

МЕДИЦИНА ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СИТУАЦИЙ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ ФМБА РОССИИ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР Вероника Скворцова, д. м. н., профессор, член-корр. РАН

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА Игорь Берзин, д. м. н., профессор;

Дарья Крючко, д. м. н., доцент

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ Всеволод Белоусов, д. б. н., профессор, член-корр. РАН;

Антон Кескинов, к. м. н.

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР Евгений Лукьянов

ПЕРЕВОДЧИКИ Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

ДИЗАЙН И ВЕРСТКА Марины Дорониной

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В. К. Агапов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. В. Богомолов, д. т. н., профессор (Москва, Россия)

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

В. Н. Болехан, д. м. н., доцент (Москва, Россия)

И. В. Борисевич, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. Ю. Бушманов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Р. Валента, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

С. Э. Восканян, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

Н. А. Дайхес, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

С. В. Дударенко, д. м. н., доцент (Санкт-Петербург, Россия)

К. А. Зыков, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

Л. А. Ильин, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

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

Р. Р. Каспранский, к. м. н. (Москва, Россия)

М. А. Лагарькова, д. б. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

Ю. В. Лобзин, д. м. н., профессор, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)

В. В. Никифоров, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. Н. Олесова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Р. В. Петров, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

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

А. С. Радилов, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

В. Л. Рейнюк, д. м. н., доцент (Москва, Россия)

В. Р. Рембовский, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

А. С. Самойлов, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

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

В. И. Сергиенко, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

С. В. Сидоркевич, д. м. н. (Москва, Россия)

К. К. Стяжкин, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

А. В. Троицкий, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. Н. Усков, д. м. н., доцент (Санкт-Петербург, Россия)

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

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

С. М. Юдин, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А. В. Аклев, д. м. н., профессор (Челябинск, Россия)

С. А. Аракелов, к. б. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

В. П. Баклаушев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

М. О. Дегтева, к. т. н. (Челябинск, Россия)

Н. В. Ефименко, д. м. н., профессор (Пятигорск, Россия)

Е. В. Казакевич, д. м. н., профессор (Архангельск, Россия)

В. П. Катунцев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. А. Климанов, д. ф.-м. н., профессор (Москва, Россия)

Д. В. Клинов, к. ф.-м. н. (Москва, Россия)

Н. А. Кошурникова, д. м. н., профессор (Озерск, Россия)

И. П. Миннуллин, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

И. Г. Мосягин, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

О. М. Панасенко, д. б. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

В. А. Рогожников, д. м. н. (Москва, Россия)

С. А. Романов, к. б. н. (Озерск, Россия)

С. А. Сотниченко, д. м. н. (Владивосток, Россия)

Т. Г. Суранова, к. м. н., доцент (Москва, Россия)

Р. М. Тахауов, д. м. н., профессор (Северск, Россия)

Н. К. Шандала, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

С. М. Шинкарев, д. т. н. (Москва, Россия)

Г. А. Шипулин, к. м. н. (Москва, Россия)

Т. В. Яковлева, д. м. н. (Москва, Россия)

ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ editor@fmba.press

ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ editor@fmba.press

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@fmba.press

АДРЕС РЕДАКЦИИ Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 1, г. Москва, 123182, Россия

Журнал включен в Scopus в 2022 г.

Журнал включен в РИНЦ, IF 2018: 0,570

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 1292)

Здесь находится открытый архив журнала



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)



DOI выпуска: 10.47183/mes.2024-02

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № ФС77-25124 от 27 июля 2006 года

Учредитель и издатель: Федеральное медико-биологическое агентство fmba.gov.ru

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International www.creativecommons.org



Подписано в печать 30.06.2024

Тираж 500 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula
www.print-formula.ru

EXTREME MEDICINE

SCIENTIFIC AND PRACTICAL REVIEWED JOURNAL OF FMBA OF RUSSIA

EDITOR-IN-CHIEF Veronika Skvortsova, DSc, professor, RAS corresponding member

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF Igor Berzin, DSc, professor;

Daria Kryuchko, DSc

EDITORS Vsevolod Belousov, DSc, professor, RAS corresponding member;

Anton Keskinov, PhD

TECHNICAL EDITOR Evgeny Lukyanov

TRANSLATORS Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

DESIGN AND LAYOUT Marina Doronina

EDITORIAL BOARD

Agapov VK, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bogomolov AV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Boyko AN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bolekhan WN, DSc, docent (Moscow, Russia)
Borisevich IV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bushmanov AY, DSc, professor (Moscow, Russia)
Valenta R, PhD, professor (Moscow, Russia)
Voskanyan S, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Daikhes NA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Dudarenko SV, DSc (Saint-Petersburg, Russia)
Zykov KA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Ilyin LA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Karkischenko NN, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Kaspranskiy RR, PhD (Moscow, Russia)
Lagarkova MA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Lobzin YV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Nikiforov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Olesova VN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Petrov RV, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Polyaev BA, DSc (Moscow, Russia)
Sadilov AS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Rejniuk VL, DSc, docent (Moscow, Russia)
Rembovsky VR, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Samoilov AS, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Sergienko VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Sidorenko SV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Sidorkevich SV, DSc (Moscow, Russia)
Styazhkin KK, DSc, professor (Moscow, Russia)
Troitsky AV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Uskov AN, DSc, docent (Saint-Petersburg, Russia)
Ushakov IB, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Khaitov MR, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Yudin SM, DSc, professor (Moscow, Russia)

ADVISORY BOARD

Akleev AV, DSc, professor (Chelyabinsk, Russia)
Arakelov SA, PhD, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Baklaushev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)
Degteva MO, PhD (Chelyabinsk, Russia)
Efimenko NV, DSc, professor (Pyatigorsk, Russia)
Kazakevich EV, DSc, professor (Arkhangelsk, Russia)
Katuntsev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)
Klimanov VA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Klinov DV, PhD (Moscow, Russia)
Koshurnikova NA, DSc, professor (Ozersk, Russia)
Minnullin IP, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Mosyagin IG, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Panasenko OM, DSc, member of RAS, professor (Moscow, Russia)
Rogozhnikov VA, DSc, (Moscow, Russia)
Romanov SA, PhD (Ozersk, Russia)
Sotnichenko SA, DSc (Vladivostok, Russia)
Suranova TG, PhD, docent (Moscow, Russia)
Takhauov RM, DSc, professor (Seversk, Russia)
Shandala NK, DSc, professor (Moscow, Russia)
Shinkarev SM, DSc (Moscow, Russia)
Shipulin GA, PhD (Moscow, Russia)
Yakovleva TV, DSc (Moscow, Russia)

SUBMISSION editor@fmba.press

CORRESPONDENCE editor@fmba.press

COLLABORATION manager@fmba.press

ADDRESS Volokolamskoe shosse, 30, str. 1, Moscow, 123182, Russia

Indexed in Scopus in 2022

Indexed in RSCI. IF 2018: 0,570

Listed in HAC 31.01.2020 (№ 1292)

Open access to archive

Scopus®

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ
БИБЛИОТЕКА
LIBRARY.RU



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

Issue DOI: 10.47183/mes.2024-02

The mass media registration certificate № 25124 issued on July 27, 2006

Founder and publisher: Federal medical-biological agency fmba.gov.ru

The journal is distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License www.creativecommons.org



Approved for print 30.06.2024

Circulation: 500 copies. Printed by Print.Formula
www.print-formula.ru

Содержание

Contents

ОБЗОР	5
Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки: перспективы применения для лечения травм, полученных на Крайнем Севере М. В. Волкова, П. С. Ерёмин, П. А. Марков	
Multipotent mesenchymal stem cells: prospects for use in the treatment of injuries sustained in the Far North Volkova MV, Eremin PS, Markov PA	
ОБЗОР	13
Морфологические характеристики токсического поражения головного мозга О. Н. Гайкова, А. А. Козлов, Г. Г. Катрецкая, М. В. Мельникова, А. С. Мелехова, А. А. Бондаренко, Ю. О. Соколова, Е. Д. Бажанова	
Morphological characteristics of toxic brain damage Gaikova ON, Kozlov AA, Katretskaya GG, Melnikova MV, Melekhova AS, Bondarenko AA, Sokolova YuO, Bazhanova ED	
ОБЗОР	20
Структурные и функциональные изменения в головном мозге космонавтов под влиянием микрогравитации К. В. Латарцев, П. Н. Демина, В. А. Яшина, Р. Р. Каспранский	
Structural and functional changes in the brain of cosmonauts under the influence of microgravity Latartsev KV, Demina PN, Yashina VA, Kaspranskiy RR	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	27
Влияние внутрижелудочного введения гидрокарбоната натрия или соляной кислоты на кишечную эндотоксемию у крыс при миелоабляции циклофосфамидом О. А. Вакуненкова, Е. А. Золотоверхая, Т. Б. Печурина, Т. В. Шефер, Ю. Ю. Ивницкий	
Effect of sodium bicarbonate or hydrochloric acid intragastric administration on gut-derived endotoxemia in rats receiving cyclophosphamide myeloablative conditioning Vakunenkova OA, Zolotoverkhaya EA, Pechurina TB, Schäfer TV, Ivniyskiy JuuJ	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	33
Сравнительная оценка токсического отека легких, вызванного интоксикацией карбонилхлоридом и продуктами термического разложения фторопласта Д. М. Ярошенко, В. С. Лопатько, П. Г. Толкач, Н. Г. Венгерович, В. А. Башарин	
Comparative assessment of toxic pulmonary edema caused by poisoning with carbonyl chloride and fluoroplastic thermal degradation products Yaroshenko DM, Lopat'ko VS, Tolkach PG, Vengerovich NG, Basharin VA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	38
Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга десятилетнего ребенка от инкорпорированных бета-излучателей П. А. Шарагин, Е. И. Толстых, Е. А. Шишкина	
Computational phantom for the dosimetry of the red bone marrow of a 10-year-old child due to incorporated beta-emitters Sharagin PA, Tolstykh EI, Shishkina EA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	49
Влияние полиморфизма в генах антиоксидантов на риск развития злокачественных новообразований у облученных людей Е. А. Блинова, А. В. Кореченкова, М. А. Янишевская, А. В. Аклеев	
The impact of polymorphisms in antioxidant genes on the risk of malignant neoplasm development in exposed individuals Blinova EA, Korechenkova AV, Yanishevskaya MA, Akleyev AV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	56
Влияние хронического облучения на показатели цитогенетических маркеров старения у жителей прибрежных сел реки Теча Ю. Р. Ахмадуллина, А. В. Возилова, Я. В. Кривошчапова	
The effect of chronic exposure on the parameters of cytogenetic markers of senescence in the residents of the Techa riverside settlements Akhmadullina YuR, Vozilova AV, Krivoschchapova YV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	67
Оценка противорадиационной эффективности лечебного средства на основе <i>Staphylococcus aureus</i> Т. Р. Гайнутдинов, С. А. Рыжкин, Р. Ф. Шавалиев, К. Н. Вагин, Я. М. Курбангалеев, Ф. Х. Калимуллин, Э. М. Плотникова, А. М. Идрисов, С. Е. Охрименко, Е. Н. Майорова	
Evaluation of anti-radiation efficacy of the <i>Staphylococcus aureus</i>-derived therapeutic agent Gaynutdinov TR, Ryzhkin SA, Shavaliyev RF, Vagin KN, Kurbangaleev YaM, Kalimullin FH, Plotnikova EM, Idrisov AM, Ohrimenko SE, Mayorova EN	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	76
Вторичный гиперпаратиреоз на фоне дефицита витамина D у юных высококвалифицированных спортсменов Е. П. Исаева, П. Л. Окороков, И. В. Зябкин	
Secondary hyperparathyroidism associated with vitamin D deficiency in young highly trained athletes Isaeva EP, Okorokov PL, Zyabkin IV	

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	83
<hr/>	
Распространенность железодефицитных состояний в детско-юношеском спорте высших достижений Е. П. Исаева, П. Л. Окорокров, И. В. Зябкин	
Prevalence of iron deficiency in adolescent high performance sports Isaeva EP, Okorokov PL, Zybkin IV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	87
<hr/>	
Особенности распределения подошвенного давления стоп у спортсменов с плантарным фасциитом В. В. Кармазин, А. В. Сливин, С. А. Парастаев	
Plantar pressure distribution features in athletes with plantar fasciitis Karmazin VV, Slivin AV, Parastaev SA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	94
<hr/>	
Вегетативная регуляция кровообращения и биоэлектрические процессы в миокарде человека в моделируемых гипомангнитных условиях О. В. Попова, В. Б. Русанов, О. И. Орлов	
Vegetative regulation of blood circulation and bioelectric processes in the human myocardium under simulated hypomagnetic conditions Popova OV, Rusanov VB, Orlov OI	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	102
<hr/>	
Действие высоких концентраций фентанила на изолированное сердце крысы О. В. Нечайкина, Д. С. Лаптев, Д. В. Бобков, С. Г. Петунов, А. С. Радилев	
The effect of high concentrations of fentanyl on an isolated heart of rat Nechaykina OV, Laptev DS, Bobkov DV, Petunov SG, Radilov AS	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	107
<hr/>	
Результаты тестирования уровня базовых знаний по вопросам оказания первой помощи у разных категорий населения Ю. В. Иванов, В. Р. Станкевич, О. В. Какурин, Е. А. Величко, А. В. Смирнов, С. В. Горнов	
Results of testing basic knowledge about the issues of first aid in different categories of people Ivanov YuV, Stankevich VR, Kakurin OV, Velichko YeA, Smirnov AV, Gornov SV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	112
<hr/>	
Оценка содержания микронутриентов в организме военнослужащих, проходящих службу в различных климатических поясах России Д. А. Нарутдинов, Р. С. Рахманов, Е. С. Богомолова, С. А. Разгулин, А. В. Истомин, Д. А. Шуркин	
Assessment of micronutrient levels in the military personnel serving in various climatic zones of Russia Narutdinov DA, Rakhmanov RS, Bogomolova ES, Razgulin SA, Istomin AV, Shurkin DA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	120
<hr/>	
Методика оценки влияния растворов биологически активных веществ на коагуляцию В. А. Манувера, К. А. Бровина, П. А. Бобровский, Е. Н. Графская, Д. Д. Харлампиева, В. Н. Лазарев	
Method to assess the effects of bioactive compounds solutions on blood clotting Manuvera VA, Brovina KA, Bobrovsky PA, Grafaskaia EN, Kharlampieva DD, Lazarev VN	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	125
<hr/>	
Изменения некоторых иммунологических показателей после перенесенной инфекции COVID-19: общие тенденции и индивидуальные особенности Т. В. Глазанова, Е. Р. Шилова, Ю. С. Ефремова, Ж. В. Чубукина, С. С. Бессмельцев	
Changes in some immunological parameters after COVID-19: general trends and individual characteristics Glazanova TV, Shilova ER, Efremova YS, Chubukina JV, Bessmeltsev SS	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	133
<hr/>	
Электронная микроскопия трофозоитов <i>Plasmodium falciparum</i> и инфицированных ими тканей при тяжелой форме тропической малярии А. И. Соловьев, В. А. Капацина, М. О. Соколова, А. Р. Арюков, А. Н. Коваленко, А. Н. Усков, В. А. Романенко	
Electron microscopy of the <i>Plasmodium falciparum</i> trophozoites and the tissues these have infected in severe tropical malaria Solovev AI, Kapacina VA, Sokolova MO, Ariukov AR, Kovalenko AN, Uskov AN, Romanenko VA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	140
<hr/>	
Вопрос сохранения интериктальной активности в длительных ЭЭГ-исследованиях эпилепсии С. А. Гуляев, С. Г. Климанов, Г. А. Гермашев, Л. М. Ханухова, А. А. Гармаш	
The issue of preserving interictal activity in long-term EEG studies of epilepsy Gulyaev SA, Klimanov SG, Germashev GA, Khanukhova LM, Garmash AA	

МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРАВМ, ПОЛУЧЕННЫХ НА КРАЙНЕМ СЕВЕРЕ

М. В. Волкова [✉], П. С. Ерёмин, П. А. Марков

Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

В обзоре сделано сравнение перспективных подходов лечения с использованием мезенхимных стволовых клеток повреждений кожи и костной ткани, полученных в экстремальных для организма условиях. Используются ресурсы поисковых систем Google Scholar и PubMed. Описаны основные факторы Арктического региона, оказывающие влияние на покровные и костные ткани человека, а также затрудняющие их заживление в случае получения травм. С учетом литературных данных выявлены перспективные продукты, оказывающие многогранное влияние на процессы репарации тканей, а именно применение мезенхимных стволовых клеток, их экзосом и рекомбинантных факторов роста в комбинации с биоматериалами. Разрабатываемые медицинские продукты для лечения травм, полученных в условиях Арктики, могут быть использованы при терапии ранений, приобретенных в других воздействующих на организм экстремальных средах.

Ключевые слова: гипоксия, гипотермия, кожа, кость, стволовые клетки

Благодарности: авторы выражают благодарность генеральному директору ООО Химическая компания «Орион» Яну Борисовичу Ковалевскому за оказанную помощь при написании статьи.

Вклад авторов: М. В. Волкова — научное обоснование, анализ данных, написание рукописи; П. С. Ерёмин — редактирование рукописи; П. А. Марков — курирование проекта, редактирование рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Марина Викторовна Волкова
Новый Арбат, д. 32, г. Москва, 121099, Россия; biotech.volkova@list.ru

Статья получена: 20.05.2024 **Статья принята к печати:** 10.06.2024 **Опубликована онлайн:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.029

MULTIPOTENT MESENCHYMAL STEM CELLS: PROSPECTS FOR USE IN THE TREATMENT OF INJURIES SUSTAINED IN THE FAR NORTH

Volkova MV [✉], Eremin PS, Markov PA

National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology, Moscow, Russia

The review compares promising approaches to treatment of skin and bone tissue injuries sustained under extreme conditions that employ mesenchymal stem cells. The materials have been extracted from Google Scholar and PubMed. We describe key factors of the Arctic region that affect human epidermis and bone tissues, as well as those that complicate their healing in case of injury. The reviewed papers allowed identifying promising products that have a multifaceted effect on the tissue repair processes, which are those employing mesenchymal stem cells, their exosomes, and recombinant growth factors in combination with biomaterials. Medical products developed for treatment of injuries sustained in the Arctic conditions can be used for wounds sustained in other extreme environments.

Keywords: hypoxia, hypothermia, skin, bone, multipotent mesenchymal stem cells

Acknowledgements: the authors express their gratitude to Jan Borisovich Kovalevsky, General Director of Orion Chemical Company, for his assistance in writing the article.

Author contribution: Volkova MV — scientific justification, data analysis, manuscript authoring; Eremin PS — manuscript editing; Markov PA — project supervision, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina Viktorovna Volkova
Novy Arbat, 32, Moscow, 121099, Russia; biotech.volkova@list.ru

Received: 20.05.2024 **Accepted:** 10.06.2024 **Published online:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.029

Кожа является жизненно важным органом, предотвращающим проникновение чужеродных агентов в организм и участвующим в поддержании обмена веществ. Заживление глубоких и обширных повреждений кожи, возникающих при серьезных ранениях (ожогах, обморожениях и др.), при отсутствии хирургического лечения в большинстве случаев происходит с нарушениями, что приводит к развитию фиброза, появлению рубцов и переходу раны в хроническую фазу, а также увеличивает риски ампутации, развития сепсиса и смерти пациента [1].

Кости представляют собой не менее сложный орган, обеспечивающий защиту, форму и механическую поддержку организма в целом и т. д. [2]. Костная ткань относится к высокодинамическим структурам и подвергается постоянному процессу ремоделирования, чтобы приспособиться к меняющимся механическим

нагрузкам и восстанавливать развивающиеся усталостные переломы. Несмотря на высокий регенеративный потенциал, потеря костной массы и последующее ее восстановление являются важными проблемами в ортопедии и смежных областях, так как имеют большое клиническое и экономическое значение, обусловленное длительным восстановлением здоровья пациента, а также высокими рисками потери дееспособности [3]. Кость представляет собой уникальную ткань, которая постоянно и полностью регенерирует, ярким примером тому служит заживление переломов. Однако существуют случаи, когда регенеративная потребность поврежденной ткани выходит за пределы нормального потенциала самовосстановления. Как правило, такое происходит при дефектах костей критического размера, возникших в результате ортопедических или челюстно-лицевых

операций, после травм, инфекций и резекций опухолей. Во всех этих случаях необходимо клиническое вмешательство и эндогенная стимуляция регенерации костной ткани [4].

Ежегодно в Российской Федерации регистрируется более 10 млн случаев различного рода травм: от повреждения кожных покровов и переломов костей до получения травм внутренних органов. Еще около 4 млн человек имеют заболевания кожи и подкожной клетчатки, около 5 млн — заболевания костно-мышечной системы и соединительной ткани [5]. Значительная доля случаев бытового, дорожно-транспортного и производственного травматизма связана с получением повреждений кожи, мышц и костей. В условиях военного времени данные цифры возрастают многократно, так как к ним добавляются огнестрельные и осколочные ранения, минно-взрывные травмы.

В настоящее время проводится активное освоение Арктического региона, который имеет глобальное геополитическое значение: транспортные коридоры, добыча углеводородов и др. [6]. Активное освоение Крайнего Севера увеличивает риски травматизма и инвалидизации человека, так как арктические условия оказывают значительное влияние на все системы организма. Тяжелые условия труда, высокий риск травматизма и удаленность от стационарных медицинских учреждений делают актуальной разработку новых методов и материалов, стимулирующих репаративную регенерацию твердых и мягких тканей, в том числе сочетанного генеза [7].

При подготовке данного обзора использованы ресурсы поисковых систем Google Scholar и PubMed. Поиск литературы для контент-анализа проведен по вышеуказанным ключевым словам.

Цель обзора — сравнить перспективные подходы лечения с использованием мезенхимных стволовых клеток повреждений кожи и костной ткани, полученных в экстремальных для организма условиях.

Особенности течения воспалительно-регенеративных процессов в экстремальных климатических условиях Арктики

Климато-географические факторы Арктического региона оказывают значительное влияние на человека, что приводит к сложной перестройке гомеостатических систем и вовлечению всех физиологических резервов организма [8]. Данное состояние специфического напряжения («синдром полярного напряжения») возникает у вновь прибывших людей и характеризует особенности адаптации организма к экстремальным условиям [9].

Одним из ключевых влияний климатических факторов Крайнего Севера и Арктики на организм является воздействие низких температур, которое активирует механизмы, способствующие производству тепла и предотвращению его потерь [10]. Внутренняя температура тела в норме составляет 35,6–37,8 °С. В случае если температура тела опускается ниже 35 °С, то возникает состояние гипотермии. Длительная или глубокая гипотермия может привести к необратимым повреждениям, вплоть до потери двигательной функции и смерти [11–12].

