой микроскопии Zeiss AxioCam ICc5 (Carl Zeiss; Германия), и основывалась на стромально-паренхиматозном отношении: стромальные компоненты (сосуды, межлочечковая ткань, септальные участки, капсула)/паренхима, а также на определении процентного содержания двуядерных гепатоцитов на 100 клеток. Картину крови оценивали по лейкоцитарной формуле. Для расчета параметров оценивали 10 полей зрения в каждой группе. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0, IBM (TIBCO Software; США). Проверку статистических гипотез на характер распределения признака проводили при помощи критерия Шапиро–Уилка для малых ($n < 30$) выборок. При обработке полученных результатов использовали методы описательной и непараметрической статистики. Исследуемые параметры описывали как медиану (Me), 25% (Q_1) и 75% (Q_3) квартили. При сравнении независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни с медианным тестом, для парных сравнений использовали критерий Фридмана. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение периода экспериментального моделирования имплантации ДК на СНП поведение животных опытной группы, их внешнее состояние, волосяной покров не отличались от таковых у контрольной группы. Местных

постоперационных осложнений выявлено не было, подвижность оперируемой конечности была сохранена и не изменена.

Исследуемые параметры биосовместимости представлены в табл. 1.

Анатомо-топографическое состояние исследуемых внутренних органов животных (почек, надпочечников, селезенки, печени) экспериментальной группы не отличалось от контрольной группы.

При макроскопическом исследовании органов животных экспериментальной группы, по сравнению с органами животных контрольной группы, характерных новообразований и патологических изменений не было обнаружено (органы нормального цвета, с ровной поверхностью, интактны, не увеличены в размерах, отсутствуют признаки атрофии, фиброза, рубцевания, капсула сохранена, не утолщена).

Микроскопическое исследование печени крыс экспериментальной группы (рис. 2) показало: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула Глиссона, дольки правильной гексагональной формы, границы между дольками прослеживаются нечетко в связи с незрелостью соединительной ткани, структура триад сохранена. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении дольки состоят из радиально расположенных печеночных балок, представляющих собой анастомозирующие тяжи гепатоцитов. Между балками располагаются синусоидные капилляры печени, выстланные эндотелиальными клетками. В непосредственной близости от дольки определяется портальный тракт, состоящий из междольковой артерии, вены (диаметр вены в 3–4 раза больше диаметра артерии), желчного протока, выстланного однослойным кубическим эпителием с крупными темными округлыми ядрами и окруженного соединительнотканной оболочкой, и

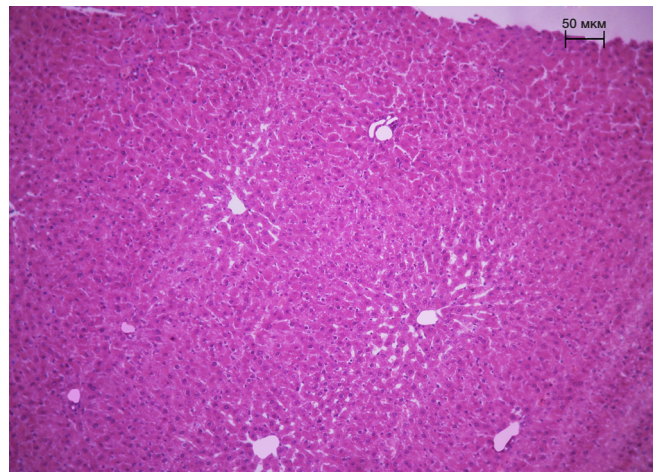


Рис. 2. Микроскопические срезы печени крыс линии Wistar экспериментальной группы (с имплантированными ДК из PCL). Гематоксилин–эозин; увеличение 10×

междолькового лимфатического сосуда. Гепатоциты чаще одноядерные, в них хорошо прослеживается базофильное ядро и гомогенная темно-красная цитоплазма. Относительное количество двуядерных гепатоцитов на 100 клеток в полях зрения составило 1,05% (1,02%; 1,11%), т. е. менее 10%.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, разрастания и признаков фиброза не обнаружено. Сосуды представлены центральными венами, расположенными в центре печеночных долек, поддольковыми венами со значительно большим просветом, собирательными венами, расположенными между дольками, портальным трактом (выявляются единичные лимфоциты, моноциты и гистиоциты), синусоидными капиллярами. Просвет одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Микроскопическое исследование надпочечников крыс экспериментальной группы (рис. 3) показало: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула, определяется граница между корковым и мозговым веществом. Корковое вещество состоит из клубочковой, пучковой и сетчатой зоны. Мозговое вещество содержало более темные и крупные клетки. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении клубочковая зона представлена небольшими мноморфными клетками с равномерно окрашенной оксифильной цитоплазмой и эксцентрично расположенным ядром, формирующими гроздевидные фигуры. Определяются единичные более крупные клетки с полиморфным ядром. Пучковая зона объемнее, корковое плато состоит из ветвящихся разнонаправленных синусоидов, между которыми расположены тяжи оксифильных вакуолизованных в большинстве случаев крупных клеток с гиперхромными ядрами. Граница между пучковой и сетчатой зонами определяется соединительнотканной прослойкой. Сетчатая зона представлена мелкими кровеносными сосудами, интенсивно окрашенными округлыми и угловатыми клетки с мелким гиперхромным ядром.