Кроме гипотермии экстремальные природно-климатические условия Крайнего Севера и Арктики вызывают чрезмерное напряжение дыхательной системы человека и повышают риск возникновения легочных патологий [13]. Холодный воздух вызывает активацию ряда

защитных физиологических механизмов. В частности, снижается частота дыхания, рефлекторно снижается глубина вдоха, при этом функциональная остаточная емкость легких увеличивается. В верхних дыхательных путях происходит активная потеря влаги и тепла, необходимых для увлажнения и согревания вдыхаемого воздуха [14]. Изменения в респираторных органах и тканях негативно сказывается на всем организме, в первую очередь на эффективности транспорта и утилизации кислорода, что приводит к возникновению окислительного стресса и повышенному образованию свободнорадикальных продуктов, в том числе активных форм кислорода (АФК) [15–17]. Избыточное накопление АФК приводит к дисфункции митохондрий, еще сильнее усугубляя воздействие окислительного стресса, опосредуя и ускоряя апоптоз клеток [18–19].

Прибывание в Арктическом регионе способствует развитию гиповитаминоза. Тяжелые нарушения функций различных органов и обмена веществ в целом могут возникать из-за недостатка жирорастворимых витаминов [16]. Дефицит витамина D3 приводит к нарушению минерального обмена костной ткани. В совокупности с недостатком эссенциальных микроэлементов, это ускоряет обмен костной ткани и способствует развитию остеопоротических переломов [20].

Функционирование гормональных систем организма также изменяется в связи с действием холода и возникновением светового стресса. Почти все клеточные функции и физиологические системы находятся под циркадианным контролем, который синхронизируется с внешними стимулами, в первую очередь, со светом определенного спектра и интенсивности. Сезонная асимметрия и недостаток ультрафиолета в условиях Арктики являются причиной светового стресса, что способствует развитию метаболических, иммунных и психических заболеваний, а также усугублению заживления ран, снижению детоксикации организма [21].

В Арктической зоне человек активно взаимодействует с различными механизмами и машинами. Используемые при этом химические средства могут оказывать раздражающее и аллергическое действие на кожу. Воздействие низких температур требует использования специальной, зачастую, тяжелой экипировки, в которой выполняется физическая работа. Эти факторы также провоцируют и усугубляют течение заболеваний костно-мышечной и соединительной тканей.

Таким образом, климато-географические особенности Арктического региона формируют ряд заболеваний, которые имеют большее распространение, чем в средней полосе [6]. Травмированные ткани являются гипоксичными из-за повреждения местных сосудов вне зависимости от внешних условий. Следовательно, развитие тканевой гипоксии и ишемически-реперфузионного синдрома вследствие общего переохлаждения, в целом, усложняет заживление различных травм кожи, мягких и твердых тканей и увеличивает, в частности, риски возникновения обморожений. Избыточное накопление АФК тоже будет препятствовать нормальному заживлению травм, так как станет причиной избыточного воспаления. Отсутствие кислорода и питательных веществ, дефицит которых будет усилен воздействием гипоксии и гипотермии на организм, значительно препятствует процессам регенерации тканей — синтезу коллагена и ангиогенезу [22].

Пребывание на Крайнем Севере, как правило, носит вахтовый характер. Это приводит к тому, что организм

не успевает выработать устойчивые адаптационные механизмы защиты [19], так как для полной адаптации человека требуется более 3 лет непрерывного пребывания в данном климатико-географическом регионе [9]. Кроме того, следует отметить, что длительное пребывание людей на Крайнем севере зачастую сопровождается гиповитаминозом, что не только снижает регенеративный потенциал, но и увеличивает риски возникновения инфекций.

Риски возникновения и развития воспалительных и инфекционных заболеваний кожи и подкожной клетчатки увеличиваются и в результате длительного пребывания людей в отрыве от жилых помещений, без достаточных условий для проведения гигиенических мероприятий, а также необходимости длительной носки специального снаряжения [23].

Одним из ключевых факторов, препятствующих активному восстановлению тканей после получения травмы в экстремальных для организма условиях, являются изменения в кровеносной системе организма, увеличение длительности ангиогенеза вследствие недостатка кислорода [11]. В связи с этим при разработке терапии, стоит рассмотреть возможности и способы ревааскуляризации поврежденных тканей. Восстановление кожных покровов и костной ткани сильно зависит от способности организма к процессу образования новых кровеносных сосудов. Ангиогенез обеспечивает клетки необходимыми питательными веществами и, соответственно, способствует поддержанию их жизнеспособности [4]. Значительную роль кровоснабжение оказывает на регенерацию кости, так как она является сильно васкуляризованной тканью. Наличие кровеносных сосудов также осуществляет паракринную регуляцию остеогенеза [24]. Таким образом, технологии и методы, обеспечивающие улучшение ангиогенеза, способствуют значительному ускорению процессов регенерации тканей [4].

Другая проблема — нарушения в ходе первой (воспалительной) фазы заживления. В частности, гипотермия задерживает высвобождение провоспалительных цитокинов, снижает количество и функцию нейтрофилов, а также нарушает хемотаксис лейкоцитов и фагоцитов [25]. Иммуносупрессия является одним из отрицательных последствий переохлаждения, в совокупности с замедленным заживлением, повышает риск сепсиса, нарушениями плазматической коагуляции и функции тромбоцитов. Последние два фактора, в частности, приводят к отсрочке раннего хирургического удаления некротических тканей, что негативно сказывается на восстановлении и выживаемости пациентов в целом [26].

На эти два ключевых процесса необходимо ориентироваться при разработке новых способов лечения. Но экстремальные климатические условия, низкая плотность населения, удаленность и труднодоступность районов тоже сказываются на организации системы оказания медицинской помощи, в том числе при спасении людей, пострадавших в чрезвычайных ситуациях [27]. Поэтому при разработке новых методов лечения требуется учитывать значительную задержку оказания высококвалифицированной медицинской помощи.

Новые терапевтические подходы восстановления повреждений твердых и мягких тканей с использованием ММСК

Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки (ММСК) организма участвуют во всех стадиях регенерации

кожи и костей, поэтому применение их для лечения ран является перспективным подходом. Основным механизмом терапевтического влияния ММСК является секреторная активность, но, кроме этого, они способны дифференцироваться в клетки поврежденной ткани [28]. Клетки регулируют продолжительность фазы воспаления, принимают участие в паракринной регуляции образования и реорганизации рубца на поздних стадиях. Особую актуальность терапия на основе ММСК приобретает для лечения хронических и длительно не заживающих ран, не поддающихся традиционным видам терапии [29]. Для регенерации костной ткани так же широко используют клеточные популяции ММСК, выращенные на различных вариантах биокаркасов [30]. Доказано, что ММСК способны улучшать исход термических повреждений, благодаря иммуномодулирующим, антиоксидантным и ангиогенным эффектам [31, 32]. Результаты первых исследований по использованию инъекций ММСК для лечения травм, полученных в имитирующих гипоксию и гипотермию условиях, демонстрируют значительное расширение показаний для применения клеточной терапии [33]. В частности, продемонстрирована их эффективность для лечения холодových травм. При этом выделены два основных терапевтических эффекта инъекции ММСК: снижение воспаления и улучшения ангиогенеза по периферии раны [34].

Развивается еще одно направление клеточной терапии — использование экзосом ММСК. Данные внеклеточные везикулы содержат нуклеиновые кислоты, белки и липиды. Содержащиеся в экзосомах белки, включая ферменты, и микроРНК также участвуют во многих биохимических и клеточных процессах, в том числе воспалении и регенерации тканей. Это обуславливает их универсальность и способность взаимодействовать с несколькими типами клеток, вызывая соответствующие клеточные реакции. В частности, каталитически активные ферменты, способствующие гомеостазу тканей, потенциально способны восстанавливать нормальную функцию тканей. Это особенно важно, когда травма или заболевание изменяет микроокружение и, как следствие, приводит к нарушениям гомеостаза и функционирования ткани. При этом снижается риск передозировки и недостаточности дозы по сравнению с большим количеством лекарств, так как активность фермента регулируется непосредственно концентрацией субстрата. Таким образом, терапевтический эффект будет пропорционален тяжести травмы [35, 36].

Секретом ММСК содержит широкий спектр биологически активных молекул, синтез которых в настоящее время возможен с помощью рекомбинантных технологий. Например, значительное влияние на восстановление поврежденных тканей оказывают факторы роста. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, от англ. vascular endothelial growth factor) участвует в процессах ангиогенеза и неоваскуляризации, способствуя в том числе миграции эндотелиальных клеток [37, 38]. Производство внеклеточного матрикса во многих типах клеток, связанных с заживлением ран, стимулируется фактором роста фибробластов (FGF, от англ. fibroblast growth factor) [37, 39]. В заживлении ран участвует и тромбоцитарный фактор роста (PDGF, от англ. platelet-derived growth factor), стимулирующий пролиферацию фибробластов, клеток гладкой мускулатуры, остеобластов и других клеток [39]. Факторы роста можно применять как непосредственно лекарственный препарат, так и в составе

Таблица 1. Особенности терапевтических подходов для восстановления тканей с использованием клеточных и рекомбинантных технологий

	Мезенхимные стволовые клетки	Экзосомы ММСК	Рекомбинантные факторы роста
Тип	Биомедицинский клеточный продукт (№180-ФЗ от 23.06.2016)"		Лекарственный препарат (№61-ФЗ от 12.04.2010)
Технологический процесс			
Источник	Человек-донор	Человек-донор	Генетически модифицированный штамм-продуцент
Длительность	В среднем 7–14 дней (2–3 дня из клеточного банка); результаты некоторых анализов контроля качества (стерильность) получают после применения в связи с малым сроком хранения	+1–2 дня от сроков культивирования ММСК; контроль качества продукта аналогичен контролю качества ММСК, если не будут разработаны способы консервации (увеличения срока годности)	Полный цикл — 3–7 дней; выпуск партии после проведения полного контроля качества
Вариативность	Зависит от условий культивирования; невозможность полной характеристики в ходе контроля качества до применения (при сроке хранения менее 7 дней)		Минимальна, контролируется после получения партии
Характеристика готового продукта			
Условия хранения	Преимущественно +2...+8 °С, до конца не установлены		Преимущественно +2...+8 °С
Длительность	До 8–12 ч (незамороженные, вне инкубатора)	1–30 суток (в зависимости от лекарственной формы)	От 10 суток до года (в зависимости от лекарственной формы)
Дозировка	Определяется индивидуально	Приблизительно, многокомпонентная система	Определение точного количества белка и расчета дозы
Особенности терапевтического применения			
Длительность эффекта (однократное применение)	До 24 ч в связи со значительной гибелью клеток	Несколько часов (сама форма экзосом обеспечивает пролонгированное высвобождение)	Несколько часов (при отсутствии пролонгированного высвобождения)
Удобство применения	Требуются специальные навыки, только в медучреждениях	Форма применения близка к формам других лекарственных препаратов	
Риски применения	Плохая приживаемость и гибель клеток после инъекции	Индивидуальная непереносимость сопутствующих компонентов в после очистки	Передозировка; образование рубцов

клеточных продуктов, в частности для тканевой инженерии и/или с целью клеточного репрограммирования. При этом их эффективность при лечении различных травм уже доказана, а соответствующие технологии получения белков в дрожжевых системах экспрессии разработаны [40].

В связи с особенностями воздействия климато-географических условий Арктического региона на организм человека актуальность создания лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, оказывающих комплексное воздействие на очаг повреждения, возрастает. Это связано с тем, что патологическое состояние раны значительно ухудшается ввиду развития тканевой гипоксии. Другим фактором является то, что ни один из представленных подходов не является «панaceей», так как имеет свои особенности (табл. 1). Кроме того, применение аллогенных клеток, экзосом или рекомбинантных факторов роста имеет ряд существенных ограничений, как терапевтического, так и технологического характера.

В связи с этим большую роль играют подбор и разработка биологического матрикса, который будет выступать в качестве матрицы применяемых клеток, экзосом или белков. На сегодняшний день «золотыми стандартами» лечения как травм кожи, так и восстановления костной ткани остается использование аутотрансплантатов или бесклеточных аллотрансплантатов. Это связано с полным соответствием физико-химических и биохимических параметров каркасов, обеспечивающих требуемую пористость для ангиогенеза, а также пролиферативные и остеиндуктивные свойства. Нехватка донорских участков и высокие риски образования рубцов способствуют

разработке полноразмерных эквивалентов кожи и остеиндуктивных материалов [41–43]. Лекарственная терапия, хирургическая реконструкция и медицинские устройства, доступные на сегодняшний день, не способны заменить все функции поврежденной ткани или потерянного органа [44]. Это связано с тем, что значительную роль в организме играет внеклеточный матрикс, обеспечивающий физическую основу для поддержания целостности тканей и органов, а также служит индуктором биохимических и биофизических сигналов. Он создает микроокружение, которое включает весьма сложные клеточные взаимодействия и молекулярно-генетические процессы [45]. Данные проблемы способна решить тканевая инженерия.

В качестве основы матрикса могут быть использованы как наиболее предпочтительные природные, так и хорошо регулируемые по физико-химическим свойствам синтетические полимеры. Требуемые характеристики к каркасам представлены в табл. 2.

Среди природных полимеров для восстановления твердых и мягких тканей наиболее предпочтительным остается коллаген как основной компонент внеклеточного матрикса большинства тканей организма. Для разработки раневых покрытий также широко используют его производное — желатин. Другим природным полимером, распространенным в наших тканях, для разработки каркаса для восстановления костных и мягких тканей является гиалуроновая кислота. Родственность к внеклеточному матриксу человека является их главным преимуществом, но высокая цена, риски переноса заболеваний, недостаточность сырьевого материала и

Таблица 2. Требуемые характеристики каркасов для восстановления тканей и обуславливающие требования к ним факторы

	Мягкие ткани (кожа)	Твердые ткани (кости)
Материалы (наиболее распространенные)	Коллаген, фибрин, желатин, гиалуронан, хитозан, агароза, целлюлоза, альгинат, полилактид, поликапролактон и др.	Коллаген, фибрин, желатин, гиалуронан, крахмал, хитозан, фосфаты, биоактивное стекло, полиметилметакрилат и др.
Форма и размеры каркаса	Маленькая толщина (1 мм и менее), зачастую большая площадь	Небольшая площадь (в зависимости от типа кости), толщина определяется размером дефекта
Использование клеток в каркасе	Опционально кератиноциты, фибробласты (в разработке и другие клетки, в том числе ММСК)	Наиболее желательно ММСК, остеобласты
Биосовместимость и биodeградация	Можно использовать временные раневые повязки (важно атравматичное удаление)	++ Требуется использовать полностью биodeградируемый материал для полного замещения ткани
Пористость	Миграция фибробластов, васкуляризация, при этом требуется сохранение барьерной функции и предотвращение потери воды	/ ++ Кортикальная кость 5–10%; трабекулярная кость 50–90%; миграция стволовых клеток и остеобластов, васкуляризация
Прочность	Модуль Юнга 0,002–1,5 МПа	++ Модуль Юнга и прочность на сжатие: кортикальная кость 15–20 ГПа и 10–200 МПа; кортикальная кость 0,1–2 ГПа и 2–20 МПа
Васкуляризация	Восстановление трофики в дермальном слое	++ Наиболее васкуляризованная ткань
Эпидермальная кератинизация	Восстановление барьерной функции кожи	–
Остеоиндуктивность	–	+ Дифференцировка ММСК и развитие остеобластов
Осложнения травм, которые необходимо компенсировать	Хроническая рана (избыточное воспаление), рубцы	Несращение кости
Основные негативные факторы Крайнего Севера, влияющие на заживление	Воздействие холода по всей площади кожи; действие агрессивных химических веществ; инфекции	Гиповитаминоз (минеральный обмен костной ткани); воздействие холода на конечности; физическая нагрузка

другие факторы обязывают рассматривать иные полимеры [44]. Для восстановления кожных покровов также активно разрабатываются каркасы на основе фибрина, шелка, хитозана, агарозы, целлюлозы, крахмала, альгината и синтетических полимеров. Тканевая инженерия костной ткани значительно ограничена по сравнению с инженерией кожи в связи с таким важным свойством материала, как остеоиндуктивность. Тем не менее, в качестве материала костного каркаса могут быть использованы не только коллаген, фиброин и гиалуроновая кислота, но и хитозан, который способен поддерживать прикрепление и пролиферацию костеобразующих клеток остеобластов и обеспечивать образование минерализованного костного матрикса [46].

Для восстановления поврежденных тканей после пребывания в условиях Арктического региона требуется разработка наиболее эффективной терапии, в связи с тем что нарушена трофика тканей и собственных

резервов организма недостаточно. Поэтому перспективно использование для этих целей матриц, содержащих ММСК, экзосомы или рекомбинантные факторы роста, в первую очередь, для снижения воспаления и усиления процессов ангиогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на сложное многофакторное воздействие природно-климатических условий Крайнего Севера, возможна разработка терапевтических продуктов и способов широкого применения, в частности, на основе мультипотентных мезенхимных стволовых клеток. Данные разработки могут найти применение для лечения травм кожи и тканей, как в других климатических регионах, так и в иных экстремальных условиях, например, при получении травм в условиях космического полета, высокогорья, подводного плавания.

Литература

- Zheng K, Tong Y, Zhang S, He R, Xiao L, Iqbal Z, et al. Flexible bicolourimetric polyacrylamide/chitosan hydrogels for smart real-time monitoring and promotion of wound healing. *Advanced Functional Materials*. 2021; 31 (34): 2102599.
- Fourie J, Taute F, du Preez L, De Beer D. Chitosan composite biomaterials for bone tissue engineering — a review. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2022; 1–21.
- Loi F, Cordova LA, Pajarinen J, Lin T, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*. 2016; 86: 119–30.
- Курбонов Х. Р., Джуракулов Б. И., Хусанов Т. Б. Методы улучшения ангиогенеза в регенерации костной ткани. *Journal of Universal Science Research*. 2023; 1 (10): 683–92.
- Здравоохранение в России. Стат. сб. Росстат. М., 2023; 181.
- Азаров И. И., Бутаков С. С., Жолус Б. И., Зеткин А. Ю.,

- Реммер В. Н. Опыт сохранения здоровья военнослужащих в Арктике в повседневной деятельности и чрезвычайных ситуациях. *Морская медицина*. 2017; 3 (3): 102–11.
7. Шаповалов К. А., Шаповалова П. К. Травматизм плавающего состава морского транспортного флота Северного водного бассейна. *Хирургия. Восточная Европа*. 2019; 8 (3): 469–484.
 8. Пряничников С. В. Психофизиологическое состояние организма в зависимости от длительности пребывания в высоких широтах Арктики. *Экология человека*. 2020; 12: 4–10.
 9. Загородников Г. Г., Уховский Д. М. Военно-профессиональная адаптация военнослужащих в условиях Крайнего Севера. СПб.: ВмедА, 2013.
 10. Turk EE. Hypothermia. *Forensic science, medicine, and pathology*. 2010; 6 (2): 106–15.
 11. Moffatt S. E. Hypothermia in trauma. *Emergency Medicine Journal*. 2013; 30 (12): 989–96.
 12. McDonald A, Stubbs R, Larley P, Kokot S. Environmental injuries: hyperthermia and hypothermia. *MacEwan University Student eJournal*. 2020; 4 (1).
 13. Гришин О. В., Устюжанинова Н. В. Гипометаболизм у северян в условиях действия низких температур. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2010; 3: 12–17.
 14. Шишкин Г. С., Устюжанинова Н. В. Функциональные состояния внешнего дыхания здорового человека. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012; 329 с.
 15. Ермолин С. П. Физиологические реакции организма военнослужащих в условиях арктической зоны: дис. канд. мед. наук: 03.03.01. Архангельск, 2015: 139.
 16. Ovechkina E, Ovechkin F. Human Pathophysiology in the Conditions of North Russia. *Bulletin of Science and Practice*. 2021.
 17. Liu J, Ding Y, Liu Z, Liang X. Senescence in mesenchymal stem cells: functional alterations, molecular mechanisms, and rejuvenation strategies. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020; 8: 258.
 18. Lv H, Liu Q, Zhou J, Tan G, Deng X, Ci X. Daphnetin-mediated Nrf2 antioxidant signaling pathways ameliorate tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced mitochondrial dysfunction and cell death. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017; 106: 38–52.
 19. Воробьева Н. А., Воробьева А. И., Марусий А. А. Риск эндотелиальной дисфункции и общая антиоксидантная способность у моряков в условиях арктического рейса. *Журнал медико-биологических исследований*. 2021; 9 (2): 192–200.
 20. Тыренко В. В., Аганов Д. С., Топорков М. М., Цыган Е. Н., Бологов С. Г. Ранняя диагностика нарушения минерального обмена, как способ первичной и вторичной профилактики переломов у военнослужащих Арктической группировки войск. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2018; 4: 45–51.
 21. Волкова М. В., Бирюков С. А. Методические аспекты разработки и доклинических исследований лекарственных препаратов в интересах Арктической медицины. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 25 (1): 12–20.
 22. Tamata K, Kerpeldjeva SS. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells. *Advances in Wound Care*. 2012; 1 (4): 177–82.
 23. Мызников И. Л., Полищук Ю. С. Состояние здоровья, заболеваемость и травматизм у водолазов, проходящих службу в Кольском Заполярье. *Гигиена и санитария*. 2014; 93 (4): 61–66.
 24. Ревокатова Д. П., Зурина И. М., Горкун А. А., Сабурова И. Н. Современные подходы к созданию васкуляризованных костных биоэквивалентов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2022; 66 (3): 151–65.
 25. Wood T, Thoresen M. Physiological responses to hypothermia. *Seminars in fetal and neonatal medicine*. 2015; 20 (2): 87–96.
 26. Trupkovic T, Giessler G. Das Verbrennungstrauma—Teil. *Der Anaesthetist*. 2008; 57 (9): 898–907.
 27. Котенко П. К., Шевцов В. И. Анализ медико-социальных факторов, определяющих перспективный облик системы оказания медицинской помощи пострадавшим в чрезвычайных ситуациях в Арктической зоне Российской Федерации. *Морская медицина*. 2018; 4 (4): 44–54.
 28. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. 2019; 8 (8): 886.
 29. Yorukoglu AC, Kiter A, Akkaya S, Satiroglu-Tufan NL, Tufan AC. A concise review on the use of mesenchymal stem cells in cell sheet-based tissue engineering with special emphasis on bone tissue regeneration. *Stem cells international*. 2017; 2017.
 30. Petite H, Viateau V, Bensaid W, Meunier A, de Pollak C, Bourguignon M, et al. Tissue-engineered bone regeneration. *Nature biotechnology*. 2000; 18 (9): 959–63.
 31. Rangatchew F, Vester-Glowinski P, Rasmussen BS, Haastrup E, Munthe-Fog L, Talman ML, et al. Mesenchymal stem cell therapy of acute thermal burns: A systematic review of the effect on inflammation and wound healing. *Burns*. 2021; 47 (2): 270–94.
 32. Chang YW, Wu YC, Huang SH, Wang HMD, Kuo YR, Lee SS. Autologous and not allogeneic adipose-derived stem cells improve acute burn wound healing. *PloS one*. 2018; 13 (5): e0197744.
 33. Волкова М. В., Бояринцев В. В., Трофименко А. В., Рыбалкин С. П., Ковалева Е. В., Бирюков С. А., и др. Эффективность применения мезенхимальных стромальных клеток для лечения рвано-ушибленных ран в условиях гипотермии и гипоксии. *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2022; 41 (3): 261–68.
 34. Volkova MV, Boyarintsev VV, Trofimenko AV, Kovaleva EV, Al Othman A, Melerzanov AV, et al. Local injection of bone-marrow derived mesenchymal stromal cells alters a molecular expression profile of a contact frostbite injury wound and improves healing in a rat model. *Burns*. 2023; 49 (2): 432–43.
 35. Lai RC, Yeo RWY, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosomes. *Seminars in cell & developmental biology*. 2015; 40: 82–88.
 36. Yin K, Wang S, Zhao RC. Exosomes from mesenchymal stem/stromal cells: a new therapeutic paradigm. *Biomarker research*. 2019; 7: 1–8.
 37. Barrientos S, Brem H, Stojadinovic O, Tomic-Canic M. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2014; 22 (5): 569–78.
 38. El Sadik AO, El Ghamrawy TA, Abd El-Galil TI. The effect of mesenchymal stem cells and chitosan gel on full thickness skin wound healing in albino rats: histological, immunohistochemical and fluorescent study. *PloS one*. 2015; 10 (9): e0137544.
 39. Graves DT, Cochran DL. Mesenchymal cell growth factors. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1990; 1 (1): 17–36.
 40. Мистерова А. А. В. Оптимизация метода очистки рекомбинантного фактора роста тромбоцитов человека RHPDGF-BB, полученного в метилтрофных дрожжах *Pichia Pastoris*. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2023; 59 (4): 383–91.
 41. Мухаметов У. Ф., Люлин С. В., Борзунов Д. Ю., Гареев И. Ф., Бейлерли О. А. Аллопластические и имплантационные материалы для костной пластики: обзор литературы. *Креативная хирургия и онкология*. 2021; 4: 343–53.
 42. Böttcher-Haberzeth S, Biedermann T, Reichmann E. Tissue engineering of skin. *Burns*. 2010; 36 (4): 450–60.
 43. Radke D, Chen L, Qi S, Zhao F. Prevascularized stem cell sheet for full-thickness skin wound repair. *Vascular Surgery, Neurosurgery, Lower Extremity Ulcers, Antimicrobials, Wound Assessment, Care, Measurement and Repair*. 2020: 167–72.
 44. Alaribe FN, Manoto SL, Motaung SCKM. Scaffolds from biomaterials: advantages and limitations in bone and tissue engineering. *Biologia*. 2016; 71 (4): 353–66. Available from: <https://doi.org/10.1515/biolog-2016-0056>.
 45. Hussey GS, Dziki JL, Badylak SF. Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine. *Nature Reviews Materials*. 2018; 3 (7): 159–73.
 46. Levensgood SKL, Zhang M. Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*. 2014; 2 (21): 3161–84.

References

- Zheng K, Tong Y, Zhang S, He R, Xiao L, Iqbal Z, et al. Flexible bicolorimetric polyacrylamide/chitosan hydrogels for smart real-time monitoring and promotion of wound healing. *Advanced Functional Materials*. 2021; 31 (34): 2102599.
- Fourie J, Taute F, du Preez L, De Beer D. Chitosan composite biomaterials for bone tissue engineering — a review. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2022; 1–21.
- Loi F, Cordova LA, Pajarinen J, Lin T, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*. 2016; 86: 119–30.
- Курбанов Х. Р., Джуракулов Б. И., Хусанов Т. Б. Методы улучшения ангиогенеза в регенерации костной ткани. *Journal of Universal Science Research*. 2023; 1 (10): 683–92.
- Zdravooхранenie v Rossii. Stat. sb. Rosstat. M., 2023; 181. Russian.
- Azarov II, Butakov SS, Zholus BI, Zetkin AYU, Remmer VN. Opyt sohraneniya zdorov'ya voennosluzhashchih v Arktike v povsednevnoj dejatel'nosti i chrezvychajnyh situacijah. *Morskaja medicina*. 2017; 3 (3): 102–11. Russian.
- Shapovalov KA, Shapovalova PK. Travmatizm plavajushhego sostava morskogo transportnogo flota Severnogo vodnogo bassejna. *Hirurgija. Vostochnaja Evropa*. 2019; 8 (3): 469–484. Russian.
- Pryanichnikov SV. Psihofiziologicheskoe sostojanie organizma v zavisimosti ot dlitel'nosti prebyvaniya v vysokih shirotah Arktiki. *Jekologija cheloveka*. 2020; 12: 4–10. Russian.
- Zagorodnikov GG, Uhovskij DM. Voенно-professional'naja adaptacija voennosluzhashchih v uslovijah Krajnego Severa. SPb.: VmedA, 2013. Russian.
- Turk EE. Hypothermia. *Forensic science, medicine, and pathology*. 2010; 6 (2): 106–15.
- Moffatt S. E. Hypothermia in trauma. *Emergency Medicine Journal*. 2013; 30 (12): 989–96.
- McDonald A, Stubbs R, Lartey P, Kokot S. Environmental injuries: hyperthermia and hypothermia. *MacEwan University Student eJournal*. 2020; 4 (1).
- Grishin OV, Ustyuzhaninova NV. Gipometabolizm u severjan v uslovijah dejstvija nizkih temperatur. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*. 2010; 3: 12–17. Russian.
- Shishkin GS, Ustyuzhaninova NV. Funkcional'nye sostojaniya vneshnego dyhanija zdorovogo cheloveka. *Novosibirsk: Izd-vo SO RAN*, 2012; 329 c. Russian.
- Ermolin SP. Fiziologicheskie reakcii organizma voennosluzhashchih v uslovijah arkticheskoy zony: dis. kand. med. nauk: 03.03.01. Arhangel'sk, 2015: 139. Russian.
- Ovechkin E, Ovechkin F. Human Pathophysiology in the Conditions of North Russia. *Bulletin of Science and Practice*. 2021.
- Liu J, Ding Y, Liu Z, Liang X. Senescence in mesenchymal stem cells: functional alterations, molecular mechanisms, and rejuvenation strategies. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020; 8: 258.
- Lv H, Liu Q, Zhou J, Tan G, Deng X, Ci X. Daphnetin-mediated Nrf2 antioxidant signaling pathways ameliorate tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)-induced mitochondrial dysfunction and cell death. *Free Radical Biology and Medicine*. 2017; 106: 38–52.
- Vorobeva NA, Vorobeva AI, Marusij AA. Risk jendotelial'noj disfunkcii i obshhaja antioksidantnaja sposobnost' u morjakov v uslovijah arkticheskogo rejsa. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovanij*. 2021; 9 (2): 192–200. Russian.
- Tyrenko VV, Aganov DS, Toporkov MM, Cygan EN, Bologov SG. Rannjaja diagnostika narusheniya mineral'nogo obmena, kak sposob pervichnoj i vtorichnoj profilaktiki perelomov u voennosluzhashchih Arkticheskoy gruppirovki vojsk. *Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii*. 2018; 4: 45–51. Russian.
- Volkova MV, Biryukov SA. Metodicheskie aspekty razrabotki i doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh preparatov v interesah Arkticheskoy mediciny. *Medicina jekstremal'nyh situacij*. 2023; 25 (1): 12–20. Russian.
- Tamama K, Kerpedjjeva SS. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells. *Advances in Wound Care*. 2012; 1 (4): 177–82.
- Myznikov IL, Polishhuk YuS. Sostojanie zdorov'ja, zabolevaemost' i travmatizm u vodolazov, prohodjashchih sluzhbu v Kol'skom Zapoljar'e. *Gigiena i sanitarija*. 2014; 93 (4): 61–66. Russian.
- Revokatova DP, Zurina IM, Gorkun AA, Saburina IN. Sovremennye podhody k sozdaniyu vaskuljarizirovannyh kostnyh bioekvivalentov. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2022; 66 (3): 151–65. Russian.
- Wood T, Thoresen M. Physiological responses to hypothermia. *Seminars in fetal and neonatal medicine*. 2015; 20 (2): 87–96.
- Trupkovic T, Giessler G. Das Verbrennungstrauma—Teil. *Der Anaesthesist*. 2008; 57 (9): 898–907.
- Kotenko PK, Shevcov VI. Analiz mediko-social'nyh faktorov, opredelajushchih perspektivnyj oblik sistemy okazaniya medicinskoj pomoshhi postradavshim v chrezvychajnyh situacijah v Arkticheskoy zone Rossijskoj Federacii. *Morskaja medicina*. 2018; 4 (4): 44–54. Russian.
- Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells*. 2019; 8 (8): 886.
- Yorukoglu AC, Kiter A, Akkaya S, Satiroglu-Tufan NL, Tufan AC. A concise review on the use of mesenchymal stem cells in cell sheet-based tissue engineering with special emphasis on bone tissue regeneration. *Stem cells international*. 2017; 2017.
- Petite H, Viateau V, Bensaid W, Meunier A, de Pollak C, Bourguignon M, et al. Tissue-engineered bone regeneration. *Nature biotechnology*. 2000; 18 (9): 959–63.
- Rangatchew F, Vester-Glowinski P, Rasmussen BS, Haastrop E, Munthe-Fog L, Talman ML, et al. Mesenchymal stem cell therapy of acute thermal burns: A systematic review of the effect on inflammation and wound healing. *Burns*. 2021; 47 (2): 270–94.
- Chang YW, Wu YC, Huang SH, Wang HMD, Kuo YR, Lee SS. Autologous and not allogeneic adipose-derived stem cells improve acute burn wound healing. *PLoS one*. 2018; 13 (5): e0197744.
- Volkova MV, Boyarinsev VV, Trofimenko AV, Rybalkin SP, Kovaleva EV, Biryukov SA, i dr. Jekktivnost' primeneniya mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok dlja lechenija rvano-ushiblenykh ran v uslovijah gipotermii i gipoksii. *Izvestija Rossijskoj Voенно-meditsinskoj akademii*. 2022; 41 (3): 261–68. Russian.
- Volkova MV, Boyarinsev VV, Trofimenko AV, Kovaleva EV, Al Othman A, Melerzanov AV, et al. Local injection of bone-marrow derived mesenchymal stromal cells alters a molecular expression profile of a contact frostbite injury wound and improves healing in a rat model. *Burns*. 2023; 49 (2): 432–43.
- Lai RC, Yeo RWY, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosomes. *Seminars in cell & developmental biology*. 2015; 40: 82–88.
- Yin K, Wang S, Zhao RC. Exosomes from mesenchymal stem/stromal cells: a new therapeutic paradigm. *Biomarker research*. 2019; 7: 1–8.
- Barrientos S, Brem H, Stojadinovic O, Tomic-Canic M. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2014; 22 (5): 569–78.
- El Sadik AO, El Ghamrawy TA, Abd El-Galil TI. The effect of mesenchymal stem cells and chitosan gel on full thickness skin wound healing in albino rats: histological, immunohistochemical and fluorescent study. *PLoS one*. 2015; 10 (9): e0137544.
- Graves DT, Cochran DL. Mesenchymal cell growth factors. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1990; 1 (1): 17–36.
- Misterova AAV. Optimizacija metoda ochistki rekombinantnogo faktora rosta trombocitov cheloveka RHPDGF-BB, poluchennogo v mitil'rofnyh drozhzhah *Pichia Pastoris*. *Prikladnaja biohimija i mikrobiologija*. 2023; 59 (4): 383–91. Russian.
- Muhametov UF, Lyulin SV, Borzunov DYU, Gareev IF, Bejlerli OA. Alloplasticheskie i implantacionnye materialy dlja kostnoj plastiki: obzor literatury. *Kreativnaja hirurgija i onkologija*. 2021; 4: 343–53. Russian.
- Böttcher-Haberzeth S, Biedermann T, Reichmann E. Tissue engineering of skin. *Burns*. 2010; 36 (4): 450–60.
- Radke D, Chen L, Qi S, Zhao F. Prevascularized stem cell sheet for full-thickness skin wound repair. *Vascular Surgery, Neurosurgery, Lower Extremity Ulcers, Antimicrobials, Wound Assessment, Care, Measurement and Repair*. 2020: 167–72.
- Alaribe FN, Manoto SL, Motaung SCKM. Scaffolds from biomaterials: advantages and limitations in bone and tissue

- engineering. *Biologia*. 2016; 71 (4): 353–66. Available from: <https://doi.org/10.1515/biolog-2016-0056>.
45. Hussey GS, Dziki JL, Badylak SF. Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine. *Nature Reviews Materials*. 2018; 3 (7): 159–73.
46. Levengood SKL, Zhang M. Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*. 2014; 2 (21): 3161–84.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

О. Н. Гайкова¹, А. А. Козлов¹, Г. Г. Катрецакая¹, М. В. Мельникова¹, А. С. Мелехова¹, А. А. Бондаренко¹, Ю. О. Соколова¹, Е. Д. Бажанова^{1,2} ✉

¹ Научно-клинический центр токсикологии имени С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

² Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Воздействие различных токсикантов на ткани организма вызывает в них патологические изменения, в итоге приводящие к дистрофическим и некротическим изменениям. Из-за высокой метаболической активности и неспособности клеток к самовозобновлению нервная система наиболее уязвима к влиянию экзогенных веществ как химической, так и биологической природы. Нейротоксиканты приводят к нарушению питания клеток и в итоге к нейродегенерации. Нейроны могут погибать как вследствие апоптоза, так и некроза.

Ключевые слова: токсическое поражение, нервная система, дистрофия, апоптоз, нейродегенерация.

Финансирование: работа проведена в рамках выполнения Государственного задания ФМБА России № 388-00071-24-00 (код темы 64.004.24.800) и при поддержке Государственного задания ИЭФБ РАН № 075-00264-24-00.

Вклад авторов: О. Н. Гайкова, Ю. О. Соколова, Е. Д. Бажанова, А. А. Козлов — анализ литературы, сбор и обработка материала, написание и редактирование текста; Г. Г. Катрецакая, М. В. Мельникова, А. С. Мелехова, А. А. Бондаренко — редактирование, оформление, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Елена Давыдовна Бажанова
ул. Бехтерева, д. 1, г. Санкт-Петербург, Россия; 192019; bazhanovae@mail.ru

Статья получена: 15.05.2024 **Статья принята к печати:** 17.06.2024 **Опубликована онлайн:** 28.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.025

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TOXIC BRAIN DAMAGE

Gaikova ON¹, Kozlov AA¹, Katretskaya GG¹, Melnikova MV¹, Melekhova AS¹, Bondarenko AA¹, Sokolova YuO¹, Bazhanova ED^{1,2} ✉

¹ Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

² Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

The effects of various toxicants on the body tissues cause tissue abnormalities resulting in dystrophic changes and necrosis. The nervous system is the most vulnerable to the effects of exogenic substances, both chemical and biological, due to high metabolic activity and the cells' incapability of self-renewal. Neurotoxicants lead to disturbances of cellular nutrition and eventually to neurodegeneration. Neurons can die due to both apoptosis and necrosis.

Keywords: toxic damage, nervous system, dystrophy, apoptosis, neurodegeneration

Funding: the study was conducted as part of the State Assignment of the FMBA of Russia No. 388-00071-24-00 (theme code 64.004.24.800) and supported by the State Assignment of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS No. 075-00264-24-00.

Author contribution: Gaikova ON, Sokolova YuO, Bazhanova ED, Kozlov AA – literature review, data acquisition and processing, manuscript writing and editing; Katretskaya GG, Melnikova MV, Melekhova AS, Bondarenko AA – editing, formatting, approval of the final version of the article.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena D. Bazhanova
Bekhtereva, 1, Saint-Petersburg, Russia; 192019; bazhanovae@mail.ru

Received: 15.05.2024 **Accepted:** 17.06.2024 **Published online:** 28.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.025

Нормальное функционирование мозга зависит от сложных взаимодействий между нейротрансмиттерами, гормонами, ферментами и электролитами. Многие химически сложные вещества могут вмешаться в эти взаимодействия и нарушить их. В настоящее время известно свыше 100 000 химических соединений, из них 25% способны повредить головной мозг [1]. Вероятно, в окружающей среде присутствует еще много нераспознанных нейротоксинов. Центральная нервная система (ЦНС) в некоторой степени защищена от токсического воздействия гематоэнцефалическим барьером, но некоторые соединения могут беспрепятственно его преодолеть, например, неполярные жирорастворимые вещества. Нейроны уязвимы к токсическому воздействию из-за высокого содержания в них липидов и высокого метаболизма [2].

Воздействие нейротоксинов может вызвать ряд симптомов, все они неспецифичны. Острые токсические энцефалопатии часто проявляются симптомами спутанности сознания, дефицита внимания, судорог и комы. Считается, что большая часть этого созвездия симптомов связана с повреждением капилляров ЦНС, гипоксией и отеком мозга. При правильной и своевременном лечении

неврологические симптомы могут полностью исчезнуть, но даже единовременное воздействие токсина может оставить последствия. При хроническом, незначительном воздействии малых доз токсина симптомы могут проявляться медленно и в течение некоторого времени оставаться незамеченными. Они, как правило, включают изменения настроения, усталость, нарушения памяти и когнитивных функций. После удаления токсина может наступить улучшение, но если энцефалопатия была тяжелой или воздействие длилось продолжительное время, неврологический дефицит может остаться надолго. Время достижения пика выздоровления от хронической энцефалопатии, вызванной токсинами, может занять от нескольких месяцев до нескольких лет [3].

Особенно опасно токсическое воздействие в период формирования мозга. Имеющиеся данные указывают на то, что воздействие повсеместно распространенных токсикантов, таких как мелкие твердые частицы, марганец и многие фталаты, связано с изменением траекторий развития, физического и психического здоровья на протяжении всей жизни [4]. Лабораторные и клинические исследования показали, что развивающийся мозг

отличается уникальной чувствительностью к токсическим агентам [5].

До недавнего времени токсические невропатии и поражения головного мозга считали редкими явлениями и их причинами были в основном отравления алкоголем или побочные эффекты химиотерапевтических агентов. На передний план их вывело развитие новых методов лечения злокачественных новообразований, улучшение диагностики и увеличение их доли в общей заболеваемости. Внедрение иммунотерапии привело к увеличению числа случаев токсических невропатий и необходимости развития методов их диагностики и лечения [6].

Другой проблемой стало применение анестезии. Растет беспокойство тем, что как молодой, так и пожилой мозг может быть уязвим к вредному воздействию многих современных анестетиков. В исследованиях на животных получены убедительные доказательства того, что воздействие седативных средств и анестезии вызывает морфологическое повреждение клеток головного мозга и нейрокognитивные нарушения, однако эти данные трудно экстраполировать на человека. Анестетики могут вызывать апоптоз нейронов и глиальных клеток. Механизмы их токсического воздействия включают возбуждающую нейротрансмиссию, потерю гомеостаза кальция, индукцию нейровоспаления и модуляцию трофических факторов [7].

Основные характеристики токсического поражения нервной системы

Токсическое поражение нервной системы, как и всего организма в целом, характеризуется активацией дистрофических и некротических процессов.

Из-за морфологических особенностей нервной системы и ее высокой уязвимости к неблагоприятным факторам, патологические процессы в ней, особенно в головном мозге, значительно отличаются от таковых в других органах и системах человека. Воздействие на организм новых или недостаточно изученных химических соединений и не известных ранее инфекций ставит

перед патологоанатомами, судебно-медицинскими экспертами, профпатологами задачи по диагностике и лечению этих видов патологии. Одной из задач государственной и биологической безопасности Российской Федерации являются разработка и применение технологий диагностики, лечения и профилактики нарушений здоровья, связанных с негативным воздействием опасных химических и биологических факторов. Головной мозг и нервная система в целом — наиболее уязвимые объекты воздействия как химических, так и биологических патологических агентов. В то же время даже общепатологические процессы, протекающие в нервной ткани, т. е. возможность отдифференцировать норму от патологии в литературе, особенно отечественной, представлены явно недостаточно. Единичные монографии посвящены частным вопросам диагностики опухолей нервной системы [8], сосудистой патологии [9, 10].

В то же время общепатологические процессы, такие как повреждение, атрофия, нарушение кровообращения, воспаление, имеющие в нервной системе свои особенности, изложены только в единичных монографиях [11]. Нейрогистологи уделяют внимание только отдельным элементам ткани головного мозга, чаще всего нейронам [12], и в них описывают такие виды патологии и в таком разнообразии, которое может только запутать патологоанатома. Патология других элементов нервной системы: клеток глии, нейропиля, миелина, внутримозговых сосудов головного мозга — подробно нигде не описана.

Повреждение имеет различные морфологические проявления на клеточном и тканевом уровнях. Повреждения могут быть поверхностные и обратимые или глубокие и необратимые. Можно выделить повреждение отдельной клетки или ткани, на тканевом уровне этот процесс может быть представлен дистрофией и некрозом.