Мозговое вещество визуализируется сосудистой сетью, паренхиматозными крупными клетками, которые образуют плотные клеточные тяжи, ядро крупное и светлое, цитоплазма вакуолизованная, выявляется мелкоочечная гранулярность. Определяются широкие выносящие собирательные вены и синусоидные капилляры, которые окружены хромаффинными клетками с базофильной цитоплазмой.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, разрастания не обнаружено. Просвет сосудов одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Микроскопическое исследование селезенки крыс экспериментальной группы (рис. 4) показало: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула, от которой отходят нечетко выраженные перекладины-трабекулы, анастомозирующие между собой. Граница между белой и красной пульпой сохранена. Белая пульпа занимает 1/5 часть органа, распределена диффузно, в большей степени подкапсулярно. Красная пульпа занимает оставшуюся часть органа (без капсулы и трабекул), состоит из селезеночных капилляров и селезеночных тяжей. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении определяется состав оксифильной капсулы: мезотелий, плотная волокнистая

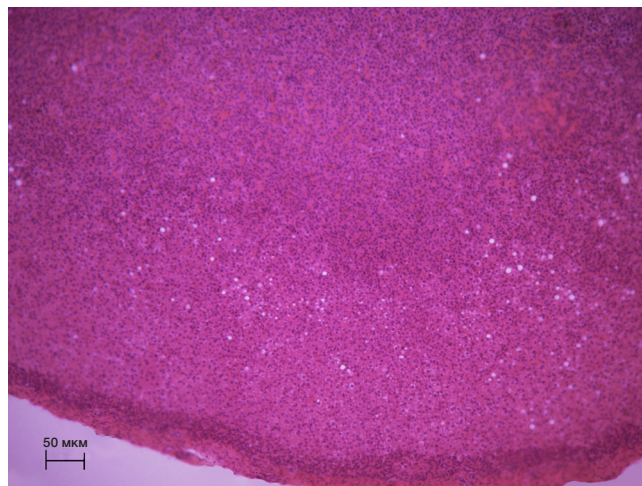


Рис. 3. Микроскопические срезы надпочечников крыс линии Wistar экспериментальной группы (с имплантированными ДК из PCL). Гематоксилин-эозин; увеличение 10х

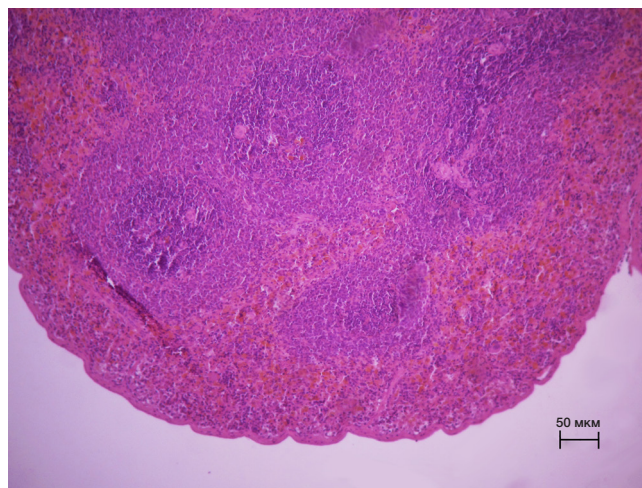


Рис. 4. Микроскопические срезы селезенки крыс линии Wistar экспериментальной группы (с имплантированными ДК из PCL). Гематоксилин-эозин; увеличение 10х

ткань и гладкие миоциты. Оксифильные трабекулы состоят из коллагеновых волокон и гладких миоцитов. Между трабекулами находится пульпа селезенки с основой из ретикулярной ткани. Белая пульпа селезенки представлена лимфоидной тканью из лимфатических узелков (скопления лимфоцитов) и лимфатических периартериальных влагалищ (состав: ретикулярные клетки, лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки), которые окружают артерии в области выхода из трабекулы. В короне лимфатических узелков определяются лимфоциты, макрофаги, ретикулярные клетки, а в герминативном центре — лимфоциты на разных стадиях пролиферации и дифференцировки, плазматические клетки, макрофаги. Вокруг периартериальной и реактивной областей располагается мантийная зона (скопление В-клеток памяти и проплазмоцитов). Маргинальная зона узелков окружена синусоидальными капиллярами. Основные компоненты красной пульпы — ретикулярная ткань с клетками крови (эритроцитами, зернистыми и незернистыми лейкоцитами) и синусоиды, анастомозирующие между собой.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, разрастания нет. Сосуды представлены трабекулярными венами, трабекулярными артериями, пульпарными артериями (вокруг которых скапливаются

Таблица 2. Данные лейкоцитарной крови до имплантации диффузионных камер из поликапролактона на бедренный сосудисто-нервный пучок крыс линии Wistar и на 40-е сутки после нее

	ЮН	ПЯН	СЯН	Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты
До имплантации ДК (PCL)	0%	3%	5%	0%	1%	9%	82%
	0	4%	11%	1%	0	6%	78%
	0	7%	5%	0	0	4%	84%
	0	5%	10%	0	0	8%	77%
	0	9%	14%	0	1%	8%	68%
	0	1%	14%	0	0	7%	78%
	0	3%	13%	0	1%	4%	79%
	0	1%	8%	1%	2%	6%	82%
	0	5%	18%	0	2%	6%	69%
	0	5%	12%	0	0	7%	76%
	0	5%	12%	1%	1%	6%	75%
На 40-е сутки	0	3%	5%	0	0	6%	86%
	0	1%	7%	0	2%	5%	85%
	0	8%	8%	0	0	4%	80%
	0	4%	10%	0	1%	3%	82%
	0	5%	9%	1%	1%	7%	77%
	0	4%	12%	0	0	6%	78%
	0	5%	13%	1%	0	5%	76%
	0	6%	9%	0	1%	3%	81%
	0	4%	12%	1%	0	6%	77%
	0	3%	11%	0	0	3%	83%
	0	2%	10%	0	1%	4%	83%

Т-лимфоциты), центральными артериями, находящимися эксцентрично на периферии фолликула, венозными синусами и капиллярами. Просвет одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Микроскопическое исследование почек крыс экспериментальной группы также определило типичное строение органа: на малом увеличении определяется неутолщенная фиброзная капсула, сохранена граница между корковым и мозговым веществом. Корковое вещество включает в себя почечные тельца, аппарат извитых канальцев, радиально сводящихся к мозговому веществу, состоящих из прямых канальцев. Патологических образований и изменений выявлено не было.