Среди клеточных дистрофий для нервной системы наиболее распространенной считается пигментная дистрофия, проявляющаяся накоплением пигмента-липофусцина, которое происходит как в норме с

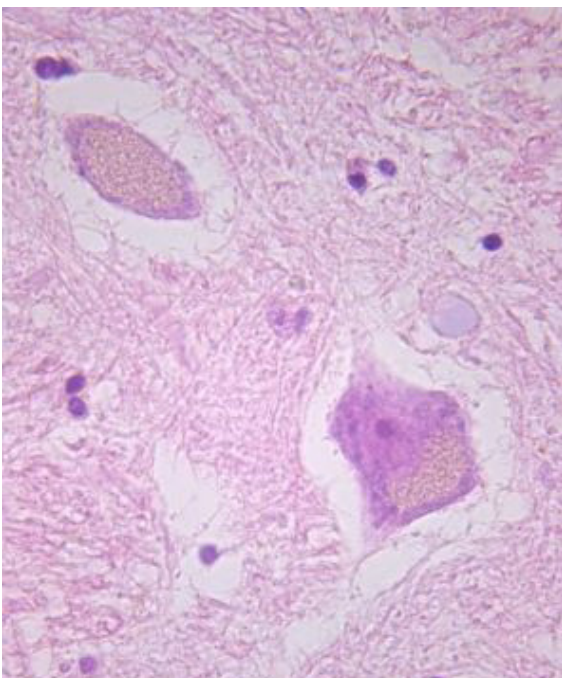


Рис. 1. Липофусцин в цитоплазме нейронов, множественные светло-желтые гранулы, секционный материал. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 630$

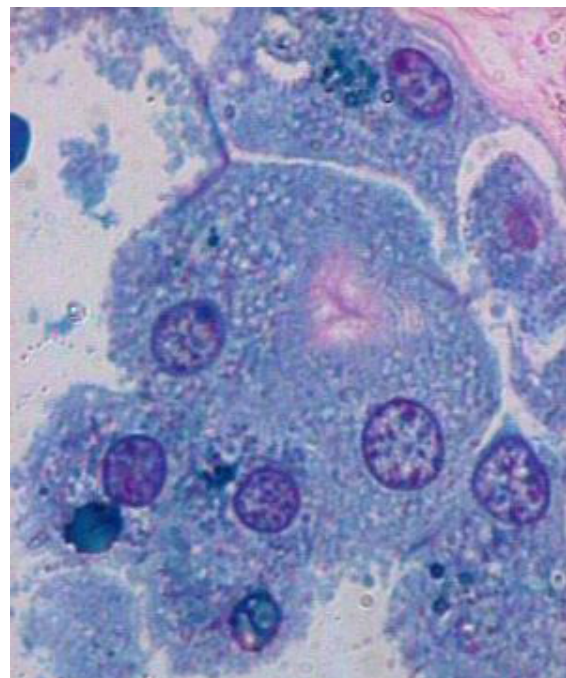


Рис. 2. Липофусцин в эпителии сосудистого сплетения, сине-зеленые гранулы в цитоплазме, секционный материал. Окраска альциановым синим; $\times 1000$

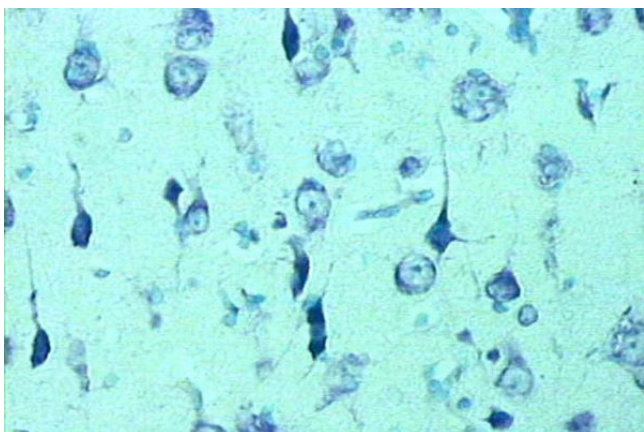


Рис. 3. Кора височной доли, острое набухание нейронов, клетки-тени, темные, сморщенные нейроны, биопсийный материал. Окраска по методу Ниссля; $\times 400$

возрастом, так и при воздействии токсикантов — алкоголя и наркотиков. В большинстве наблюдений липофусцин накапливается в нейронах (рис. 1), но при наркомании патогномичным является накопление его в эпителии сосудистого сплетения (рис. 2), где до 30 лет он не встречается ни в норме, ни при других видах патологии. Также этот пигмент иногда выявляют в астроцитах, олигодендроцитах и перicyтах. Липофусцин представляет собой гликолипопротеид, выявляемый в виде золотистых или коричневых гранул независимо от применяемой окраски. При исследовании с помощью электронной микроскопии эти гранулы имеют различную электронную плотность [13, 14].

Липофусцин состоит из липидов, металлов и неправильно свернутых белков, обладает свойством аутофлуоресценции. Помимо нервной системы, его можно обнаружить в кардиомиоцитах и коже. В ЦНС липофусцин накапливается в виде агрегатов, очерчивая специфический паттерн старения как в физиологических, так и в патологических состояниях, изменяя цитоскелет нейронов, клеточный транспорт и метаболизм, также он связан с потерей нейронов, пролиферацией и активацией глии. Традиционно накопление липофусцина считали вторичным следствием процесса старения, связанного с различными нейродегенеративными расстройствами. Однако новые данные указывают на активную роль агрегатов липофусцина в процессах старения и нейродегенерации [15].

Другой характерный для нервной системы вид дистрофии — гидропическая — проявляется набуханием нейронов в ответ на токсические повреждения. Острое набухание обратимо и связано с избыточным накоплением жидкости в клетке. Нейрон при этом округляется, цитоплазма и ядро светлеют, теряется тигроид. Причиной развития такой дистрофии может быть гипоксия, интоксикация и другие факторы, ведущие к повреждению клетки и увеличению осмоляльности ее цитоплазмы.

Резкое снижение осмоляльности плазмы вызывает быстрое поглощение воды астроцитами, но не нейронами, тогда как оба типа клеток набухают вследствие ишемии. Однако эти нарушения принципиально различны на клеточном уровне. Астроциты осмотически набухают или сжимаются, поскольку в них экспрессируются функциональные водные каналы, аквапорины, тогда как в нейронах функциональные аквапорины отсутствуют, и поэтому они сохраняют объем. Тем не менее, как нейроны, так и астроциты немедленно набухают, когда приток крови

к мозгу нарушается после начала инсульта, внезапной остановки сердца или черепно-мозговой травмы. В каждой ситуации набухание нейронов является прямым результатом распространяющейся деполяризации (SD), возникающей при нарушении работы АТФ-зависимой натрий/калиевой АТФазы (насос Na^+/K^+). Хотя эти механизмы до конца не изучены, они опровергают догму о том, что набухание нейронов связано с поглощением воды, управляемым осмотическим градиентом с аквапоринами в качестве проводника [16].

Когда токсикант прекращает действие, нейрон может снова вернуться в нормальное состояние, приняв треугольную форму, но если повреждения слишком сильны и необратимы, он превращается в «клетку-тень». Такие изменения характерны для острого отравления угарным газом [17, 18] и нейротоксических последствий отравлений веществами судорожного действия [19].

Еще одним вариантом дистрофии может быть появление темных нейронов. При исследовании с помощью световой микроскопии они кажутся уменьшенными в объеме, имеют, как правило, палочковидную форму, резко окрашены гематоксилином либо тионином, ядро в них практически не визуализируется. Одинаковые при световой микроскопии, эти клетки под электронным микроскопом могут быть разделены на два вида: первый — это предшественники некроза, за которым следует пикноз и рексис ядра и цитоплазмы, а второй (более частый) — это состояние напряжения нейрона, его повышенной активности с накоплением органелл. В некоторых участках коры преобладает только один тип изменений, чаще это острое набухание, но в некоторых полях зрения могут сочетаться и острое набухание и темные, сморщенные нейроны (рис. 3).

Такие нейроны тоже не обязательно погибнут. В эксперименте по моделированию септопластики у крыс появление темных и р53-позитивных нейронов в гиппокампе можно рассматривать как типичный ответ нервной ткани на стресс. Пик роста экспрессии белка р53 в цитоплазме нейронов полей CA1 и CA2 приходился на 2–4-е сутки после операции, а на 6-е сутки количество этих нейронов уменьшалось. Предположительно, белок р53 может не только запускать активацию поврежденных нейронов гиппокампа, но и играть нейропротекторную роль [20].

Для различных участков коры головного мозга характерны разные дистрофические изменения, но где-то они могут сочетаться, и в поле зрения видно, как набухшие, так и темные сморщенные клетки.

Характерной особенностью нервной системы является наличие миелиновых оболочек вокруг отростков нейронов — аксонов и они тоже могут подвергаться атрофии. В литературе, как отечественной [11], так и зарубежной [21, 22, 23], вариантам миелинопатий уделяется мало внимания. Рассматривают лишь процессы демиелинизации, основной причиной которой считается гибель олигодендроглиоцитов [22, 24]. Более детальные классификации повреждений миелиновой оболочки отсутствуют, как нет и единой общепринятой. Это же характерно для патологий аксонов. Токсические периферические невропатии являются важной формой приобретенной полиневропатии, вызываемой различными ксенобиотиками и токсикантами. Первичное повреждение происходит в наиболее дистальных частях нервов, в частности, в толстомиелинизированных аксонах большого диаметра с самым высоким метаболизмом. Начальное поражение представляет собой отек и изменение цвета

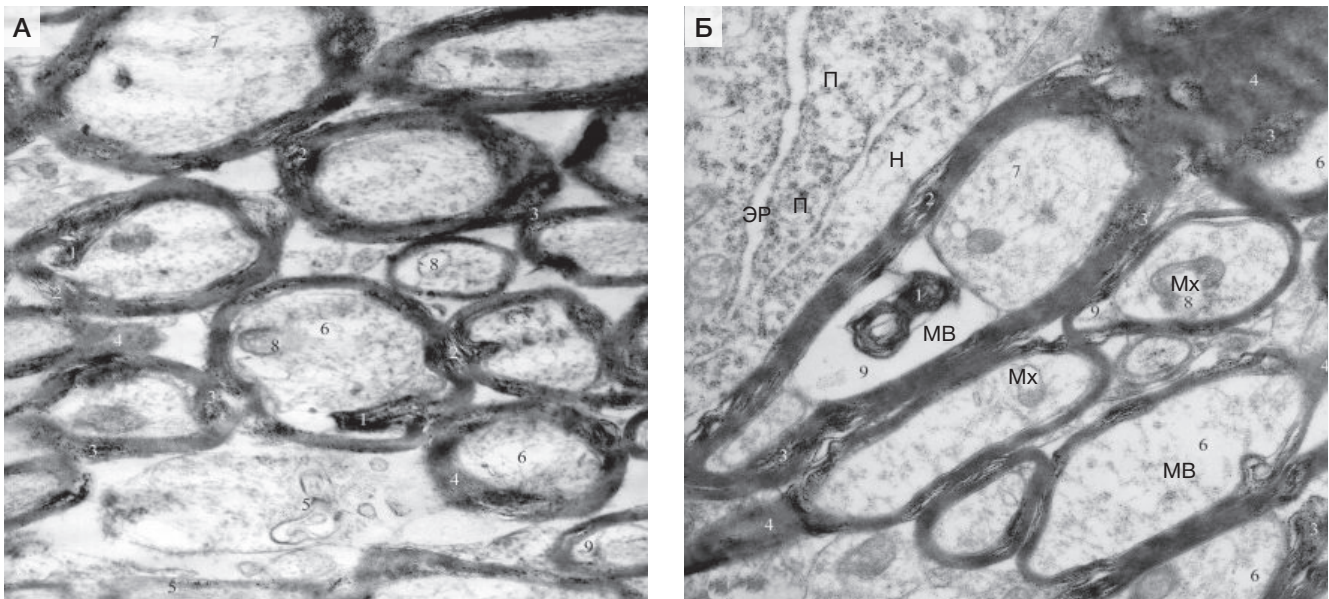


Рис. 4. Изменения миелиновых волокон белого вещества. **А.** $\times 20\,000$. **Б.** $\times 16\,000$. МВ — миелиновое волокно; Н — нейрон; ЭР — эндоплазматический ретикулум; П — полисомы; Мх — митохондрия; 1 — нарушение конфигурации миелиновой оболочки; 2 — расслоение; 3 — зернистый распад; 4 — гомогенизация; 5 — демиелинизация; 6 — просветление матрикса осевого цилиндра; 7 — дезориентация нейрофиламентов; 8 — деструкция митохондрий; 9 — периаксональный отек, экспериментальный материал (крысы). Электронограммы.

(бледность либо усиление интенсивности окрашивания), которое со временем переходит к фрагментации аксона. Прилегающая миелиновая оболочка разрушается в результате вторичной реакции. Основным поражением является сегментарная демиелинизация. Остатки нервных волокон разлагаются шванновскими клетками, которые могут функционировать как фагоциты, или проникающими макрофагами [25].

Среди изменений миелиновой оболочки на микроскопическом уровне при световой микроскопии и электронной выделяют разволокнение, расслоение, зернистый распад, гомогенизацию и демиелинизацию. Лишившийся миелина аксон подвергается отеку и деструкции осевого цилиндра.

Миелинопатия

1. Расслоение — нарушение периодичности плотно прилегающих друг к другу слоев миелиновой оболочки с образованием между отдельными ламеллами расширенных участков со значительными пустотами.

2. Разволокнение — нарушение конфигурации миелиновой оболочки — вид деформации миелина, при котором наблюдается несоответствие длины окружности осевого цилиндра и покрывающей его миелиновой оболочки, в результате чего образуются выпячивания складок ламелл как наружу, так и внутрь волокна.

3. Зернистый распад — вид локальной деструкции миелиновой оболочки, при которой строгая упорядоченность слоев миелина заменяется гранулярной фрагментацией мембран.

4. Гомогенизация миелина — вид локальной или тотальной деструкции миелиновой оболочки, характеризующийся ферментативным распадом мембран до состояния дисперсности различной электронной плотности.

Нередко наблюдаются сочетания расслоения с разволокнением миелиновой оболочки, а также зернистый распад с гомогенизацией миелина (рис. 4А, Б).

5. Демиелинизация — истончение миелиновой оболочки за счет резкого уменьшения количества ламелл,

составляющих ее структуру, или полное отсутствие миелиновой оболочки.

6. Ремиелинизация — восстановление истонченной миелиновой оболочки.

7. Гипермиелинизация — чрезмерное увеличение количества ламелл в миелиновой оболочке, приводящее к выраженному сужению осевого цилиндра [11].

Демиелинизация встречается часто при множестве патологий, но ее роль изучена недостаточно и не считается ведущей.

В лучевой диагностике существует термин «лейкоареоз». При сопоставлении посмертных МРТ и данных морфологии выявлено, что одним из видимых эквивалентов этого МРТ-феномена является разрежение нейропиля, сопровождающееся демиелинизацией.

Некроз — это гибель клеток или тканей в живом организме. Гибель отдельных клеток может происходить как путем некроза, так и апоптоза (запрограммированной гибели клеток). Понятие «некроз» патологоанатому хорошо знакомо, а понятие апоптоз относительно новое, и его диагностика может вызывать некоторые трудности, так как речь идет о поражении клеток при отсутствии воспаления и лизиса клетки.

Апоптоз

Световая микроскопия позволяет предположить наличие апоптоза. Характерным признаком начала апоптоза являются конденсация хроматина в ядре клетки, которое затем фрагментируется, каждый фрагмент окружается цитоплазмой и формируется апоптоидное тельце, которые поглощаются макрофагами. Для диагностики апоптоза используют электронную микроскопию, иммуногистохимические методы и метод обнаружения апоптоза TUNEL. Программированная гибель клеток определялась при большинстве хронических заболеваний и токсических поражений нервной системы. Иммуногистохимические исследования головного мозга людей показали, что нейроны коры дают положительную реакцию с онкосупрессором p53, контролирующим состояние ДНК в клетке и запускающим программу клеточной

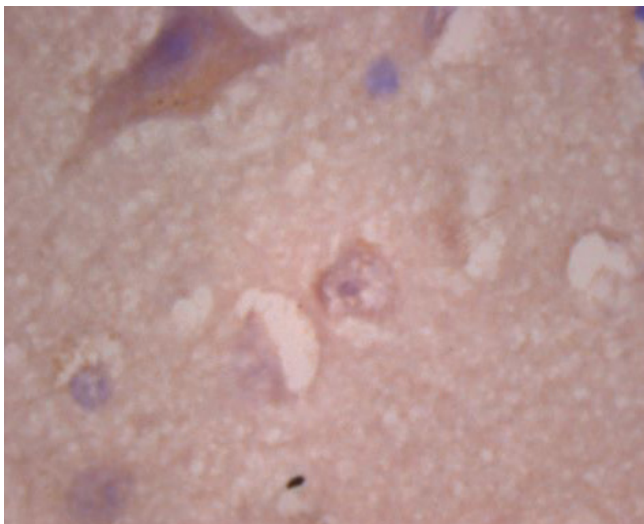


Рис. 5. В ядре «нейрона деменции» определяется ген-онкосупрессор. В цитоплазме крупного нейрона типичного строения большое количество липофуцина (секционный материал). Иммуногистохимическая реакция p53; $\times 1000$

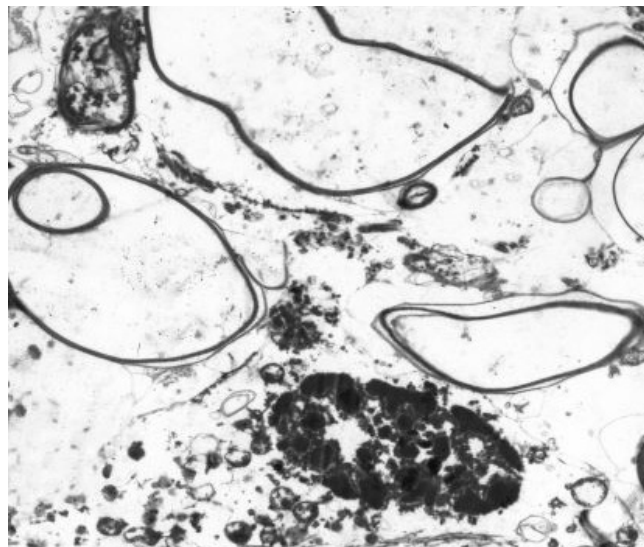


Рис. 6. Участки белого вещества. Нитевидное миелиновое волокно с прозрачными осевыми цилиндрами. Рядом олигодендроцит с признаками апоптоза (секционный материал). Электроннограмма; $\times 5000$

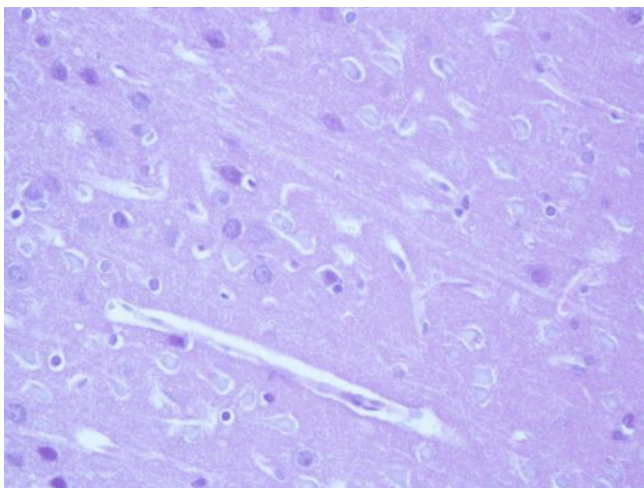


Рис. 7. Кора головного мозга. Расширены периваскулярные пространства. Большинство нейронов — «клетки-тени», единичные — с явлениями нейронофагии. Очаги выпадения нейронов, экспериментальный материал (крысы). Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

гибели (апоптоза) при повреждении ДНК и невозможности репарации (рис. 5, 6).

Некроз клеток, в частности нейронов, может идти двумя путями: цитолиза и циторексиса. Цитолиз для нейрона — это продолжение процесса острого набухания, когда он переходит в необратимую стадию «клетки-тени», а циторексис развивается в исходе сморщивания нейронов с дальнейшим распадом его ядра на фрагменты.

Клинико-морфологическими формами некроза головного мозга являются прямые (травматическое и токсическое повреждение) и не прямые некрозы — чаще всего связанные с нарушениями кровообращения. Для токсического повреждения ткани головного мозга наиболее характерны мелкие очаги некроза, часто элективного, при котором повреждаются только некоторые элементы ткани, а часть из них сохраняется (рис. 7–8), такие очаги проявляются разрежением нейрона и глиопенией [11].

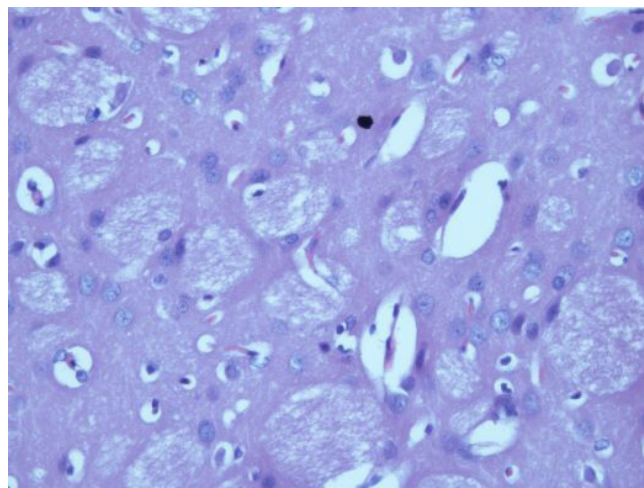


Рис. 8. Головной мозг, подкорковые ядра. Периваскулярные пространства значительно расширены. Большинство нейронов не изменены, выраженное разрежение нейрона проводящих путей, экспериментальный материал (крысы). Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в основе токсического поражения головного мозга, чем бы оно ни было вызвано (отравляющие или лекарственные вещества, бактерии, простейшие или вирусы, эндогенные токсиканты, лекарственные препараты, алкоголь, черепно-мозговая травма и т. д.), лежат общие патологические механизмы, такие как нейровоспаление, атрофические и дистрофические явления, поражение нейронов и глиального компонента, которое может закончиться гибелью клеток различными способами, включая апоптоз и некроз.

Изменения морфологии клеток могут носить как обратимый, так и не обратимый характер, в разной степени и по-разному проявляясь в отделах головного мозга. Из-за их неспецифичности в настоящее время эти изменения изучены недостаточно, хотя эти сведения необходимы для выбора оптимального лечения и снижения опасных последствий ряда медицинских манипуляций.

Литература

1. Катаманова Е. В., Рукавишников В. С., Лакман О. Л., Шевченко О. И., Денисова И. А. Когнитивные нарушения при токсическом поражении мозга. Журнал неврологии и психиатрии. 2015; 2: 11–15.
2. Dobbs RM. Toxic encephalopathy. *Semin Neurol*. 2011; 31 (2): 184–93.
3. Eicher T, Avery E. Toxic encephalopathies. *Neurol Clin*. 2005; 23 (2): 353–76.
4. Wylie AC, Short SJ. Environmental Toxicants and the Developing Brain. *Biol Psychiatry*. 2023; b93 (10): b921–33.
5. Gagnon-Chauvin A, Bastien K, Saint-Amour D. Environmental toxic agents: The impact of heavy metals and organochlorides on brain development. *Handb Clin Neurol*. 2020; 173: 423–42.
6. McNeish BL, Kolb N. Toxic Neuropathies. *Continuum (Minneapolis)*. 2023; 29 (5): 1444–68.
7. Brambrink AM, Orfanakis A, Kirsch JR. Anesthetic neurotoxicity. *Anesthesiol Clin*. 2012; 30 (2): 207–28.
8. Мацко Д. Е., Коршунов А. Г. Атлас опухолей центральной нервной системы. СПб.: Изд. РНХИ им. проф. А. Л. Поленова, 1998; 200 с.
9. Гулевская Т. С., Моргунув В. А. Патологическая анатомия нарушений мозгового кровообращения при атеросклерозе и артериальной гипертензии. М.: Медицина, 2009; 294 с.
10. Медведев Ю. А., Забродская Ю. М. Новая концепция происхождения бифуркационных аневризм артерий основания головного мозга. СПб.: Эскулап, 2000; 168 с.
11. Гайкова О. Н., Ананьева Н. И., Забродская Ю. М. Морфологические проявления общепатологических процессов в нервной системе. СПб.: Весь, 2015; 158 с.
12. Ермохин П. Н. Гистопатология центральной нервной системы. М.: Медицина, 1969; 244 с.
13. Литвинцев Б.С. Неврологические нарушения при наркомании: принципы диагностики и терапии. Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова. СПб.: ВмедА, 2018; 167 с.
14. Литвинцев Б. С. Поражения нервной системы при наркомании. Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова. СПб.: ВмедА, 2018; 160 с.
15. Moreno-García A, Kun A, Calero O, Medina M, Calero M. An Overview of the Role of Lipofuscin in Age-Related Neurodegeneration. *Front Neurosci*. 2018; 12: 464.
16. Hellas JA, Andrew RD. Neuronal Swelling: A Non-osmotic Consequence of Spreading Depolarization. *Neurocrit Care*. 2021; 35 (2): 112–34.
17. Ким А. А., Индиаминов С. И., Ассатулаев А. Ф. Особенности поражения структуры головного мозга при отравлении угарным газом на фоне термической травмы и алкогольной интоксикации. Журнал биомедицины и практики. 2021; 6 (4): 247–54.
18. Петров Л. В., Салова И. Ю. Характеристика очаговых изменений головного мозга при остром отравлении окисью углерода. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2012; XIX (2): 61–64.
19. Петров А. Н., Войцехович К. О., Мелехова А. С., Лисицкий Д. С., Бельская А. В., Михайлова М. В., и др. Проблемы диагностики нейротоксических нарушений — последствий отравлений веществами судорожного действия. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2017; 3 (59): 211–17.
20. Torshin VI, Kastyro IV, Reshetov IV, Kostyaeva MG, Popadyuk VI. The Relationship between p53-Positive Neurons and Dark Neurons in the Hippocampus of Rats after Surgical Interventions on the Nasal Septum. *Dokl Biochem Biophys*. 2022; 502 (1): 30–35.
21. Blümcke I, Thom M, Aronica E, et al. The clinic-pathologic spectrum of focal cortical dysplasias: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission. *Epilepsia*. 2011; 52 (1): 158–74.
22. Hu X, Wang JY, Gu R, Qu H, Li M, Chen L, et al. The relationship between the occurrence of intractable epilepsy with glial cells and myelin sheath — an experimental study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016; 20 (21): 4516–24. PMID: 27874947.
23. Lapato AS, Szu JI, Hasselmann JPC, et al. Chronic demyelination-induced seizures. *Neuroscience*. 2017; 27 (346): 409–22.
24. Kim SH, Choi J. Pathological Classification of Focal Cortical Dysplasia (FCD): personal comments for well understanding FCD classification. *J Korean Neurosurg Soc*. 2019; 62 (3): 288–95.
25. Lanigan LG, Russell DS, Woolard KD, Pardo ID, Godfrey V, Jortner BS, et al. Comparative Pathology of the Peripheral Nervous System. *Vet Pathol*. 2021; 58 (1): 10–33.

References

1. Katamanova EV, Rukavishnikov VS, Lahman OL, Shevchenko OI, Denisova IA. Kognitivnye narusheniya pri toksicheskom porazhenii mozga. *Zhurnal neurologii i psikiatrii*. 2015; 2: 11–15. Russian.
2. Dobbs RM. Toxic encephalopathy. *Semin Neurol*. 2011; 31 (2): 184–93.
3. Eicher T, Avery E. Toxic encephalopathies. *Neurol Clin*. 2005; 23 (2): 353–76.
4. Wylie AC, Short SJ. Environmental Toxicants and the Developing Brain. *Biol Psychiatry*. 2023; b93 (10): b921–33.
5. Gagnon-Chauvin A, Bastien K, Saint-Amour D. Environmental toxic agents: The impact of heavy metals and organochlorides on brain development. *Handb Clin Neurol*. 2020; 173: 423–42.
6. McNeish BL, Kolb N. Toxic Neuropathies. *Continuum (Minneapolis)*. 2023; 29 (5): 1444–68.
7. Brambrink AM, Orfanakis A, Kirsch JR. Anesthetic neurotoxicity. *Anesthesiol Clin*. 2012; 30 (2): 207–28.
8. Macko DE, Korshunov AG. Atlas opuholej central'noj nervnoj sistemy. SPb.: Izd. RNHI im. prof. A. L. Polenova, 1998; 200 s. Russian.
9. Gulevskaja TS, Morgunov VA. Patologicheskaja anatomija narushenij mozgovogo krovoobrashhenija pri ateroskleroze i arterial'noj gipertenzii. M.: Medicina, 2009; 294 s. Russian.
10. Medvedev YuA, Zabrodskaja YuM. Novaja koncepcija proishozhdenija bifurkacionnyh anevrizm arterij osnovanija golovnogogo mozga. SPb.: Jeskulap, 2000; 168 s. Russian.
11. Gaikova ON, Ananeva NI, Zabrodskaja YuM. Morfologicheskie projavlenija obshhepatologicheskikh processov v nervnoj sisteme. SPb.: Ves', 2015; 158 s. Russian.
12. Ermohin PN. Gistopatologija central'noj nervnoj sistemy. M.: Medicina, 1969; 244 s. Russian.
13. Litvincev BS. Nevrologicheskie narusheniya pri narkomanii: principy diagnostiki i terapii. Voenno-medicinskaja akademija imeni S. M. Kirova. SPb.: VmedA, 2018; 167 s. Russian.
14. Litvincev BS. Porazhenija nervnoj sistemy pri narkomanii. Voenno-medicinskaja akademija imeni S. M. Kirova. SPb.: VMedA, 2018; 160 s. Russian.
15. Moreno-García A, Kun A, Calero O, Medina M, Calero M. An Overview of the Role of Lipofuscin in Age-Related Neurodegeneration. *Front Neurosci*. 2018; 12: 464.
16. Hellas JA, Andrew RD. Neuronal Swelling: A Non-osmotic Consequence of Spreading Depolarization. *Neurocrit Care*. 2021; 35 (2): 112–34.
17. Kim AA, Indiaminov SI, Assatulaev AF. Osobennosti porazhenija struktury golovnogogo mozga pri otravlenii ugarnym gazom na fone termicheskoj travmy i alkogol'noj intoksikacii. *Zhurnal biomeditsiny i praktiki*. 2021; 6 (4): 247–54. Russian.
18. Petrov LV, Salova IYu. Harakteristika ochagovyh izmenenij golovnogogo mozga pri ostrom otravlenii oksis'ju ugljeroda. Uchenye zapiski SPbGIMU im. akad. I. P. Pavlova. 2012; XIX (2): 61–64. Russian.
19. Petrov AN, Vojcehovich KO, Melekhova AS, Lisickij DS, Belskaja AV, Mihajlova MV, i dr. Problemy diagnostiki nejrotoksicheskikh narushenij — posledstvij otravlenij veshhestvami sudorozhnogo dejstvija. *Vestnik Rossijskoj voenno-medicinskoj akademii*. 2017; 3 (59): 211–17. Russian.
20. Torshin VI, Kastyro IV, Reshetov IV, Kostyaeva MG, Popadyuk VI. The Relationship between p53-Positive Neurons and Dark Neurons in

- the Hippocampus of Rats after Surgical Interventions on the Nasal Septum. *Dokl Biochem Biophys.* 2022; 502 (1): 30–35.
21. Blümcke I, Thom M, Aronica E, et al. The clinic-pathologic spectrum of focal cortical dysplasias: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission. *Epilepsia.* 2011; 52 (1): 158–74.
 22. Hu X, Wang JY, Gu R, Qu H, Li M, Chen L, et al. The relationship between the occurrence of intractable epilepsy with glial cells and myelin sheath — an experimental study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016; 20 (21): 4516–24. PMID: 27874947.
 23. Lapato AS, Szu JI, Hasselmann JPC, et al. Chronic demyelination-induced seizures. *Neuroscience.* 2017; 27 (346): 409–22.
 24. Kim SH, Choi J. Pathological Classification of Focal Cortical Dysplasia (FCD): personal comments for well understanding FCD classification. *J Korean Neurosurg Soc.* 2019; 62 (3): 288–95.
 25. Lanigan LG, Russell DS, Woolard KD, Pardo ID, Godfrey V, Jortner BS, et al. Comparative Pathology of the Peripheral Nervous System. *Vet Pathol.* 2021; 58 (1): 10–33.

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КОСМОНАВТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРОГРАВИТАЦИИ

К. В. Латарцев^{1,2}✉, П. Н. Демина¹, В. А. Яшина^{1,2}, Р. Р. Каспранский¹

¹ Федеральный научно-клинический центр космической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Во время космического полета космонавты вынуждены приспосабливаться к новым специфическим условиям окружающей среды. Это приводит к накоплению изменений в организме, которые в конечном счете могут вызывать нежелательные последствия, способные оказывать негативное влияние на успех проводимой миссии. В обзоре рассмотрены публикации, посвященные функциональным и структурным изменениям головного мозга, происходящим во время космического полета. Основным фактором, вызывающим описываемые изменения, считается микрогравитация, приводящая к перераспределению жидкости в организме, а также обуславливающая адаптационные нейронные перестройки на микроструктурном уровне. Помимо этого, затрагиваются и другие факторы космического полета, способные оказывать влияние на головной мозг. Рассмотрены также публикации, на основе которых можно выдвигать предположения о конкретных причинах наблюдаемых морфофункциональных перестроек в головном мозге космонавтов.

Ключевые слова: микрогравитация, головной мозг, нейропластичность, функциональная связность, микроструктурные изменения, соматосенсорная адаптация, перераспределение жидкости

Финансирование: обзор выполнен за счет средств, предоставленных для выполнения государственного задания «Структурные и функциональные изменения головного мозга человека и их влияние на операторскую деятельность на различных сроках адаптации к условиям моделированной микрогравитации» (шифр «Церебрум-А»).

Вклад авторов: К. В. Латарцев — анализ источников, написание текста, редактирование; П. Н. Демина — поиск источников, анализ источников; В. А. Яшина — поиск источников, анализ источников; Р. Р. Каспранский — разработка концепции, поиск источников, редактирование рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Константин Владимирович Латарцев
ул. Щукинская, д. 5, ст. 2, г. Москва, 123182, Россия; k.latartsev@gmail.com

Статья получена: 19.01.2024 **Статья принята к печати:** 07.02.2024 **Опубликована онлайн:** 03.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.008

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE BRAIN OF COSMONAUTS UNDER THE INFLUENCE OF MICROGRAVITY

Latartsev KV^{1,2}✉, Demina PN¹, Yashina VA^{1,2}, Kaspranskiy RR¹

¹ Federal Research and Clinical Center of Space Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

During a space flight, cosmonauts have to adapt to new unique environmental conditions. As a result, they accumulate changes to their bodily systems that can eventually cause undesirable consequences potentially detrimental to the success of the mission. The review examines research papers investigating functional and structural changes occurring in the brain in the context of a spaceflight. Microgravity is believed to be the main factor behind the said changes: it causes redistribution of fluid in the body and conditions adaptive neural rearrangements at the microstructural level. Other elements peculiar to a spaceflight that can have this or that effect on the brain are also considered. In addition, this review scopes publications that allow assumptions about the specific causes of the registered morphofunctional alterations in the brain of cosmonauts.

Keywords: microgravity, brain, neuroplasticity, functional connectivity, microstructural changes, somatosensory adaptation, fluid redistribution

Funding: the review was supported financially under the State Task "Structural and functional changes in the human brain and their effect on operator actions at different timepoints of the term of adaptation to simulated microgravity" (code "Cerebrum A").

Author contribution: Latartsev KV — analysis of source materials, article authoring and editing; Demina PN — search for source materials, analysis thereof; Yashina VA — search for source materials, analysis thereof; Kaspranskiy RR — study conceptualization, search for source materials, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Konstantin V. Latartsev
Shchukinskaya, 5, st. 2, Moscow, 123182, Russia; k.latartsev@gmail.com

Received: 19.01.2024 **Accepted:** 07.02.2024 **Published online:** 03.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.008

Во время космического полета головной мозг, как и другие органы и ткани (например, мышцы и кости), подвергается структурным и функциональным перестройкам в результате действия факторов космического полета [1]. На сегодняшний день известно, что микрогравитация, длительная изоляция, радиация, нарушение сна и циркадианных ритмов влияют на психофизиологию человека, нарушая функционирование различных отделов мозга [2–4]. Микрогравитацией называется состояние, при котором ускорение, вызванное гравитацией ближайшего космического объекта, крайне мало, при этом физические объекты кажутся невесомыми. Микрогравитация

подразумевает наличие устойчивого фонового ускорения порядка $1 \times 10^{-6} g$. К настоящему времени накоплено большое количество информации, полученной в ходе исследований влияния условий микрогравитации на физиологию головного мозга. Описывают как структурные, так и функциональные изменения, происходящие в головном мозге при воздействии данного фактора космического полета: нарушение вестибулярной функции, нейропластическая адаптация, а также перераспределение жидкости в организме, которая смещается в верхнюю часть тела, что приводит к увеличению внутричерепного давления (ВЧД) и многим сопутствующим эффектам.

Изменения в работе головного мозга, возникающие в результате адаптации к условиям космического полета, могут стать проблемой при экспедициях в дальний космос, поэтому изучение вопроса влияния микрогравитации как неотъемлемого явления и одного из основных компонентов космических полетов на головной мозг — это важная задача.

Влияние микрогравитации на объемные характеристики структур мозга

Перераспределение жидкости в организме космонавта — одна из основных проблем, возникающих во время космического полета. В условиях земной гравитации гидростатическое давление жидкости в организме человека распределено по градиенту и увеличивается в направлении от головы к нижним конечностям. При попадании в условия микрогравитации данный градиент пропадает, в результате более слабые силы, такие как поверхностное натяжение, становятся доминирующими и управляют поведением жидкости, обеспечивая ее перераспределение. Сосудистая сеть верхней части тела, спинномозговые оболочки, интерстициальные ткани и, возможно, лимфатическая система становятся, вероятно, хранилищами большей части перераспределенной жидкости [5]. Данный эффект приводит к различным изменениям, в том числе в центральной нервной системе. Так, было зафиксировано сужение ликворных пространств в областях центральной и шпорной борозды и смещение мозга вверх в пределах свода черепа [6]. В то же время сообщали о послеполюетном расширении ликворных пространств вдоль вентральной поверхности мозга и желудочков, уменьшении объема серого вещества, которое наблюдали в орбитофронтальной и височной коре головного мозга без изменений в общем объеме серого и белого веществ [7, 8], а также увеличении объема свободной воды в лобной, височной и затылочной долях после космического полета [9]. Более того, было выяснено, что длительный космический полет (ДКП) приводит к увеличению динамики спинномозговой жидкости (СМЖ) в области водопровода мозга, а также суммарному расширению мозга в целом и увеличению объемов СМЖ. Было показано, что ДКП сопровождаются прогрессирующим повышением среднего и пульсового ВЧД, вызванным, в свою очередь, увеличением суммарных объемов мозга и спинномозговой жидкости в черепе. Сообщали также о приросте объема белого вещества и деформации гипофиза у 6 из 11 членов экипажа после ДКП [10]. В одном из исследований, где оценивали количество и морфологию перивентрикулярного белого вещества (ПБС), было показано увеличение общего объема ПБС после полета у космонавтов, впервые отправлявшихся в экспедицию, тогда как у опытных членов экипажа этого не отмечали [11]. Эти наблюдения подтверждают другие исследования, в которых ученые обнаруживают связь между длительностью космических полетов и степенью увеличения желудочков мозга [12].

Однако перераспределение жидкости — не единственная причина, обеспечивающая изменения объемных характеристик головного мозга. Определенный вклад в данный эффект вносят микроструктурные изменения, речь о которых пойдет в последующих разделах.

Влияние микрогравитации на сенсорные системы

Продолжительное пребывание членов экипажа в условиях микрогравитации приводит к нарушению когнитивных

способностей человека, астении, а также искажению ориентации. Помимо этого, результаты послеполюетных и модельных исследований показывают снижение работоспособности и способности к обучению, в реализации которых задействованы высшие психические функции [13, 14]. Понятно, что сенсомоторный контроль человека развивался в условиях земной гравитации и ее резкое изменение может привести к негативным эффектам. Были проведены исследования влияния моделированной гипергравитации, а также реальной и моделированной микрогравитации, при которых были обнаружены различия по сравнению с земной гравитацией, заключающиеся в снижении точности и скорости движений рук, причем более заметные изменения фиксировали при движении руки вверх, нежели вниз. Было также показано изменение в активности мышц верхнего плечевого пояса, которое увеличивалось в соответствии с тем, насколько параллельно вектору силы тяжести направлено действие данной мышцы. Например, действие грудной мышцы направлено перпендикулярно силе тяжести, и в эксперименте гравитационные изменения влияли на нее меньше всего [15, 16]. Данные выводы были подтверждены в последующих исследованиях. Предположительно, сенсомоторная система могла воспринимать изменения веса, возникающие из-за изменений в силе тяжести, как увеличение или уменьшение массы предмета в руке, а также самой руки, хотя на самом деле масса оставалась неизменной. В случае микрогравитации это приводило к уменьшению ускорения и увеличению продолжительности движения, а в случае гипергравитации — к снижению точности и увеличению длительности движения, причем последний эффект, вероятно, был обусловлен увеличением степени когнитивного контроля. Такая увеличенная обратная связь, судя по всему, способствовала компенсации снижения точности [17]. Данные эксперименты показывают, что в условиях микрогравитации существует потребность в дополнительном когнитивном контроле движений, и это, судя по всему, приводит к нехватке нейронных ресурсов из-за сенсомоторной адаптации к микрогравитации. Данный процесс, в свою очередь, приводит к снижению способности одновременного выполнения когнитивной и моторной задач во время полета [18]. Результаты наземных аналогов, имитирующих отдельные эффекты состояния невесомости, также показывают перестройки в сенсомоторной и пространственной рабочей памяти, приводящие к снижению способности решения сложных заданий и сдвигам в психоэмоциональном состоянии [19, 20].

Влияние микрогравитации на структурные изменения в головном мозге

Процесс приспособления к особенностям движений и выполнения различных задач в условиях микрогравитации происходит вместе со структурными изменениями в отделах и путях головного мозга, связанных в основном с двигательной активностью. Так, с помощью метода функциональной магнитно-резонансной томографии было установлено, что продолжительное нахождение человека в условиях невесомости способствует перестройкам в вестибулярной и двигательной областях головного мозга, показывая преимущественные изменения мозжечка, корковых сенсомоторных и соматосенсорных областей, а также вестибулярных путей, сопровождающиеся изменением количества синапсов и аксональной

дегенерацией [21, 22]. Оказалось также, что эффекты микрогравитации вызывают микроструктурные изменения мозга, в частности, в сенсомоторных трактах [23]. В 2016 г. ученые отметили уменьшение количества серого вещества в лобной и височной долях, в области орбитофронтальной коры, а также в билатеральных медиальных отделах средних ножек мозжечка, причем изменения в некоторых регионах мозга были значительно более выражены после ДКП [24]. Были также обнаружены изменения белого вещества в правом верхнем и нижнем продольных пучках, кортикоспинальном тракте и ножках мозжечка [9]. В 2022 г. были обнаружены значительные микроструктурные изменения в мозолистом теле, дугообразном пучке, кортикоспинальном, кортикостриарном и мозжечковом тракте [23]. Перечисленные открытия свидетельствуют о наличии механизмов адаптивной нейропластичности, которые включаются при попадании человека в измененные условия окружающей среды. Увеличение объема белого вещества в мозжечке после космического полета также служит четким свидетельством включения данных механизмов [25]. Более того, отечественными учеными также было продемонстрировано наличие адаптивной нейропластичности у российских космонавтов [26].

Во время перестройки, происходящие в головном мозге во время ДКП, снижают приспособленность человека к условиям уже земной гравитации. Так, в ходе послеполетных исследований космонавтов выявлены нарушения в работе прецентральной и постцентральной извилин, отвечающих за произвольные движения и проприоцепцию, соответственно, а также в работе мозжечка, который ответственен за координацию движений. Поражение данных областей головного мозга приводит к соматосенсорным расстройствам, проблемам с точностью и скоростью произвольных движений, проблемам синхронизации движений [27]. Наблюдения космонавтов показывают, что в день приземления они испытывают атаксию, проявляющуюся в нарушениях координации движений и способности поддерживать позу, что указывает на дисфункцию вестибулярной системы и нарушенную проприорецепцию. Кроме того, нарушение координации движений фиксируют и через три дня после полета, но уже без головокружения [2]. После космического полета также наблюдают хорошо документированные изменения сенсомоторных характеристик человека, включая послеполетное снижение двигательной активности, равновесия и мелкой моторики [18]. При изучении неблагоприятного воздействия микрогравитации, связанного с изменением соматосенсорных и вестибулярных сигналов, на сенсомоторную систему, обнаружили значительные изменения в объеме серого вещества головного мозга. Антиортостатическая гипокинезия способствовала увеличению серого вещества в заднетеменных и снижению — в лобных областях головного мозга. Данные структуры ответственны за контроль и координацию произвольных движений, сенсомоторную координацию и обработку сенсорной информации. Кроме того, наблюдали ухудшение функциональной подвижности и способности сохранять равновесие в положении стоя. Такие изменения связывают с увеличением серого вещества в отделе, включающем предклинье, прецентральную и постцентральную извилины, которые отвечают за сенсорное восприятие, двигательный контроль, а также ориентацию в пространстве и времени [28].