На большом увеличении почечное тельце представлено клубочком капилляров, неутолщенной наружной капсулой, париетальный и висцеральный листки которой плотно прилегают друг к другу, пространство Боуменовой капсулы практически не выявляется. На гистологическом срезе определяются проксимальные извитые канальцы, однослойный кубический эпителий которых имеет оксифильную окраску, базофильные ядра. Просветы этих канальцев неширокие, свободные. Дистальные канальцы с широким просветом выстланы призматическим эпителием с опалесцирующей цитоплазмой, кайма не определяется, в окружении выявляется плотное пятно. Мозговое вещество представлено прямыми канальцами и собирательными трубочками. Прямые канальцы с узким просветом представлены однослойным кубическим каемчатым эпителием. Собирательные трубочки со свободными просветами состоят из однослойного кубического эпителия более бледной оксифильной окраски, ядра расположены ближе к просвету. Патологических образований и изменений выявлено не было.

Интерстициальная ткань определяется, не инфильтрирована, занимает межтубулярное положение от паренхимы, разрастания нет. Сосуды представлены подкапсулярными венами, приносящими артериями, междольковыми артериями и венами в корковом веществе и дуговыми артериями и венами в мозговом. Просвет одинаков в видимом поле, стенки не изменены, клеточной инфильтрации и признаков транссудации нет.

Дескриптивная оценка морфометрического критерия стромально-паренхиматозного соотношения в контрольной группе животных в сравнении с экспериментальной не показала статистически значимых изменений. Исследуемый показатель при изучении гистологического препарата надпочечников показал следующие значения: контроль — 1/21,21 (1/21,27; 1/23,13), эксперимент — 1/19,53 (1/17,85; 1/20,56); при подсчете на микроскопических срезах печени крыс величина рассматриваемого критерия в контрольной группе была равна 1/33,85 (1/31,69; 1/39,05), а в экспериментальной — 1/33,20 (1/33,14; 1/34,67); значение исследуемого соотношения гистопрепаратов селезенки в группе контроля соответствовало 1/24,36 (1/20,58; 1/25,61), а группе эксперимента — 1/26,52 (1/24,39; 1/28,86); в свою очередь, морфометрический показатель гистологических срезов почек характеризовался следующими данными: контроль — 1/21,87 (1/17,33; 1/28,50), эксперимент — 1/23,65 (1/21,78; 1/26,93).

Подсчет лейкоцитарной формулы выявил следующие характеристики: до имплантации лимфоциты составили 78,00 (75,50; 80,50); моноциты — 6,00 (6,00; 7,50); количество сегментоядерных нейтрофилов — 12,00 (9,00; 13,50), что превышало количество палочкоядерных форм — 5,00 (3,00; 5,00); эозинофилы — 0,00 (0,00; 0,50) и базофилы — 1,00 (0,00; 1,00) были представлены в сравнительно небольшом количестве.