Влияние микрогравитации на функциональные изменения в головном мозге

Перечисленные адаптационные механизмы отражаются в изменении функциональной связанности отделов головного мозга после воздействия условий микрогравитации. Например, структурная связанность белого вещества изменяется в областях, участвующих в обработке зрительно-пространственных данных, вестибулярной функции и контроле движений, что позволяет предположить, что процессы, требующие префронтальной мультимодальной интеграции сенсорных сигналов, могут подвергаться риску во время космического полета [9]. Было продемонстрировано сохраняющееся снижение связанности в задней поясной коре и таламусе и сохраняющееся увеличение данного показателя в правой угловой извилине сразу и через 8 месяцев после ДКП. Связанность в двусторонней островковой коре головного мозга уменьшилась после космического полета, однако вернулась к нормальному состоянию при последующем наблюдении. Исследование показывает, что измененная гравитационная среда влияет на функциональную связанность в продольном направлении в мультимодальных мозговых центрах, отражая адаптацию к незнакомой и противоречивой сенсорной информации в условиях микрогравитации [26]. В другом исследовании было обнаружено снижение связанности для правой островковой доли, ассоциированной с афферентами отолитовых органов и полукружных каналов, а также между левым полушарием мозжечка и правой зоной моторной коры. Выводы о том, что моторная кора оказывается менее связанной во время покоя и больше активируется во время активной задачи, можно рассматривать как компенсаторно-адаптивную реакцию на микрогравитацию, а также на ранний период после приземления [27]. В то же время в одном из исследований ученые определяли корреляции изменений в мозге с изменениями в производительности пространственной рабочей памяти (ПРП) до и после полета, но никакого существенного влияния ДКП на производительность ПРП или активность мозга обнаружено не было, однако наблюдали значительные изменения в связях мозга до и после полета. Так, в верхней затылочной извилине отмечали снижение связи с остальным мозгом. Во время тестирования ПРП также наблюдали снижение связи между левой средней затылочной извилиной и левой парагиппокампулярной извилиной, левым мозжечком и левой латеральной затылочной корой [29]. Помимо этого, было показано снижение внутри- и межполушарных антикорреляций между височно-теменным сочленением и супрамаргинальными извилинами, что указывает на изменение как вестибулярных функций, так и функций, связанных с сознанием [30]. Длительное пребывание в антиортостатической гипокинезии приводило к снижению равновесия и двигательной активности, а также значительным изменениям в функциональной связанности моторной, соматосенсорной и вестибулярной областей головного мозга [31]. Более того, некоторые из этих изменений были в значительной степени связаны с перестройками в сенсомоторной и пространственной рабочей памяти, что позволяет предположить, что механизмы нейропластичности могут способствовать адаптации к моделированной микрогравитации [20]. Одна из наиболее важных проблем космонавтов, связанных с нарушениями сенсомоторных и когнитивных

функций, — это космическая болезнь движения, возникающая в период острой адаптации человека к микрогравитации. Исследование головного мозга во время тошноты, вызванной двумя различными видами раздражителей, показало наличие диполей в области коры головного мозга диаметром 2–3 см в нижней части лобной извилины, что свидетельствует об активации нейронов. При сильной тошноте наблюдали большее количество диполей, чем при более легкой тошноте. Таким образом, вызванная вестибулярным аппаратом тошнота влияет на те же префронтальные области мозга, которые связаны с вегетативной регуляцией эмоций, что подразумевает способность болезни движения влиять на префронтальные области мозга и нарушать вегетативные механизмы [32]. Разумеется, если проводящие пути мозга, связанные с познанием и обработкой сенсорной информации, испытывают преобразования, это может отрицательно сказаться на способностях пилотирования и стыковки космического аппарата либо выполнения других операций, которые также требуют пространственной памяти. В 2020 г. были проведены исследования, целью которых было определение влияния микрогравитации на высшие когнитивные функции. Однако результаты получились разрозненные: ряд исследователей заявили о снижении когнитивных способностей, другие — о росте, третьи — об отсутствии изменений [33]. Годом ранее было проведено исследование на астронавтах-близнецах, наблюдаемых до, во время и после годичного полета на Международной космической станции (МКС). В результате было показано, что эффективность решения когнитивных задач значительно снизилась лишь после полета, но в то же время была неизменна в более ранние периоды проведения эксперимента [34].

Причины и механизмы микроструктурных изменений в головном мозге

Исходя из анализа литературы, можно сделать вывод, что в научных работах выделяют адаптивную нейропластичность и перераспределение жидкости как два основных фактора, обеспечивающих микроструктурные изменения в головном мозге в условиях микрогравитации. Предположительно, именно изменения в системах, связанных с двигательной активностью, являются основными нейропластическими адаптациями. На основе уже существующей теории обработки информации, поступающей в мозжечок, можно предположить, почему происходят те или иные изменения в условиях микрогравитации.

Мозжечок млекопитающих объединяет информацию от множества сенсорных систем с двигательными командами и посылает проекции в моторные и премоторные области коры головного мозга, а также в ядра ствола мозга и спинной мозг. Многие области мозжечка получают входные сигналы напрямую от вестибулярных афферентов и вестибулярных ядер. Предположительно, в мозжечке осуществляется генерация внутренней модели, предсказывающей соматосенсорные последствия производимых движений, после чего происходит сравнение предсказанных и фактических последствий двигательного поведения. На данный момент полагают, что мозжечок вычисляет различия и генерирует сигнал ошибки, который управляет перекалибровкой двигательных центров [35]. На Земле организм подвержен постоянному воздействию силы тяжести, что приводит к непрерывному стимулированию отолитовых органов и

проприорецепторов. Исследования показывают, что часть клеток Пуркинье в мозжечке кодирует положения головы и их изменения относительно направления силы тяжести. Судя по всему, ориентирование в пространстве происходит с учетом постоянно действующей гравитации, поэтому исследователи полагают, что внутренняя модель движения, рассчитываемая внутри мозжечка, также учитывает влияние этой силы [35]. Однако во время космических полетов достигается состояние микрогравитации, что приводит к несоответствию между смоделированными мозгом сенсорными последствиями движений и реальными ощущениями. В результате это приводит к перестройкам в системе обработки вестибулярных сигналов с целью адаптации к новым условиям среды обитания. В связи с этим сообщали об увеличении массы отолитов и количества волосковых клеток в первые недели полета, о кратковременном повышении чувствительности вестибулярных путей с возвращением к норме с течением времени, а также изменениях в морфологии дендритов клеток Пуркинье и синаптической организации афферентных моховидных волокон [36].

С молекулярной точки зрения микроструктурные перестройки происходят под влиянием различных сигнальных белковых молекул. Один из ключевых белковых факторов, играющих роль в механизмах нейропластичности, — нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), разные изоформы которого положительно и отрицательно способствуют поддержанию гомеостаза мозга. Например, про-BDNF стимулирует апоптоз и негативно влияет на ремоделирование нейронов, устраняя избыточное число созревающих или поврежденных клеток, а также неэффективные нейронные связи, в то время как m-BDNF (m от англ. mature — зрелый) поддерживает нейро- и глиогенез, ветвление дендритов и формирование дендритных отростков. Разнонаправленное влияние этих изоформ позволяет осуществлять точный контроль динамического баланса, что необходимо для поддержания гомеостаза головного мозга [37]. В эксперименте на крысах было обнаружено, что процесс обучения повышает уровень экспрессии изоформ BDNF, а также тирозинкиназного рецептора B (TrkB), который в основном выступает в роли рецептора BDNF [38].

Стоит учитывать тот факт, что космонавты на МКС выполняют регулярные физические упражнения. Имеется информация, согласно которой физические упражнения также положительно влияют на нейропластичность, вызывая повышение уровней экспрессии некоторых белков, в том числе высокоинтенсивные короткие тренировки приводят к усилению продукции BDNF, TrkB и pCREB [39]. Фосфорилированный транскрипционный фактор CREB активирует транскрипцию гена BDNF и выступает в качестве маркера активности LIM-киназы 1 (LIMK1), которая блокирует деполимеризацию актина, что вызывает перестройку шипиков дендритов и тем самым обеспечивает нейронную пластичность [40]. В других исследованиях было показано, что регулярные физические упражнения усиливают нейропластичность путем повышения уровня экспрессии инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF 1), важного для развития и поддержания функций мозга, белка BDNF и положительно коррелирующего с ним фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), который опосредует ангиогенез в головном мозге. Причем оказалось, что понижение экспрессии BDNF аналогичным образом действует на VEGF, в результате чего наблюдают замедление ангиогенеза [41].

Описанные изменения приводят к усиленному нейро-, ангио- и синаптогенезу и, судя по всему, служат причиной структурно-функциональных перестроек в головном мозге, к которым относят увеличение объемов серого вещества в мозжечке, гиппокампе, базальных ганглиях и некоторых отделах коры, а также изменения в белом веществе [42].

Помимо молекулярных, необходимо обратить внимание и на общефизиологические эффекты, опосредующие микроструктурные изменения в головном мозге. Например, было показано, что в имитированных условиях микрогравитации, созданных при помощи сухой иммерсии, уже через 5 дней наблюдали снижение регионального кровотока в 32 кортикальных и субкортикальных регионах [43]. Предположительно, такой эффект может происходить из-за сужения мозговых артерий, вызванного смещением жидкости головного мозга, когда в первые дни мозговой кровотока увеличивается вместе с внутричерепным давлением, что приводит к хронической вазоконстрикции артерий с их последующей гипертрофией. Длительная вазоконстрикция в сочетании с гистологическими изменениями, вероятно, отвечает за увеличение сопротивления сосудов и уменьшения общего кровотока в головном мозге [43]. Более того, есть данные, указывающие на уменьшение объема плазмы в условиях микрогравитации, что также способствует снижению мозгового кровотока [44]. Помимо общего снижения кровотока, наблюдают перераспределение кровоснабжения в различных участках мозга. В том числе зафиксировано снижение регионального кровотока в базальных ганглиях, что объясняют усиленной работой этих областей вследствие их центральной роли в обработке информации, однако также высказывают предположения о потенциальной модификации метаболизма нейромедиаторов, о котором пока мало что известно в условиях микрогравитации [43]. Подобные изменения в характере кровоснабжения, предположительно, тесно связаны со структурными изменениями в головном мозге. Было показано, что преобразования в первичной сенсомоторной коре, базальных ганглиях и мозжечке происходят без изменения доли свободной жидкости, что демонстрирует важность дополнительных исследований для полного выяснения точной природы воздействия космического полета на структуры мозга [21]. Стоит также учитывать, что существуют и другие факторы, оказывающие влияние на головной мозг космонавта. Так, было показано, что одно из условий космического полета — длительная изоляция — приводит к уменьшению объема гиппокампа, а также коррелирующему с ним снижению концентрации BDNF [45]. Более того, уменьшение объема зубчатой извилины гиппокампа также было связано со снижением когнитивных показателей в тестах пространственной обработки и избирательного внимания [45]. Кроме этого, известно, что члены экипажа МКС часто жалуются на головные боли, нарушения

зрения и когнитивных функций, которые коррелируют с уровнями CO_2 , и, судя по существующим исследованиям, перераспределение жидкостей при микрогравитации в комбинации с повышенным содержанием CO_2 в атмосфере оказывает влияние на нервные функции и когнитивную работоспособность [46]. В связи с этим стоит упомянуть, что у космонавтов на борту МКС увеличена экспрессия индуцируемого гипоксией фактора альфа-1 (HIF-1 α), что в свою очередь, вызывает повышение концентрации VEGF-1, белка, уровень экспрессии которого коррелирует с BDNF [47]. Это говорит о наличии широких сетевых взаимодействий молекулярно-генетических эффектов, возникающих в результате воздействия комплекса различных факторов космического полета, исследованием которых еще предстоит заняться.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно говорить, что наблюдаемые у космонавтов функциональные и структурные преобразования в головном мозге — это следствие молекулярных, генетических, а также иных внутриклеточных изменений, которые, в свою очередь, вызваны измененными условиями обитания во время космического полета. Основным фактором, оказывающим наибольшее влияние, служит микрогравитация, вызывающая перераспределение жидкости в организме космонавтов и нейропластическую адаптацию сенсомоторных систем к измененным условиям. В то же время существуют другие факторы космического полета, которые также оказывают влияние на организм космонавта. Так, длительная изоляция приводит к уменьшению экспрессии BDNF, гипоксия, возникающая в застойных зонах МКС с повышенным содержанием CO_2 — к увеличению концентрации VEGF-1, который ассоциирован с BDNF. Разумеется, другие условия вызывают свои молекулярные эффекты, которые в то же время связаны между собой. Происходит комплексное взаимодействие по принципу разветвленной сети, где каждый внешний фактор вносит свой вклад. Определение конкретных ролей каждого из факторов космического полета — это чрезвычайно трудоемкая задача, которую только предстоит выполнить. Это позволит более точно и подробно изучать влияние факторов космического полета на центральную нервную систему человека, что необходимо, в первую очередь, для разработки мер профилактики, направленных на минимизацию негативных последствий полета. Изучение поднятых вопросов представляет интерес, поскольку именно повышение уровня здоровья и работоспособности членов экипажа в большей степени определяет успех и безопасность будущих экспедиций, включая полеты в дальний космос, к Марсу и астероидам, которые являются ближайшими целями, определенными в стратегии и концепции развития космической отрасли России.

Литература

1. Rabin R, et al. Effects of spaceflight on the musculoskeletal system: NIH and NASA future directions. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1993; 7 (5): 396–8.
2. Demertzi A, et al. Cortical reorganization in an astronaut's brain after long-duration spaceflight. *Brain Structure and function*. 2016; 221: 2873–6.
3. Рюмин О. О. Вопросы психологического обеспечения пилотируемых межпланетных полетов. *Авиакосм. и экол. мед.* 2017; 51 (4): 15.
4. Nasrini J, et al. Cognitive performance in long-duration Mars simulations at the Hawaii space exploration analog and simulation

- (HI-SEAS). NASA Human Research Program Investigators' Workshop. 2017; 1–2.
5. Nelson ES, Mulugeta L, Myers JG. Microgravity-induced fluid shift and ophthalmic changes. *Life*. 2014; 4 (4): 621–65.
 6. Roberts DR, et al. Effects of spaceflight on astronaut brain structure as indicated on MRI. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377 (18): 1746–53.
 7. Van Ombergen A, et al. Brain tissue–volume changes in cosmonauts. *New England Journal of Medicine*. 2018; 379 (17): 1678–80.
 8. Van Ombergen A, et al. Brain ventricular volume changes induced by long-duration spaceflight. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019; 116 (21): 10531–6.
 9. Lee JK, et al. Spaceflight-associated brain white matter microstructural changes and intracranial fluid redistribution. *JAMA neurology*. 2019; 76 (4): 412–9.
 10. Kramer LA, et al. Intracranial effects of microgravity: a prospective longitudinal MRI study. *Radiology*. 2020; 295 (3): 640–8.
 11. Hupfeld KE, et al. Longitudinal MRI-visible perivascular space (PVS) changes with long-duration spaceflight. *Scientific Reports*. 2022; 12 (1): 7238.
 12. McGregor HR, et al. Impacts of spaceflight experience on human brain structure. *Scientific Reports*. 2023; 13 (1): 7878.
 13. Карпенко М. П., Давыдов Д. Г., Чмыхова Е. В. Обучение экипажей в ходе длительных космических полетов как средство поддержания социализации и когнитивных способностей космонавтов. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2018; 52 (6): 19–25.
 14. Kanas N, et al. Psychology and culture during long-duration space missions. Springer Berlin Heidelberg. 2013; 153–84.
 15. Jamšek M, et al. Effects of simulated microgravity and hypergravity conditions on arm movements in normogravity. *Frontiers in Neural Circuits*. 2021; 15: 750176.
 16. Seidler RD, et al. Future research directions to identify risks and mitigation strategies for neurostructural, ocular, and behavioral changes induced by human spaceflight: A NASA-ESA expert group consensus report. *Frontiers in Neural Circuits*. 2022; 16: 876789.
 17. Kunavar T, et al. Effects of local gravity compensation on motor control during altered environmental gravity. *Frontiers in Neural Circuits*. 2021; 15: 750267.
 18. Tays GD, et al. The effects of long duration spaceflight on sensorimotor control and cognition. *Frontiers in neural circuits*. 2021; 15: 723504.
 19. Strangman GE, Sipes W, Beven G. Human cognitive performance in spaceflight and analogue environments. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2014; 85 (10): 1033–48.
 20. Cassidy K, et al. Effects of a spaceflight analog environment on brain connectivity and behavior. *Neuroimage*. 2016; 141: 18–30.
 21. Stella AB, et al. Neurophysiological adaptations to spaceflight and simulated microgravity. *Clinical Neurophysiology*. 2021; 132 (2): 498–504.
 22. Koppelmans V, et al. Study protocol to examine the effects of spaceflight and a spaceflight analog on neurocognitive performance: extent, longevity, and neural bases. *BMC neurology*. 2013; 13: 1–15.
 23. Doroshin A, et al. Brain connectometry changes in space travelers after long-duration spaceflight. *Frontiers in neural circuits*. 2022; 16: 6.
 24. Koppelmans V, et al. Brain structural plasticity with spaceflight. *npj Microgravity*. 2016; 2 (1): 2.
 25. Jillings S, et al. Macro- and microstructural changes in cosmonauts' brains after long-duration spaceflight. *Science advances*. 2020; 6 (36): eaaz9488.
 26. Jillings S, et al. Prolonged microgravity induces reversible and persistent changes on human cerebral connectivity. *Communications Biology*. 2023; 6 (1): 46.
 27. Pechenkova E, et al. Alterations of functional brain connectivity after long-duration spaceflight as revealed by fMRI. *Frontiers in Physiology*. 2019; 10: 761.
 28. Li K, et al. Effect of simulated microgravity on human brain gray matter and white matter—evidence from MRI. *PLoS one*. 2015; 10 (8): e0135835.
 29. Salazar AP, et al. Changes in working memory brain activity and task-based connectivity after long-duration spaceflight. *Cerebral Cortex*. 2023; 33 (6): 2641–54.
 30. Van Ombergen A, et al. Intrinsic functional connectivity reduces after first-time exposure to short-term gravitational alterations induced by parabolic flight. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 3061.
 31. Koppelmans V, et al. Brain plasticity and sensorimotor deterioration as a function of 70 days head down tilt bed rest. *PLoS one*. 2017; 12 (8): e0182236.
 32. Miller AD, et al. Human Cortical Activity during Vestibular-and Drug-Induced Nausea Detected Using MSI a. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1996; 781 (1): 670–2.
 33. Mammarella N. The effect of microgravity-like conditions on high-level cognition: a review. *Frontiers in Astronomy and Space Sciences*. 2020; 7: 6.
 34. Garrett-Bakelman FE, et al. The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. *Science*. 2019; 364 (6436): eaau8650.
 35. Cullen KE. Vestibular processing during natural self-motion: implications for perception and action. *Nature Reviews Neuroscience*. 2019; 20 (6): 346–63.
 36. Carriot J, Mackrous I, Cullen KE. Challenges to the vestibular system in space: how the brain responds and adapts to microgravity. *Frontiers in neural circuits*. 2021; 15: 760313.
 37. Kowiański P, et al. BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cellular and molecular neurobiology*. 2018; 38: 579–93.
 38. Silhol M, et al. Spatial memory training modifies the expression of brain-derived neurotrophic factor tyrosine kinase receptors in young and aged rats. *Neuroscience*. 2007; 146 (3): 962–73.
 39. Okamoto M, et al. High-intensity intermittent training enhances spatial memory and hippocampal neurogenesis associated with BDNF signaling in rats. *Cerebral Cortex*. 2021; 31 (9): 4386–97.
 40. Каминская А. Н. и др. Обучение и формирование памяти в сопоставлении с распределением pCREB и белковых агрегатов в нейромышечных контактах у *Drosophila melanogaster* при полиморфизме *limk1*. *Генетика*. 2015; 51 (6): 685.
 41. Lin CY, et al. Brain-derived neurotrophic factor increases vascular endothelial growth factor expression and enhances angiogenesis in human chondrosarcoma cells. *Biochemical pharmacology*. 2014; 91 (4): 522–33.
 42. El-Sayes J, et al. Exercise-induced neuroplasticity: a mechanistic model and prospects for promoting plasticity. *The Neuroscientist*. 2019; 25 (1): 65–85.
 43. Guillon L, et al. Reduced Regional Cerebral Blood Flow Measured by 99mTc-Hexamethyl Propylene Amine Oxime Single-Photon Emission Computed Tomography in Microgravity Simulated by 5-Day Dry Immersion. *Frontiers in Physiology*. 2021; 12: 789298.
 44. Ogoh S, et al. Internal carotid, external carotid and vertebral artery blood flow responses to 3 days of head-out dry immersion. *Experimental Physiology*. 2017; 102 (10): 1278–87.
 45. Stahn AC, et al. Brain changes in response to long Antarctic expeditions. *New England Journal of Medicine*. 2019; 381 (23): 2273–5.
 46. Mahadevan AD, et al. Head-down-tilt bed rest with elevated CO₂: effects of a pilot spaceflight analog on neural function and performance during a cognitive-motor dual task. *Frontiers in Physiology*. 2021; 12: 654906.
 47. Luxton JJ, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Reports*. 2020; 33 (10): 108457.

References

1. Rabin R, et al. Effects of spaceflight on the musculoskeletal system: NIH and NASA future directions. *FASEB journal*: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 1993; 7 (5): 396–8.