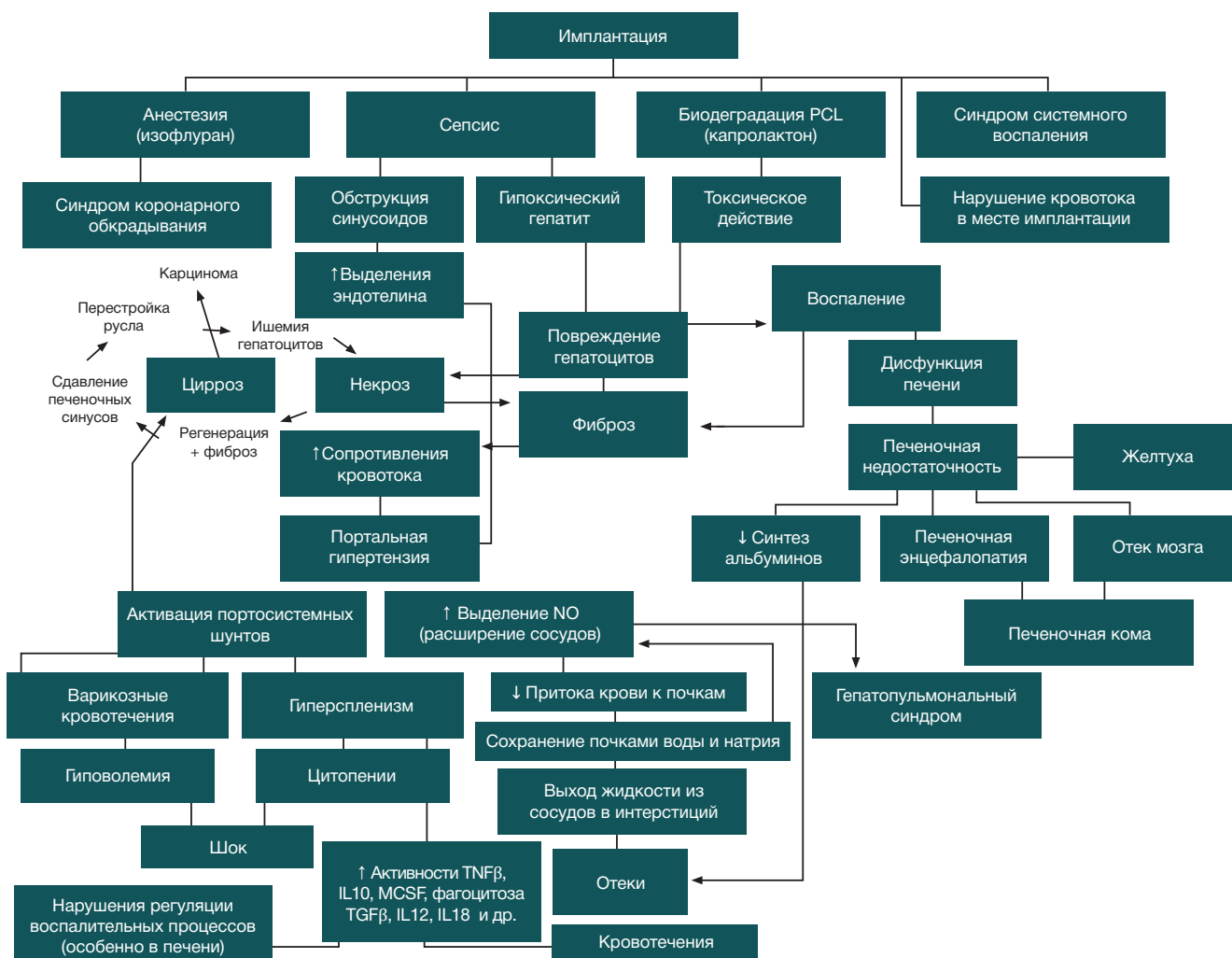


Рис. 5. Возможные патогенетические изменения печени и селезенки при имплантации ДК из PCL крысам линии Wistar [21–24]

После имплантации на 40-е сутки в лейкоцитарной формуле крыс отмечалось незначительно повышенное количество лимфоцитов до 81,00 (77,50; 83,00), незначимое снижение количества сегментоядерных нейтрофилов — 10,00 (8,50; 11,50), уменьшение процентного содержания моноцитов — 5,00 (3,50; 6,00) ($p < 0,05$).

Значения показателей гранулоцитов и агранулоцитов крови лабораторных животных до и после эксперимента отражены в табл. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрация макроскопических изменений возможна при резко выраженном влиянии камеры и ее продуктов деградации, что свидетельствует о быстроразвивающихся процессах адаптации к инородному телу [21]. Результаты макроскопической оценки (внешний вид, срез и капсула) органов-мишеней белых крыс, в которых возможно накопление продуктов деградации поликапролактона, в группе эксперимента не выявили видимых патологических изменений, что может свидетельствовать об отсутствии влияния ДК из PCL на структуру макропрепаратов.

Данные микроскопического анализа (характер строения и окраски основных гистологических структур, отсутствие патологических регенеративных и дегенеративных форм клеток) не позволили выявить изменения в гистоархитектонике органов. Гистопрепараты

экспериментальных групп лабораторных животных характеризуются типичным строением без возникновения альтеративных, дистрофических и некротических изменений.

Схемы возможных патогенетических изменений исследуемых органов (почек, печени, селезенки) вследствие имплантации ДК (PCL) крысам на бедренный СНП представлены на рис. 5 [21–24], 6 [21, 25].

Так, предполагаемый патогенез надпочечниковой ткани характеризуется септическим или токсическим (биодеградация PCL) повреждением ткани железы, патологическим увеличением выработки кортизола, увеличением выброса альдостерона в кровь независимо от ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, что происходит из-за гиперплазии надпочечниковой ткани и, в конечном счете, приводит к гипернатриемии, гипокалиемии, гипертонии и метаболическому ацидозу [21, 26–27].

Подсчет стромально-паренхиматозного соотношения исследуемых органов крыс линии Wistar при сравнении групп контроля и эксперимента верифицировал отсутствие увеличения соединительнотканного компонента и гипо- или гиперплазии клеточных структур основной ткани гистопрепаратов. Данный критерий является проспективным при оценке динамических состояний изменения морфологической структуры органа, причем его удобство заключается в универсальной характеристике состояния клеточного пула тканей, что значимо при цирротических изменениях печени, гипер- и гиподисфункции

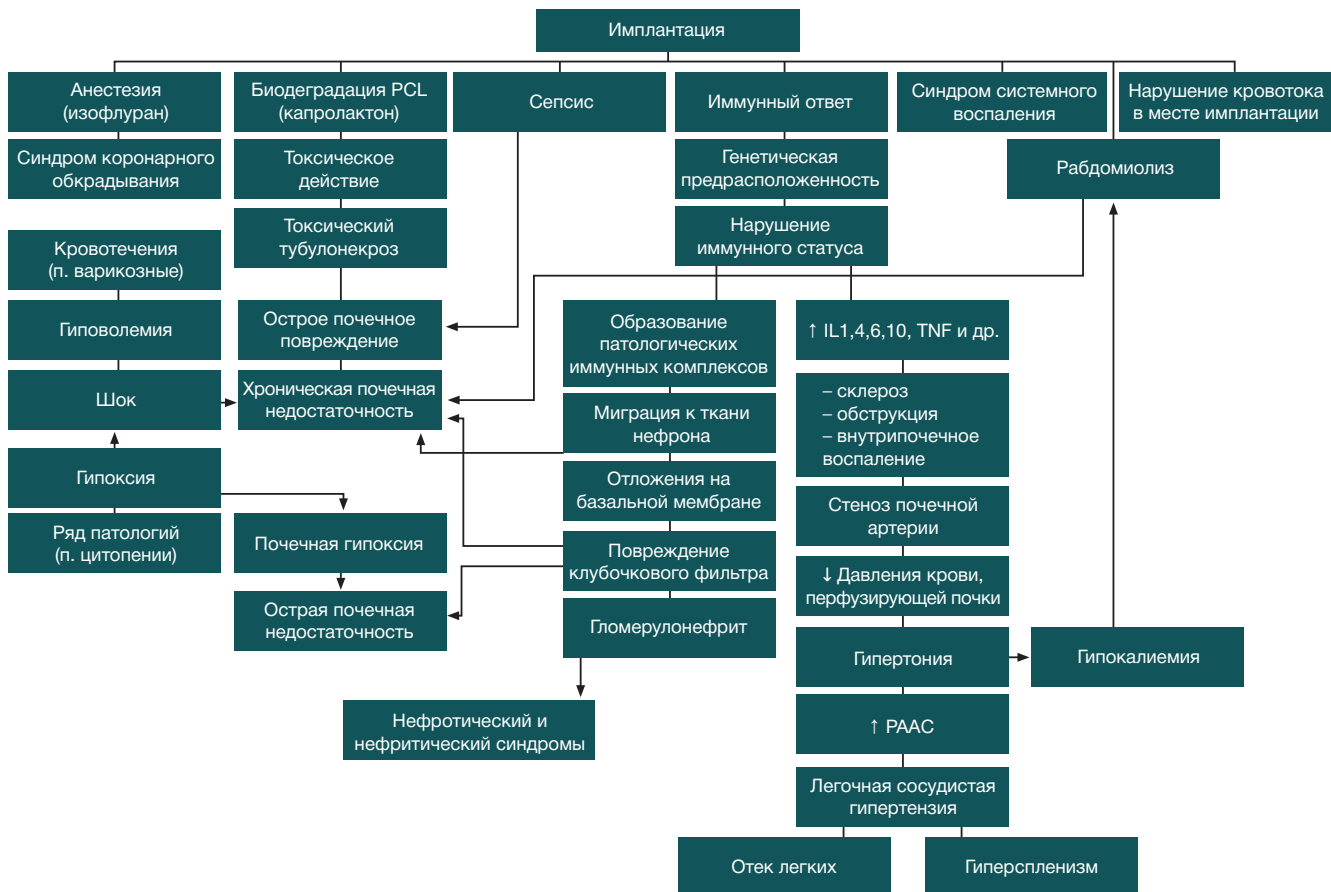


Рис. 6. Возможные патогенетические изменения почек при имплантации ДК из PCL крысам линии Wistar [21, 25]

как надпочечников, так и селезенки, а также при оценке дистрофических и атрофических изменений почечных канальцев и телец [28].

Увеличение количества двуядерных гепатоцитов верифицирует повреждение основной ткани печени, что указывает на связь степени токсичности материала с возможностями самообновления гепатоцитов в условиях будущей более длительной имплантации [28]. Полученные данные же указывают на отсутствие активных процессов регенеративной пролиферации клеток в паренхиме органа.

Системная воспалительная реакция оценивается путем определения содержания цитокинов [29] и лейкограммы периферической крови. Картина крови до имплантации и на 40-е сутки после нее характеризуется перераспределением функционально неравнозначных клеток в пределах физиологических норм [30].

Таким образом, исключается возможность возникновения системного вялотекущего хронического воспаления при имплантации ДК из PCL на бедренный СНП, что подтверждает использование подобных конструкций в областях реконструктивной хирургии (артериовенозные шунты, лоскуты) [16], онкологии (моделирование опухолевого процесса) [19] и эндокринологии (модель поджелудочной железы).

При этом стоит отметить, что дальнейшее исследование PCL необходимо проводить на молекулярном уровне с изучением влияния физических параметров камеры (размер пор, упругость (в том числе продольная)) на взаимодействие с микроокружением камеры (пролиферация фибробластов, рост эндотелиоцитов, возможный гиалиноз или кальциноз артерий как внутри камеры, так и на протяжении сосудов) и процесс

деградации материала: скорость, характер получаемых продуктов и основные пути обезвреживания и выведения из организма. Для большей чистоты эксперимента дальнейшая работа должна проводиться на животных SPF-статуса с более длительными сроками имплантации для уточнения возможного ремоделирования сосудов с учетом динамики кровотока, определения наиболее функциональных *vasa vasorum*, а также развития отсроченных постимплантационных осложнений (тромбообразование).

Выводы

По данным настоящего исследования, диффузионная камера из поликапролактона, поставленная на бедренный СНП, не оказала патологических влияний как на место имплантации, так и на органы-мишени. Макро- и микроскопическая структура органов лабораторных животных экспериментальной группы определялась нормальным строением без выявления патологических изменений: не обнаружено атипии, признаков воспаления или прогрессирующих дегенеративных изменений тканей. Подсчет стромально-паренхиматозного соотношения показал отсутствие патологических изменений регенеративного характера: признаков фиброза, избыточного ангиогенеза или экспансивного роста паренхимы.

Показатели лейкоцитарной формулы крови до эксперимента и на 40-е сутки после него свидетельствуют об отсутствии патологических системных изменений в организме лабораторных животных при имплантации диффузионных камер на бедренный СНП. Колебания при таких сроках не показали статистических отклонений

от доимплантационного периода, что свидетельствует о достаточной изоляции материала от внутренних сред организма.

Применение ДК (PCL) можно считать безопасной инженерной конструкцией при имплантации на крупные сосуды, в частности, бедренный СНП с позиции ее

биосовместимости. Важно отметить, что изучение влияния продуктов биодеградации поликапролактона до сих пор остается актуальным при выборе предмета научных исследований, что требует дальнейшего изучения системного влияния PCL при более длительных сроках биоинтеграции.