2. Demertzi A, et al. Cortical reorganization in an astronaut's brain after long-duration spaceflight. *Brain Structure and function*. 2016; 221: 2873–6.
3. Ryumin OO. Some issues of the psychological support to piloted interplanetary missions. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2017; 51 (4): 15. Russian.
4. Nasrini J, et al. Cognitive performance in long-duration Mars simulations at the Hawaii space exploration analog and simulation (HI-SEAS). *NASA Human Research Program Investigators' Workshop*. 2017; 1–2.
5. Nelson ES, Mulugeta L, Myers JG. Microgravity-induced fluid shift and ophthalmic changes. *Life*. 2014; 4 (4): 621–65.
6. Roberts DR, et al. Effects of spaceflight on astronaut brain structure as indicated on MRI. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377 (18): 1746–53.
7. Van Ombergen A, et al. Brain tissue–volume changes in cosmonauts. *New England Journal of Medicine*. 2018; 379 (17): 1678–80.
8. Van Ombergen A, et al. Brain ventricular volume changes induced by long-duration spaceflight. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019; 116 (21): 10531–6.
9. Lee JK, et al. Spaceflight-associated brain white matter microstructural changes and intracranial fluid redistribution. *JAMA neurology*. 2019; 76 (4): 412–9.
10. Kramer LA, et al. Intracranial effects of microgravity: a prospective longitudinal MRI study. *Radiology*. 2020; 295 (3): 640–8.
11. Hupfeld KE, et al. Longitudinal MRI-visible perivascular space (PVS) changes with long-duration spaceflight. *Scientific Reports*. 2022; 12 (1): 7238.
12. McGregor HR, et al. Impacts of spaceflight experience on human brain structure. *Scientific Reports*. 2023; 13 (1): 7878.
13. Karpenko MP, Davydov DG, Chmykhova EV. Crew training in the course of long-duration space missions as a way to maintain cosmonauts' socialization and cognitive abilities. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2018; 52 (6): 19–25. Russian.
14. Kanas N, et al. Psychology and culture during long-duration space missions. *Springer Berlin Heidelberg*. 2013; 153–84.
15. Jamšek M, et al. Effects of simulated microgravity and hypergravity conditions on arm movements in normogravity. *Frontiers in Neural Circuits*. 2021; 15: 750176.
16. Seidler RD, et al. Future research directions to identify risks and mitigation strategies for neurostructural, ocular, and behavioral changes induced by human spaceflight: A NASA-ESA expert group consensus report. *Frontiers in Neural Circuits*. 2022; 16: 876789.
17. Kunavar T, et al. Effects of local gravity compensation on motor control during altered environmental gravity. *Frontiers in Neural Circuits*. 2021; 15: 750267.
18. Tays GD, et al. The effects of long duration spaceflight on sensorimotor control and cognition. *Frontiers in neural circuits*. 2021; 15: 723504.
19. Strangman GE, Sipes W, Beven G. Human cognitive performance in spaceflight and analogue environments. *Aviation, space, and environmental medicine*. 2014; 85 (10): 1033–48.
20. Cassidy K, et al. Effects of a spaceflight analog environment on brain connectivity and behavior. *Neuroimage*. 2016; 141: 18–30.
21. Stella AB, et al. Neurophysiological adaptations to spaceflight and simulated microgravity. *Clinical Neurophysiology*. 2021; 132 (2): 498–504.
22. Koppelmans V, et al. Study protocol to examine the effects of spaceflight and a spaceflight analog on neurocognitive performance: extent, longevity, and neural bases. *BMC neurology*. 2013; 13: 1–15.
23. Doroshin A, et al. Brain connectometry changes in space travelers after long-duration spaceflight. *Frontiers in neural circuits*. 2022; 16: 6.
24. Koppelmans V, et al. Brain structural plasticity with spaceflight. *npj Microgravity*. 2016; 2 (1): 2.
25. Jillings S, et al. Macro-and microstructural changes in cosmonauts' brains after long-duration spaceflight. *Science advances*. 2020; 6 (36): eaaz9488.
26. Jillings S, et al. Prolonged microgravity induces reversible and persistent changes on human cerebral connectivity. *Communications Biology*. 2023; 6 (1): 46.
27. Pechenkova E, et al. Alterations of functional brain connectivity after long-duration spaceflight as revealed by fMRI. *Frontiers in Physiology*. 2019; 10: 761.
28. Li K, et al. Effect of simulated microgravity on human brain gray matter and white matter—evidence from MRI. *PLoS one*. 2015; 10 (8): e0135835.
29. Salazar AP, et al. Changes in working memory brain activity and task-based connectivity after long-duration spaceflight. *Cerebral Cortex*. 2023; 33 (6): 2641–54.
30. Van Ombergen A, et al. Intrinsic functional connectivity reduces after first-time exposure to short-term gravitational alterations induced by parabolic flight. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 3061.
31. Koppelmans V, et al. Brain plasticity and sensorimotor deterioration as a function of 70 days head down tilt bed rest. *PLoS one*. 2017; 12 (8): e0182236.
32. Miller AD, et al. Human Cortical Activity during Vestibular-and Drug-Induced Nausea Detected Using MSI a. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1996; 781 (1): 670–2.
33. Mammarella N. The effect of microgravity-like conditions on high-level cognition: a review. *Frontiers in Astronomy and Space Sciences*. 2020; 7: 6.
34. Garrett-Bakelman FE, et al. The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. *Science*. 2019; 364 (6436): eaau8650.
35. Cullen KE. Vestibular processing during natural self-motion: implications for perception and action. *Nature Reviews Neuroscience*. 2019; 20 (6): 346–63.
36. Carriot J, Mackrous I, Cullen KE. Challenges to the vestibular system in space: how the brain responds and adapts to microgravity. *Frontiers in neural circuits*. 2021; 15: 760313.
37. Kowiański P, et al. BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cellular and molecular neurobiology*. 2018; 38: 579–93.
38. Silhol M, et al. Spatial memory training modifies the expression of brain-derived neurotrophic factor tyrosine kinase receptors in young and aged rats. *Neuroscience*. 2007; 146 (3): 962–73.
39. Okamoto M, et al. High-intensity intermittent training enhances spatial memory and hippocampal neurogenesis associated with BDNF signaling in rats. *Cerebral Cortex*. 2021; 31 (9): 4386–97.
40. Kaminskaya AN, et al. Influence of limk1 Gene Polymorphism on Learning Acquisition and Memory Formation with pCREB Distribution and Aggregate Formation in Neuromuscular Junctions in *Drosophila melanogaster*. *Russian J. Genetics*. 2015; 51 (6): 685. Russian.
41. Lin CY, et al. Brain-derived neurotrophic factor increases vascular endothelial growth factor expression and enhances angiogenesis in human chondrosarcoma cells. *Biochemical pharmacology*. 2014; 91 (4): 522–33.
42. El-Sayes J, et al. Exercise-induced neuroplasticity: a mechanistic model and prospects for promoting plasticity. *The Neuroscientist*. 2019; 25 (1): 65–85.
43. Guillon L, et al. Reduced Regional Cerebral Blood Flow Measured by 99mTc-Hexamethyl Propylene Amine Oxime Single-Photon Emission Computed Tomography in Microgravity Simulated by 5-Day Dry Immersion. *Frontiers in Physiology*. 2021; 12: 789298.
44. Ogoh S, et al. Internal carotid, external carotid and vertebral artery blood flow responses to 3 days of head-out dry immersion. *Experimental Physiology*. 2017; 102 (10): 1278–87.
45. Stahn AC, et al. Brain changes in response to long Antarctic expeditions. *New England Journal of Medicine*. 2019; 381 (23): 2273–5.
46. Mahadevan AD, et al. Head-down-tilt bed rest with elevated CO₂: effects of a pilot spaceflight analog on neural function and performance during a cognitive-motor dual task. *Frontiers in Physiology*. 2021; 12: 654906.
47. Luxton JJ, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Reports*. 2020; 33 (10): 108457.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ГИДРОКАРБОНАТА НАТРИЯ ИЛИ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА КИШЕЧНУЮ ЭНДОТОКСЕМИЮ У КРЫС ПРИ МИЕЛОАБЛЯЦИИ ЦИКЛОФОСФАМИДОМ

О. А. Вакуненко¹, Е. А. Золотоверхая¹, Т. Б. Печурина² ✉, Т. В. Шефер², Ю. Ю. Ивницкий¹

¹ Научно-клинический центр токсикологии имени С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

К токсическим эффектам циклофосамида (ЦФ) в миелоабляционных дозах относится повреждение желудочно-кишечного тракта. Оно проявляется желудочно-кишечным стазом, цитостатическим повреждением слизистой оболочки тонкой кишки и острой кишечной эндотоксемией. Целью работы было выявить причинно-следственные связи между желудочно-кишечным стазом, энтероцитопенией и острой кишечной эндотоксемией при моделировании на крысах миелоабляционной терапии ЦФ. Изучали влияние вводимого в желудок 0,48 М раствора гидрокарбоната натрия (NaHCO₃) или 0,1 М раствора соляной кислоты (HCl) на показатели желудочно-кишечного стаза, энтероцитопении, содержание в портальной крови эндотоксина, аммиака, мочевины и экскрецию индикана с мочой. Через трое суток после внутривенного введения ЦФ в дозе 390 мг/кг наблюдали переполнение химусом желудка, снижение активности щелочной фосфатазы и холинэстеразы в тканях тонкой кишки, повышение содержания эндотоксина в 4,0 раза и мочевины в 4,6 раза при двукратном повышении уровня креатинина в плазме портальной крови, двукратное повышение экскреции индикана с мочой. Введение в желудок NaHCO₃ или HCl частично предупреждало гастростаз, но не острую кишечную эндотоксемию. Введение NaHCO₃, но не HCl, предупреждало энтероцитопению в двенадцатиперстной кишке. Острая кишечная эндотоксемия была обусловлена преимущественно интенсификацией поступления в кровь продуктов жизнедеятельности микрофлоры слепой кишки. Перспективна апробация внутрижелудочного введения гидрокарбоната натрия в сочетании с энтеральной детоксикацией и (или) применением средств подавления вегетации толстокишечной микрофлоры для профилактики желудочно-кишечных осложнений миелоабляционной цитостатической терапии.

Ключевые слова: гастростаз, гидрокарбонат натрия, миелоабляция, соляная кислота, циклофосфамид, эндотоксемия, энтероцитопения

Вклад авторов: О. А. Вакуненко — экспериментальная часть работы; Е. А. Золотоверхая — биохимические исследования крови; Т. Б. Печурина — биохимические исследования тканей; Т. В. Шефер — экспериментальная часть, обработка и визуализация данных, разработка экспериментальной модели; Ю. Ю. Ивницкий — научный замысел, разработка экспериментальной модели, интерпретация и обсуждение результатов. Все авторы участвовали в обсуждении результатов, подготовке и редактировании рукописи статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование проведено с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Борисовна Печурина
ул. Лесопарковая, д. 4, г. Санкт-Петербург, 195043, Россия; tat79@list.ru

Статья получена: 01.05.2024 **Статья принята к печати:** 26.06.2024 **Опубликована онлайн:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.035

EFFECT OF SODIUM BICARBONATE OR HYDROCHLORIC ACID INTRAGASTRIC ADMINISTRATION ON GUT-DERIVED ENDOTOXEMIA IN RATS RECEIVING CYCLOPHOSPHAMIDE MYELOABLATIVE CONDITIONING

Vakunenkova OA¹, Zolotoverkhaya EA¹, Pechurina TB² ✉, Schäfer TV², Ivnitsky JuJu¹

¹ Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

² State Research and Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Toxic effects of the myeloablative cyclophosphamide (CP) doses include damage to the gastrointestinal tract. This is manifested by gastrointestinal stasis, cytostatic drug-induced damage to the small intestinal mucosa, and acute gut-derived endotoxemia. The study was aimed to identify causal relationships between gastrointestinal stasis, enterocytopenia, and acute gut-derived endotoxemia in the rat model of the CP myeloablative conditioning. We assessed the effects of the intragastrically administered 0.48 M sodium bicarbonate (NaHCO₃) solution or the 0.1 M hydrochloric acid (HCl) solution on the indicators of gastrointestinal stasis, enterocytopenia, portal blood levels of endotoxin, ammonia, urea, and urinary indican excretion. The stomach overfilled with chyme, decreased alkaline phosphatase and cholinesterase activity in the small intestinal tissues, 4.4-fold increased endotoxin levels, 4.6-fold increased urea levels, twofold increased portal blood plasma creatinine levels, and twofold increased urinary indican excretion were observed three days after intravenous administration of CP in a dose of 390 mg/kg. Intra-gastric administration of NaHCO₃ or HCl partially prevented gastric stasis, but not acute gut-derived endotoxemia. Administration of NaHCO₃, not HCl, prevented enterocytopenia in the duodenum. Acute gut-derived endotoxemia resulted mainly from the more intense release of the cecal microflora waste products into blood. Testing the use of sodium bicarbonate intra-gastric administration combined with the enteral detoxification and/or options for suppression of colonic microflora vegetation for prevention of the myeloablative cytostatic therapy complications is promising.

Keywords: gastric stasis, sodium bicarbonate, myeloablation, hydrochloric acid, cyclophosphamide, endotoxemia, enterocytopenia

Author contribution: Vakunenkova OA — experimental part of the study; Zolotoverkhaya EA — blood biochemistry testing; Pechurina TB — tissue biochemistry testing; Schäfer TV — experimental part of the study, data processing and visualization, developing the experimental model; Ivnitsky JuJu — research design, developing the experimental model, data interpretation and discussion. All authors contributed to discussion, manuscript writing and editing.

Compliance with ethical standards: the study was compliant with the principles of bioethics adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatiana B. Pechurina
Lesoparkovaya, 4, Saint-Petersburg, 195043, Russia; tat79@list.ru

Received: 01.05.2024 **Accepted:** 26.06.2024 **Published online:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.035

Циклофосфамид (ЦФ) в супралетальных дозах применяют для миелоабляции с целью подготовки реципиентов к пересадке стволовых кроветворных клеток. В числе побочных эффектов такого лечения — угнетение желудочно-кишечной моторики, цитостатическое повреждение эпителия тонкой кишки и эндотоксемия. Эти осложнения нарушают энтеральное питание, снижают эффективность перорально вводимых лекарственных средств, повышают вероятность гибели пациентов до осуществления трансплантации. Гастростаз и острый тонкокишечный мукозит, предупреждаемые введением в желудок раствора гидрокарбоната натрия (NaHCO_3), мы наблюдали у крыс после воздействия ЦФ в миелоабляционной дозе [1]. Остаются неизвестными характер связи желудочно-кишечного стаза, энтероцитопении и эндотоксемии между собой, а также влияние на них средств, изменяющих pH желудочного химуса: NaHCO_3 или соляной кислоты (HCl). Целью работы было выявление связи между желудочно-кишечным стазом, повреждением слизистой оболочки тонкой кишки и острой кишечной эндотоксемией при моделировании на крысах миелоабляционной цитостатической терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали самцов крыс-альбиносов линии Вистар весом 161–190 г (Филиал НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ – ПЛЖ «Рапполово»; Россия). Животные получали стандартный корм для крыс и питьевую воду *ad libitum*. Формировали четыре рандомизированные группы по восемь особей: интактные животные; получившие только ЦФ; получившие ЦФ и NaHCO_3 или ЦФ и HCl. Через 24 ч после введения ЦФ крыс помещали в клетку с решетчатым полом, исключавшим копрофагию и поедание элементов подстилки, при доступе только к воде. Миелоабляцию вызывали однократным введением в латеральную вену хвоста свежеприготовленного водного раствора препарата ЦФ «Эндоксан» (Бакстер онкология ГМБХ; Германия), в дозе 390 мг/кг ($\approx 1,7 \text{ ЛД}_{99/30 \text{ сут}}$), в объеме 10 мл/кг. Указанная доза ЦФ составляла $1,7 \text{ ЛД}_{9/30 \text{ сут}}$ и обеспечивала дожитие всех крыс до трех суток после воздействия. Дважды (за 30 мин до и тотчас после введения ЦФ) вводили в желудок 0,48 М раствор NaHCO_3 (рН = 8,34) в объеме 15 мл/кг или 0,1 М раствор HCl (рН = 1) в том же объеме. Животных обследовали через 72 ч после введения ЦФ.

Забор крови из *v. portae*, извлечение органов проводили под фторотановым наркозом. Пропульсивную функцию желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) оценивали по относительной массе желудочного и слепоконечного химусов, которую рассчитывали как выраженную в граммах разность масс заполненного химусом и пустого органа (*gaster*, *caecum*), отнесенную к массе тела в килограммах. Для оценки избирательности действия NaHCO_3 или HCl на органы ЖКТ параллельно определяли относительную массу селезенки.

Для оценки выраженности энтероцитопении в тканях тонкой кишки определяли активность маркеров энтероцитов: щелочной фосфатазы, ЦФ [2] и холинэстеразы, ХЭ [3]. Краниальные отрезки *duodenum*, каудальные отрезки *jejunum* и *ileum* длиной по 4 см гомогенизировали в 15-кратном объеме трис-HCl буфера (50 мМ, рН = 7,4) и замораживали при минус 20 °С. Через 15 ч гомогенаты размораживали при 4 °С и центрифугировали при 2000 g в течение 10 мин. В супернатанте определяли активность

ЦФ оптимизированным кинетическим методом с помощью набора реактивов (ООО «Ольвекс диагностика»; Россия) и активность ХЭ методом Элмана, используя в качестве субстрата ацетилтиохолина йодид (Sigma-Aldrich; США), на биохимическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Tech.; США), а также содержание белка по Бредфорду.

Кишечную эндотоксемию оценивали по содержанию в плазме портальной крови эндотоксина и аммиака, а также продукта обезвреживания аммиака печенью — мочевины. Эндотоксин определяли с LAL-реактивом в модификации «гель-тромб тест» с помощью набора реактивов «ALPYR Test» (ООО «Альгимед Техно»; Россия). Для повышения чувствительности метода до разведения и смешивания с LAL-реактивом пробы инкубировали при 70 °С в течение 15 мин, этим переводя эндотоксин из связанного с альбумином в свободное состояние [4]. Концентрацию аммиака определяли спектрофотометрически с помощью набора реактивов «Ammonia Ultra» (Sentinel Diagnostics; Италия). Концентрацию мочевины определяли после ее гидролиза до аммиака, используя набор реактивов «Мочевина UV» (Biosystems; Испания). Параллельно в плазме крови определяли креатинин в реакции с пикриновой кислотой, альбумин в реакции с красителем бромкрезоловым зеленым и общий белок в реакции с красителем кислотным синим 90.

В качестве показателя избыточного бактериального роста использовали экскрецию индикана с мочой [5], которую собирали, помещая животных в метаболические камеры на срок с 48 по 72 ч после введения ЦФ. Индикан количественно определяли с реактивом Обермайера [6] и выражали экскрецию в микрограммах на килограмм массы тела в час.

Результаты представляли в виде среднего значения и его ошибки ($M \pm m$). Влияние вводимых веществ на исследуемые количественные показатели оценивали с помощью дисперсионного анализа. В случаях значимости полученных моделей межгрупповое сравнение средних величин выполняли с помощью теста честной значимой разницы Тьюки [7]. Критический уровень значимости α приняли равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После двух суток голодания химус был сосредоточен у крыс только в *gaster* и *caecum*; в просвете тонкой и ободочной кишок он отсутствовал. На фоне введения ЦФ относительная масса желудочного химуса была в 10,5 раз больше, чем у интактных животных, при отсутствии существенного различия средних значений относительной массы слепоконечного химуса. Введение в желудок как NaHCO_3 , так и HCl частично предупреждало переполнение химусом желудка, но не изменяло объем содержимого *caecum* (рис. 1).

Введение ЦФ вело к энтероцитопении. Активность ЦФ снижалась в 1,6–4,9 раз во всех отделах тонкой кишки, наиболее значительно — в *ileum*; активность АХЭ была снижена только в *ileum*. Введение в желудок NaHCO_3 частично предупреждало снижение активности ЦФ в *duodenum* (рис. 2). Ни NaHCO_3 , ни HCl не влияли на системный цитопенический эффект ЦФ, проявлявшийся снижением относительной массы селезенки на 57% (рис. 1).

Содержание аммиака в плазме портальной крови интактных крыс составляло 0,88 мМ, что втрое превышало это значение для плазмы крови крыс, полученной при декапитации [8]. На фоне введения ЦФ уровень аммиака

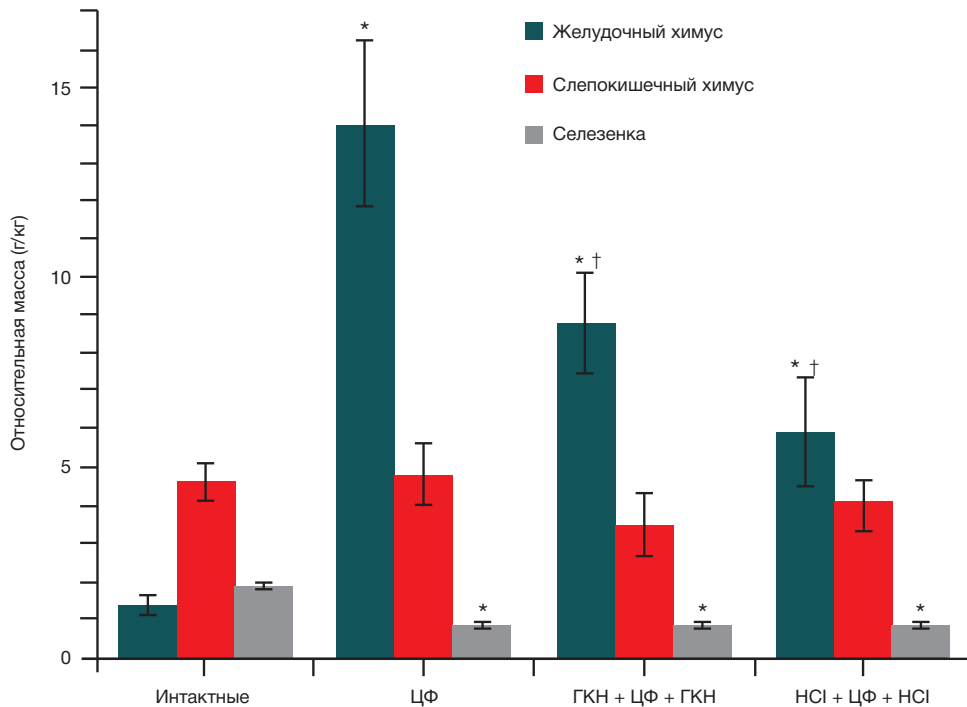


Рис. 1. Относительная масса желудочного, слепокишечного химусов и селезенки у крыс через 72 ч после внутривенного введения циклофосфамида ($M \pm m$; $n = 8$). «Интактные» — не получавшие медикаментозных средств; «ЦФ» — получившие только циклофосфамид; «ГКН + ЦФ + ГКН» — введение в желудок 0,48 М гидрокарбоната натрия за 30 мин до и тотчас после циклофосфамида; «НСI + ЦФ + НСI» — введение в желудок 0,1 М соляной кислоты за 30 мин до и тотчас после циклофосфамида. Значимое различие, $p < 0,05$: * — с интактной группой; † — с группой «ЦФ»

крови не был существенно изменен, но содержание мочевины было повышено в 4,6 раза. На фоне введения в желудок NaHCO_3 уровень мочевины имел тенденцию к дополнительному повышению, а на фоне введения HCl был снижен вдвое, оставаясь выше, чем в контроле. После введения ЦФ содержание эндотоксина в портальной крови было вчетверо выше, чем у интактных животных; введение в желудок NaHCO_3 или HCl мало влияло на этот результат. Содержание креатинина в крови крыс, получивших ЦФ, было вдвое выше, чем у интактных животных, и не претерпело существенных изменений после введения NaHCO_3 или HCl . Существенных межгрупповых различий содержания в плазме крови общего белка или альбумина не было (рис. 3). Экскреция индикана с мочой вдвое интенсифицировалась на фоне введения ЦФ, в том числе и при введении в желудок HCl . В случае введения в желудок

NaHCO_3 гипериндиканурия была представлена в виде тенденции (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

После лишения животных корма масса их желудочного содержимого определяется пропульсивной функцией желудка. Поэтому наблюдавшееся в настоящей и в предыдущей [1] работах переполнение химусом желудка у крыс, получивших ЦФ, отражало развитие у них гастростаза. Если бы изменение моторики ЖКТ ограничилось гастростазом, то поступление химуса в слепую кишку отставало бы от ее опорожнения, вследствие чего относительная масса ее химуса уменьшалась бы. Однако на фоне воздействия ЦФ масса слепокишечного химуса существенно не изменялась (рис. 1). Из этого следует,