Литература

1. Abtahi S, Chen X, Shahabi S, Nasiri N. Resorbable membranes for guided bone regeneration: critical features, potentials, and limitations. *ACS Mater Au*. 2023; 3 (5): 394–417. PMID: 38089090; PMCID: PMC10510521.
2. Tan RP, Chan AHP, Wei S, Santos M, Lee BSL, Filipe EC, et al. Bioactive materials facilitating targeted local modulation of inflammation. *JACC Basic Transl Sci*. 2019; 4 (1): 56–71. PMID: 30847420; PMCID: PMC6390730.
3. Chen Tingting, Cai Tongjiang, Jin Qiao, Ji Jian. Design and fabrication of functional polycaprolactone. *E-Polymers*. 2015; 15 (1): 3–13.
4. Mkhabela Vuyiswa, Sinha Ray Suprakas. Poly(ϵ -caprolactone) nanocomposite scaffolds for tissue engineering: A brief overview. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2014; 14 (1): 535–45.
5. Liu Fengyuan, Vyas Cian, Poologasundarampillai Gowsihan, Pape Ian, Hinduja Srichand, Mirihanage Wajira, Bartolo Paulo. Structural evolution of PCL during melt extrusion 3D printing. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2017; 303 (2): 1700494.
6. Лебедева А. И., Мараева Е. В. Основные тенденции создания композитных 3d-скаффолдов на основе поликапролактона и гидроксиапатита. *Наука настоящего и будущего*. 2021; (1): 98–101.
7. Казанцева Е. А. Конструирование и оценка эффективности систем контролируемой доставки сельскохозяйственных препаратов различного действия [диссертация]. Красноярск, 2018.
8. Хоменюк С. В. Морфология регенераторных процессов при имплантации коллагенового материала с адсорбированными мультипотентными стромальными клетками [диссертация]. Новосибирск, 2023.
9. Emily Archer, Marissa Torretti, Samy Madbouly. Biodegradable polycaprolactone (PCL) based polymer and composites. *Physical Sciences Reviews*. 2021; (8): 4391–414. Available from: <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0074>.
10. Xiang Z, Guan X, Ma Z, Shi Q, Panteleev M, Ataullakhanov FI. Bioactive engineered scaffolds based on PCL-PEG-PCL and tumor cell-derived exosomes to minimize the foreign body reaction. *Biomater Biosyst*. 2022; 6 (7): 100055. DOI: 10.1016/j.bbiosy.2022.100055. PMID: 36824486; PMCID: PMC9934494.
11. Luo L, He Y, Chang Q, Xie G, Zhan W, Wang X, et al. Polycaprolactone nanofibrous mesh reduces foreign body reaction and induces adipose flap expansion in tissue engineering chamber. *Int J Nanomedicine*. 2016; 12 (11): 6471–83. DOI: 10.2147/IJN.S114295. PMID: 27980405; PMCID: PMC5147407.
12. Fairag R, Li L, Ramirez-GarciaLuna JL, Taylor MS, Gaerke B, Weber MH, et al. A composite lactide-mineral 3D-printed scaffold for bone repair and regeneration. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 7 (9): 654518. DOI: 10.3389/fcell.2021.654518. PMID: 34307346; PMCID: PMC8299729.
13. Prabhath A, Vernekar VN, Vasu V, Badon M, Avochinou JE, Asandei AD, et al. Kinetic degradation and biocompatibility evaluation of polycaprolactone-based biologics delivery matrices for regenerative engineering of the rotator cuff. *J Biomed Mater Res A*. 2021; 109 (11): 2137–53. DOI: 10.1002/jbm.a.37200. Epub 2021 May 11. PMID: 33974735; PMCID: PMC8440380.
14. Duda S, Dreyer L, Behrens P, Wienecke S, Chakradeo T, Glasmacher B, et al. Outer electrospun polycaprolactone shell induces massive foreign body reaction and impairs axonal regeneration through 3D multichannel chitosan nerve guides. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 835269. DOI: 10.1155/2014/835269. Epub 2014 Apr 9. PMID: 24818158; PMCID: PMC4000981.
15. Берещенко В. В., Надыров Э. А., Лызилов А. Н., Петренёв Д. Р., Кондрачук А. Н. Тканевые реакции подкожной клетчатки в ответ на имплантацию полипропиленового эндопротеза, модифицированного раствором поликапролактона методом электроспиннинга. *Проблемы здоровья и экологии*. 2020; 1: 65–71.
16. Цыганков Ю. М., Сергеев А. А., Жоржколиани Ш. Т., Шепелев А. Д., Крашенинников С. В., Тенчури Т. Х. и др. Влияние биомеханической совместимости и тромбогенности нового синтетического сосудистого протеза на его интеграцию в артериальное русло (экспериментальное исследование). *Науки о жизни*. 2021; (500): 466–9. DOI: 10.31857/S2686738921050309.
17. Мишанин А. И., Панина А. Н., Большасов Е. Н., Твердохлебов С. И., Головкин А. С. Биосовместимость скаффолдов из смесей и сополимеров поликапролактона и полимолочной кислоты в тестах с мезенхимальными стволовыми клетками. *Трансляционная медицина*. 2021; 8 (5): 38–49. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5-38-49.
18. Pankajakshan D, Krishnan VK, Krishnan LK. Vascular tissue generation in response to signaling molecules integrated with a novel poly(ϵ -caprolactone)-fibrin hybrid scaffold. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007; 1 (5): 389–97. DOI: 10.1002/term.48. PMID: 18038433.
19. Иванов А. Н., Чибрикова Ю. А., Савельева М. С., Рогожина А. С., Норкин И. А. Оценка биосовместимости поликапролактоновых скаффолдов, обеспечивающих адресную доставку щелочной фосфатазы. *Цитология*. 2020; 62 (12): 903–12. DOI 10.31857/S0041377120120032.
20. Богданов Л. А., Кутихин А. Г. Оптимизация окрашивания элементов системы кровообращения и гелатолиальной системы гематоксилином и эозином. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019; 4 (4): 70–77.
21. Новицкий В. В., Уразова О. И. Патофизиология. М.: Изд-во «ГЭОТАР-Медиа», 2022; Т. 2: 592 с.
22. Chunpeng Nie Yan Yu. Cirrhosis: pathogenesis and complications, 2022. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/cirrhosis-pathogenesis-and-complications/>.
23. Yunfu Lv, Wan Yee Lau, Yejuan Li, Jie Deng, Xiaoyu Han, Xiaoguang Gong, et al. Hypersplenism: History and current status. *Exp Ther Med*. 2016; 12 (4): 2377–82. DOI: 10.3892/etm.2016.3683.
24. Yasuko Iwakiri. Pathophysiology of portal hypertension. *Clin Liver Dis*. 2014; 18 (2): 281–91. DOI: 10.1016/j.cld.2013.12.001.
25. Dane Richard, Robin Bessemer. Nephritic syndrome: pathogenesis and clinical finding, 2016. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/nephritic-syndrome-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
26. Kyle Moxham. Primary aldosteronism: pathogenesis and clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/primary-aldosteronism-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
27. Samin Dolatabadi, Yan Yu. Hypercortisolemia (Cushing's syndrome): clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/hypercortisolemia-cushings-syndrome-clinical-findings/>.
28. Tan L, Xu X, Song J, Luo F, Qian Z. Synthesis, characterization, and acute oral toxicity evaluation of pH-sensitive hydrogel based on MPEG, poly(ϵ -caprolactone), and itaconic acid. *Biomed Res*

- Int. 2013; 2013: 239838. DOI: 10.1155/2013/239838. Epub 2013 Nov 30. PMID: 24364030; PMCID: PMC3864077.
29. Галашина Е. А., Чибрикова Ю. А., Иванов А. Н., Гладкова Е. В., Норкин И. А. Биохимические параметры интенсивности системной воспалительной реакции в оценке биосовместимости скаффолдов на основе поликапролактона и ватерита. Вестник медицинского института «Реавиз». 2020; 2: 98–103.
 30. Косякова Г. П., Муслимов А. А., Лысенко А. И. Взаимодействие иммунной и нервной систем при применении PCI-скаффолдов в челюстно-лицевой хирургии. Медицинский академический журнал. 2019; 19 (1): 82–84.
- ### References
1. Abtahi S, Chen X, Shahabi S, Nasiri N. Resorbable membranes for guided bone regeneration: critical features, potentials, and limitations. *ACS Mater Au*. 2023; 3 (5): 394–417. PMID: 38089090; PMCID: PMC10510521.
 2. Tan RP, Chan AHP, Wei S, Santos M, Lee BSL, Filipe EC, et al. Bioactive materials facilitating targeted local modulation of inflammation. *JACC Basic Transl Sci*. 2019; 4 (1): 56–71. PMID: 30847420; PMCID: PMC6390730.
 3. Chen Tingting, Cai Tongjiang, Jin Qiao, Ji Jian. Design and fabrication of functional polycaprolactone. *E-Polymers*. 2015; 15 (1): 3–13.
 4. Mkhabela Vuyiswa, Sinha Ray Suprakas. Poly(ε-caprolactone) nanocomposite scaffolds for tissue engineering: A brief overview. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2014; 14 (1): 535–45.
 5. Liu Fengyuan, Vyas Cian, Poologasundarampillai Gowsihan, Pape Ian, Hinduja Srichand, Mirihanage Wajira, Bartolo Paulo. Structural evolution of PCL during melt extrusion 3D printing. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2017; 303 (2): 1700494.
 6. Lebedeva AI, Maraeva EV. Osnovnye tendencii sozdaniya kompozitnyh 3d-skaffoldov na osnove polikaprolaktona i gidroksiapatita. *Nauka nastojashhego i budushhego*. 2021; (1): 98–101. Russian.
 7. Kazanceva EA. Konstruirovaniye i ocenka jeffektivnosti sistem kontrolirovannoy dostavki sel'skokozyajstvennyh preparatov razlichnogo dejstvija [dissertacija]. Krasnojarsk, 2018. Russian.
 8. Homenjuk S. V. Morfologiya regeneratornyh processov pri implantacii kollagenovogo materiala s adsorbirovannymi mul'tipotentnymi stromal'nymi kletkami [dissertacija]. Novosibirsk, 2023. Russian.
 9. Emily Archer, Marissa Torretti, Samy Madbouly. Biodegradable polycaprolactone (PCL) based polymer and composites. *Physical Sciences Reviews*. 2021; (8): 4391–414. Available from: <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0074>.
 10. Xiang Z, Guan X, Ma Z, Shi Q, Pantelev M, Ataullakhanov FI. Bioactive engineered scaffolds based on PCL-PEG-PCL and tumor cell-derived exosomes to minimize the foreign body reaction. *Biomater Biosyst*. 2022; 6 (7): 100055. DOI: 10.1016/j.bbiosy.2022.100055. PMID: 36824486; PMCID: PMC9934494.
 11. Luo L, He Y, Chang Q, Xie G, Zhan W, Wang X, et al. Polycaprolactone nanofibrous mesh reduces foreign body reaction and induces adipose flap expansion in tissue engineering chamber. *Int J Nanomedicine*. 2016; 12 (11): 6471–83. DOI: 10.2147/IJN.S114295. PMID: 27980405; PMCID: PMC5147407.
 12. Fairag R, Li L, Ramirez-Garcia Luna JL, Taylor MS, Gaerke B, Weber MH, et al. A composite lactide-mineral 3D-printed scaffold for bone repair and regeneration. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 7 (9): 654518. DOI: 10.3389/fcell.2021.654518. PMID: 34307346; PMCID: PMC8299729.
 13. Prabhath A, Vernekar VN, Vasu V, Badon M, Avochinou JE, Asandei AD, et al. Kinetic degradation and biocompatibility evaluation of polycaprolactone-based biologics delivery matrices for regenerative engineering of the rotator cuff. *J Biomed Mater Res A*. 2021; 109 (11): 2137–53. DOI: 10.1002/jbm.a.37200. Epub 2021 May 11. PMID: 33974735; PMCID: PMC8440380.
 14. Duda S, Dreyer L, Behrens P, Wienecke S, Chakradeo T, Glasmacher B, et al. Outer electrospun polycaprolactone shell induces massive foreign body reaction and impairs axonal regeneration through 3D multichannel chitosan nerve guides. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 835269. DOI: 10.1155/2014/835269. Epub 2014 Apr 9. PMID: 24818158; PMCID: PMC4000981.
 15. Bereshhenko VV, Nadyrov JeA, Lyzikov AN, Petrenjov DR, Kondrachuk AN. Tkanevyje reakcii podkozhnoj kletchatki v otvet na implantaciju polipropilenvovogo jendoproteza, modifirovannogo rastvorom polikaprolaktona metodom jelektrospinninga. *Problemy zdorov'ja i jekologii*. 2020; 1: 65–71. Russian.
 16. Cygankov JuM, Sergeev AA, Zhorzholiani ShT, Shepelev AD, Krashennikov SV, Tenchurin TH, i dr. Vlijanie biomechanicheskoy sovmestimosti i trombogennosti novogo sinteticheskogo sosudistogo proteza na ego integraciju v arterial'noe ruslo (jeksperimental'noe issledovanie). *Nauki o zhizni*. 2021; (500): 466–9. DOI: 10.31857/S2686738921050309. Russian.
 17. Mishanin AI, Panina AN, Bol'basov EN, Tverdohlebov SI, Golovkin AS. Biosovmestimost' skaffoldov iz smesej i sopolimerov polikaprolaktona i polimolochnoj kisloty v testah s mezenhimal'nymi stvolovymi kletkami. *Translacionnaja medicina*. 2021; 8 (5): 38–49. DOI: 10.18705/2311-4495-2021-8-5-38-49. Russian.
 18. Pankajakshan D, Krishnan VK, Krishnan LK. Vascular tissue generation in response to signaling molecules integrated with a novel poly(epsilon-caprolactone)-fibrin hybrid scaffold. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007; 1 (5): 389–97. DOI: 10.1002/term.48. PMID: 18038433.
 19. Ivanov AN, Chibrikova JuA, Saveleva MS, Rogozhina AS, Norkin IA. Ocenka biosovmestimosti polikaprolaktonovyh skaffoldov, obespechivajushhih adresnuju dostavku shhelochnoj fosfatazy. *Citologija*. 2020; 62 (12): 903–12. DOI: 10.31857/S0041377120120032. Russian.
 20. Bogdanov LA, Kutihin AG. Optimizacija okrashivaniya jelementov sistemy krovoobrashhenija i gepatolienal'noj sistemy gematoksilinom i jeozinom. *Fundamental'naja i klinicheskaja medicina*. 2019; 4 (4): 70–77. Russian.
 21. Novickij VV, Urazova OI. Patofizilogija. M.: Izd-vo «GJeOTAR-Media», 2022; T. 2: 592 s. Russian.
 22. Chunpeng Nie Yan Yu. Cirrhosis: pathogenesis and complications, 2022. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/cirrhosis-pathogenesis-and-complications/>.
 23. Yunfu Lv, Wan Yee Lau, Yejuan Li, Jie Deng, Xiaoyu Han, Xiaoguang Gong, et al. Hypersplenism: History and current status. *Exp Ther Med*. 2016; 12 (4): 2377–82. DOI: 10.3892/etm.2016.3683.
 24. Yasuko Iwakiri. Pathophysiology of portal hypertension. *Clin Liver Dis*. 2014; 18 (2): 281–91. DOI: 10.1016/j.cld.2013.12.001.
 25. Dane Richard, Robin Bessemer. Nephritic syndrome: pathogenesis and clinical finding, 2016. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 22]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/nephritic-syndrome-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
 26. Kyle Moxham. Primary aldosteronism: pathogenesis and clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/primary-aldosteronism-pathogenesis-and-clinical-findings/>.
 27. Samin Dolatabadi, Yan Yu. Hypercortisolemia (Cushing's syndrome): clinical findings, 2021. Calgary: The Calgary guide to understanding disease; c2024 [cited 2024 March 23]. Available from: <https://calgaryguide.ucalgary.ca/hypercortisolemia-cushings-syndrome-clinical-findings/>.
 28. Tan L, Xu X, Song J, Luo F, Qian Z. Synthesis, characterization, and acute oral toxicity evaluation of pH-sensitive hydrogel based on MPEG, poly(ε-caprolactone), and itaconic acid. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 239838. DOI: 10.1155/2013/239838. Epub 2013 Nov 30. PMID: 24364030; PMCID: PMC3864077.
 29. Galashina EA, Chibrikova JuA, Ivanov AN, Gladkova EV, Norkin IA. Biohimicheskie parametry intensivnosti sistemnoj vospalitel'noj reakcii v ocenke biosovmestimosti skaffoldov na osnove polikaprolaktona i vaterita. *Vestnik medicinskogo instituta «Reaviz»*. 2020; 2: 98–103. Russian.
 30. Kosjakova GP, Muslimov AA, Lysenko AI. Vzaimodejstvie immunnoj i nervnoj sistem pri primenenii PCI-skaffoldov v cheljuzhno-licevoj hirurгии. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*. 2019; 19 (1): 82–84. Russian.