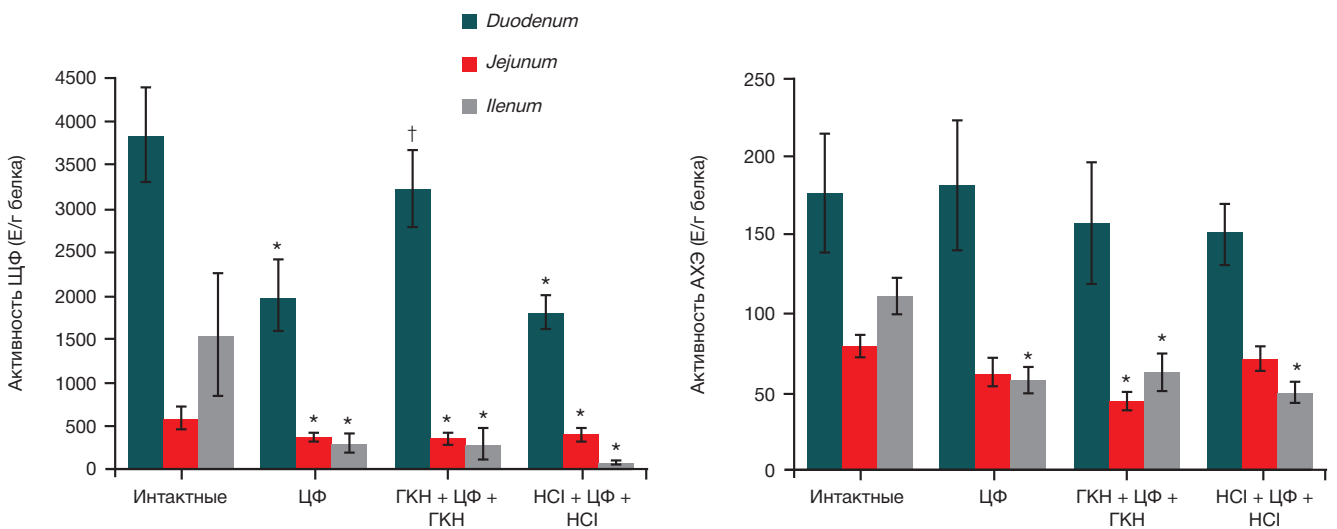


Рис. 2. Активность щелочной фосфатазы (слева) и холинэстеразы (справа) в тканях тонкой кишки крыс через 72 ч после введения циклофосфамида ($M \pm m$; $n = 8$). Значимое различие, $p < 0,05$: * — с интактной группой; † — с группой «ЦФ»

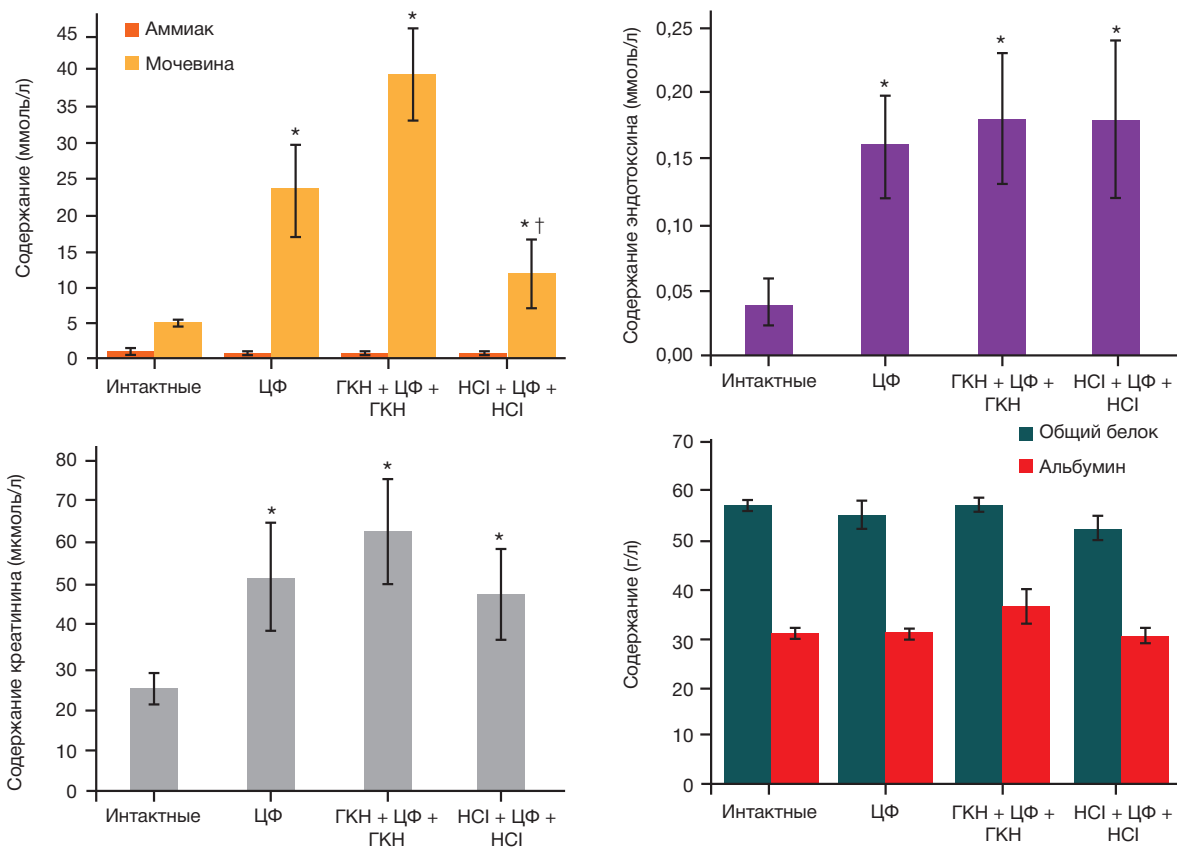


Рис. 3. Содержание аммиака, мочевины, эндотоксина, креатинина, альбумина и общего белка в плазме крови, отобранной из воротной вены крыс через 72 ч после введения циклофосфамида ($M \pm m$; $n = 8$). Значимое различие, $p < 0,05$: * — с интактной группой; † — с группой «ЦФ»

что воздействие ЦФ вело к торможению пропульсивной функции не только желудка, но и толстой кишки.

Можно предположить, что гастростаз был защитной реакцией, направленной на предупреждение травматизации химусом наиболее чувствительного к ЦФ отдела ЖКТ — тонкой кишки. Ее повреждение проявлялось энтероцитопенией, что следует из снижения содержания маркеров энтероцитов в тканях тонкой кишки (рис. 2). Другим следствием гастростаза могло быть ограничение доставки субстратов бактериям, вегетирующим в просвете толстой кишки. В ее химусе удельное содержание бактерий — на восемь порядков больше, чем в химусе желудка [9], что характеризует роль толстокишечной микрофлоры как источника эндотоксемии. При частоте деления 3 ч^{-1} (средний показатель для *Escherichia coli* при $37 \text{ }^\circ\text{C}$) теоретически возможно восьмикратное увеличение числа бактерий за час после прекращения пропульсивной функции толстой кишки. Субстратные ограничения, обусловленные гастростазом, могли сдерживать столь стремительный рост толстокишечной микрофлоры, равно как и продукцию ею аммиака. Однако желудочно-кишечный стаз не мог воспрепятствовать жизнедеятельности аммиакпродуцирующей пристеночной микрофлоры, субстратами для которой служат вещества, диффундирующие к люминальной поверхности слизистой оболочки ЖКТ из крови. Продукции аммиака в слепой кишке мог способствовать и стаз толстой кишки, препятствовавший удалению аммиакпродуцирующей микрофлоры из организма. Аммиак, продуцируемый кишечной микрофлорой, в печени вовлекается в состав мочевины. Ее содержание в крови животных, получивших ЦФ, через трое суток возрастало более чем вчетверо (рис. 3), что указывает на интенсификацию образования

аммиака в кишечнике в более ранние сроки. Эта гипотеза подкрепляется почти двукратным повышением уровня аммиака в крови крыс через 3 ч после введения ЦФ в миелоабляционной дозе [8]. Частично уремия могла быть связана и с задержкой выведения мочевины из организма: на это указывает двукратное повышение содержания в крови маркера почечной недостаточности, креатинина. Поэтому наблюдавшееся в настоящей работе повышение уровня мочевины в крови через трое суток после введения ЦФ было маркером острой кишечной эндотоксемии смешанного типа: продукционной и ретенционной.

Грамотрицательные бактерии, являющиеся источником эндотоксина, у получивших ЦФ животных могли быть сосредоточены в желудке и слепой кишке, поскольку другие отделы ЖКТ были свободны от химуса. Содержание в толстокишечном химусе эндотоксина близко к $2,5 \text{ г/л}$ [10], а его высвобождение из бактерий могло интенсифицироваться в результате их гибели из-за субстратных ограничений, обусловленных гастростазом. Толстокишечный стаз увеличивал продолжительность контакта эндотоксина с сорбирующей поверхностью слизистой оболочки, поэтому порталная эндотоксинемия после введения ЦФ (рис. 3) могла быть как продукционной, так и перераспределительной. Отсутствие влияния ЦФ на содержание белков в плазме крови свидетельствует о том, что содержание эндотоксина в биологически активной свободной форме повышалось пропорционально его суммарному содержанию в плазме.

Индикан — конечный продукт метаболизма индола, единственным источником которого в условиях эксперимента была реакция, катализируемая триптофаназой кишечной микрофлоры. Гипериндиканурия — валидный показатель избыточного роста индолпродуцирующих бактерий в ЖКТ

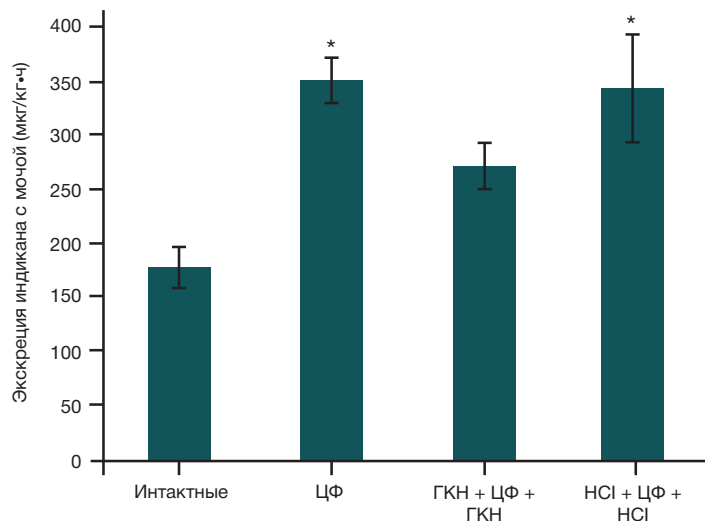


Рис. 4. Экскреция индикана с мочой крысами в период 48-72 ч после введения циклофосфамида ($M \pm m$; $n = 8$). * — значимое различие с интактной группой, $p < 0,05$

[5]. Экскреция индикана с мочой интенсифицировалась (рис. 4) вопреки нарушению экскреторной функции почек, которое проявлялось повышением уровня креатинина в крови (рис. 3). Это свидетельствует о преобладании продукционного и (или) перераспределительного компонента кишечной эндотоксемии над ретенционным у получивших ЦФ животных.

Как NaHCO_3 , так и HCl частично предотвращали развитие у крыс переполнения желудка (рис. 1), в то время как энтероцитопению частично предотвращало лишь введение в желудок NaHCO_3 . Ощелачивающее действие NaHCO_3 было преимущественно местным, поскольку предотвращало энтероцитопению лишь в *duodenum*, но не в каудальных отделах тонкой кишки и не в селезенке (рис. 2). Это подкрепляет гипотезу [1] об уменьшении цитостатического повреждения эпителия слизистой оболочки как о вероятном механизме профилактического действия NaHCO_3 на гастростаз, вызванный ЦФ. Частичное предупреждение переполнения желудка введением в него HCl могло быть обусловлено повышением в ее присутствии активности пепсина [11] и ускорением переваривания корма, потребленного животными в последующие 24 ч. Такое объяснение подкрепляется данными об угнетающем действии ЦФ на желудочную секрецию [12].

Выраженность кишечной эндотоксемии зависит от интенсивности образования токсикантов кишечной микрофлорой, проницаемости для них энтерогематического барьера и скорости их выведения из организма. У крыс, получивших ЦФ, цитостатическое повреждение было наиболее выражено в тонкой кишке [13], в то время как кишечная микрофлора была сосредоточена в желудке и слепой кишке — органах, эпителий слизистой оболочки которых более резистентен к цитостатикам. Поэтому цитостатическое повреждение тонкой кишки не могло прямо влиять на поступление в кровь токсикантов кишечного происхождения. Об этом говорит отсутствие существенного влияния NaHCO_3 , уменьшавшего выраженность энтероцитопении, на уровень эндотоксина в портальной крови (рис. 3) и на выраженность индиканурии (рис. 4) у крыс на фоне воздействия ЦФ. Различие влияния NaHCO_3 и HCl на уровень продукта обезвреживания аммиака, мочевины, в портальной крови (рис. 2) могло быть обусловлено переходом в щелочной среде аммиака

в свободную форму NH_3 , легко диффундирующую сквозь биомембраны [14], в то время как в кислой среде аммиак был представлен в ионизированной форме NH_4^+ , плохо преодолевающей энтерогематический барьер.

Таким образом, при моделировании на крысах миелоабляционной цитостатической терапии предупреждение осложняющих ее гастростаза или цитостатического повреждения тонкой кишки не устраняет острую кишечную эндотоксемию. При разработке мер профилактики осложнений миелоабляционной цитостатической терапии целесообразно оценить эффективность введения в желудок NaHCO_3 в сочетании со средствами подавления вегетации толстокишечной микрофлоры. Эти меры могут быть дополнены энтеральной детоксикацией (энтеросорбцией, кишечным лаважем) с целью удаления эндогенных токсикантов из мест их образования [15].

ВЫВОДЫ

Внутривенное введение крысам циклофосфамида в миелоабляционной дозе ведет к желудочно-кишечному стазу, цитостатическому повреждению слизистой оболочки тонкой кишки и формированию острой кишечной эндотоксемии смешанного типа. Преобладающим механизмом острой кишечной эндотоксемии при моделировании на крысах миелоабляционной цитостатической терапии является интенсификация поступления в кровь продуктов жизнедеятельности микрофлоры слепой кишки. При миелоабляционном воздействии циклофосфамида на крыс профилактика гастростаза введением в желудок слабых растворов гидрокарбоната натрия или соляной кислоты не предотвращает формирование острой кишечной эндотоксемии. При миелоабляционном воздействии циклофосфамида на крыс профилактика энтероцитопении введением в желудок слабого раствора гидрокарбоната натрия не предотвращает формирование острой кишечной эндотоксемии. При разработке мер профилактики желудочно-кишечной токсичности циклофосфамида при миелоабляционной цитостатической терапии перспективна апробация гидрокарбоната натрия в сочетании со средствами энтеральной детоксикации и подавления вегетации толстокишечной микрофлоры.

Литература

1. Вакуненко О. А., Ивницкий Ю. Ю., Гайкова О. Н., Козлов А. А., Шефер Т. В. Влияние гидрокарбоната натрия на формирование гастростаза у крыс при моделировании миелоабляционной химиотерапии циклофосфаном. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; (2): 98–104.
2. Lallès J-P. Recent advances in intestinal alkaline phosphatase, inflammation, and nutrition. *Nutrit Rev*. 2019; 77 (10): 710–24.
3. Sine JP. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the gut mucosal cells of various mammal species: distribution along the intestine and molecular forms. *Compar Biochem Physiol. C Comp Pharmacol Toxicol*. 1988; 91 (2): 597–602.
4. Dawson ME. A wealth of options. Choosing an LAL test method. Associates of Cape Cod, Inc., Woods Hole, Massachusetts. LAL Update. 1995; 13 (3): 1–6.
5. Мартынов В. Л., Семенов А. Г., Тулупов А. А., Чесноков А. А., Курилов В. А., Казарина Н. В. Индикан мочи и водородный дыхательный тест как методы скрининг-диагностики синдрома избыточного бактериального роста в тонкой кишке. *Мед. Альманах*. 2017; 2 (47): 117–21.
6. Балаховский С. Д., Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. 3-е изд. М.: Медгиз, 1953; 746 с.
7. Zar JH. *Biostatistical Analysis*. 5th ed. Prentice-Hall/Pearson: Upper Saddle River, 2010; 944 p.
8. Ивницкий Ю. Ю., Шефер Т. В., Тяптин А. А., Рейнюк В. Л. Изменения химического состава крови и головного мозга крыс при моделировании миелоабляционного режима применения циклофосфана. *Токсикол. вестник*. 2019; 156 (3): 13–18.
9. Sender R, Fuchs S. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol*. 2016; 14 (8): e1002533.
10. Bsted AC, Logan AC, Selhub EM. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: Part II – contemporary contextual research. *Gut Pathog*. 2013; 5 (1): 3.
11. Heda R, Toro F, Tombazzi CR. Physiology, pepsin. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537005/>.
12. Visnovsky P. The effect of cyclophosphamide and methotrexate on gastric emptying and secretion in rats. *Bratisl Lek Listy*. 1992; 93 (2): 90–2.
13. Dahlgren D, Sjöblom M, Hellström P, Lennemäs H. Chemotherapeutics-induced intestinal mucositis: pathophysiology and potential treatment strategies. *Front Pharmacol*. 2021; 12 (Art. 681417): 1–12.
14. Ott P, Vilstrup H. Cerebral effects of ammonia in liver disease: current hypotheses. *Metab Brain Dis*. 2014; 29 (4): 901–11.
15. Хубутия М. Ш., Кабанова С. А., Гольдфарб Ю. С., Маткевич В. А., Богопольский П. М., Бадалян А. В.. Прогноз развития клинической токсикологии в России. *Журнал им. Н. В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2016; (3): 26–31.

References

1. Vakunenkova OA, Ivitskiy JJ, Gaykova ON, Kozlov AA, Schäfer TV. Effect of sodium bicarbonate on the development of gastric stasis in the rat model of myeloablative chemotherapy with cyclophosphamide. *Extreme Medicine*. 2023; (2): 91–7.
2. Lallès J-P. Recent advances in intestinal alkaline phosphatase, inflammation, and nutrition. *Nutrit Rev*. 2019; 77 (10): 710–24.
3. Sine JP. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the gut mucosal cells of various mammal species: distribution along the intestine and molecular forms. *Compar Biochem Physiol. C Comp Pharmacol Toxicol*. 1988; 91 (2): 597–602.
4. Dawson ME. A wealth of options. Choosing an LAL test method. Associates of Cape Cod, Inc., Woods Hole, Massachusetts. LAL Update. 1995; 13 (3): 1–6.
5. Martynov VL, Semenov AG, Tulupov AA, Chesnokov AA, Kurilov VA, Kazarina NV. Urine indican and hydrogen breath test as methods of screening diagnosis of bacterial overgrowth syndrome in the small intestine. *Med. Almanakh*. 2017; 2 (47): 117–21. Russian.
6. Balakhovskiy SD, Balakhovskiy IS. *Methods of chemical blood analysis*. 3-rd ed. Moscow.: Medgiz, 1953; 746 p. Russian.
7. Zar JH. *Biostatistical Analysis*. 5th ed. Prentice-Hall/Pearson: Upper Saddle River, 2010; 944 p.
8. Ivitskiy JuJu, Schäfer TV, Tyaptin AA, Rejniuk VL. Changes in the chemical composition of the blood and brain of rats under the conditions of modeling the myeloablation regimen of cyclophosphamide administration. *Toxicologicheskii vestnik*. 2019; 156 (3): 13–8. Russian.
9. Sender R, Fuchs S. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol*. 2016; 14 (8): e1002533.
10. Bsted AC, Logan AC, Selhub EM. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: Part II – contemporary contextual research. *Gut Pathog*. 2013; 5 (1): 3.
11. Heda R, Toro F, Tombazzi CR. Physiology, pepsin. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537005/>.
12. Visnovsky P. The effect of cyclophosphamide and methotrexate on gastric emptying and secretion in rats. *Bratisl Lek Listy*. 1992; 93 (2): 90–2.
13. Dahlgren D, Sjöblom M, Hellström P, Lennemäs H. Chemotherapeutics-induced intestinal mucositis: pathophysiology and potential treatment strategies. *Front Pharmacol*. 2021; 12 (Art. 681417): 1–12.
14. Ott P, Vilstrup H. Cerebral effects of ammonia in liver disease: current hypotheses. *Metab Brain Dis*. 2014; 29 (4): 901–11.
15. Khubutiya MSh, Kabanova SA, Goldfarb YuS, Matkevich VA, Bogopolskiy PM, Badalyan AV. Prognosis of the development of clinical toxicology in Russia. *Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo «Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch»*. 2016; (3): 26–31. Russian.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ, ВЫЗВАННОГО ИНТОКСИКАЦИЕЙ КАРБОНИЛХЛОРИДОМ И ПРОДУКТАМИ ТЕРМИЧЕСКОГО РАЗЛОЖЕНИЯ ФТОРОПЛАСТА

Д. М. Ярошенко¹✉, В. С. Лопатко¹, П. Г. Толкач¹, Н. Г. Венгерович², В. А. Башарин¹

¹ Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Интоксикация ацилирующими пульмонотоксикантами приводит к формированию токсического отека легких (ТОЛ), подходы к лечению которого ограничены. Поражение легких, сходное с интоксикацией ацилирующими пульмонотоксикантами, может быть смоделировано посредством воздействия на организм продуктов термодеструкции фторопластов, содержащих перфторизобутилен. Целью исследования было сравнить проявления токсического отека легких у лабораторных животных при интоксикации ацилирующим пульмонотоксикантом (карбонилхлорид) и продуктами термического разложения фторопласта. Животных (крыс-самцов, $n = 78$) разделили на три группы: контроль; «интоксикация 1», где животных подвергали воздействию карбонилхлорида; «интоксикация 2», где их подвергали воздействию продуктов термического разложения фторопласта. Через 10 мин, 1, 3, 6, 24 и 48 ч после воздействия у животных определяли легочный коэффициент, анализировали парциальное давление кислорода (PaO_2) и диоксида углерода ($PaCO_2$) в артериальной крови. Через 3 и 6 ч после воздействия проводили гистологическое исследование тканей легких. Через 3, 6, 24 и 48 ч после воздействия карбонилхлорида и продуктов термодеструкции фторопласта были обнаружены увеличение легочного коэффициента, снижение PaO_2 и нарастание $PaCO_2$ по сравнению с контролем. Через 3 ч после воздействия исследуемых токсикантов были выявлены признаки интерстициальной, а через 6 ч после воздействия — альвеолярной фазы токсического отека легких. Выявленные изменения были схожи у животных экспериментальных групп. Результаты исследования показали, что воздействие карбонилхлорида и продуктов термодеструкции фторопласта, содержащих перфторизобутилен, приводят к сходным изменениям в раннем постинтоксикационном периоде.

Ключевые слова: карбонилхлорид, перфторизобутилен, токсический отек легких, фторопласт, продукты термодеструкции, ацилирующие агенты

Вклад авторов: Д. М. Ярошенко — выполнение экспериментальной части, обработка данных экспериментальных исследований, написание текста; В. С. Лопатко — сбор литературных данных, техническая обработка данных, написание текста; П. Г. Толкач — интерпретация результатов, написание текста; Н. Г. Венгерович — интерпретация результатов, редактирование текста; В. А. Башарин — научный замысел, определение основных направлений исследования, редактирование текста.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ (протокол № 288 от 20 февраля 2024 г.). В работе руководствовались требованиями нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе о гуманном отношении к ним (Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях).

✉ **Для корреспонденции:** Дмитрий Михайлович Ярошенко
ул. Академика Лебедева, д. 6, г. Санкт-Петербург, 194044, Россия; yaroshenko-spb@yandex.ru

Статья получена: 15.03.2024 **Статья принята к печати:** 12.06.2024 **Опубликована онлайн:** 28.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.030

COMPARATIVE ASSESSMENT OF TOXIC PULMONARY EDEMA CAUSED BY POISONING WITH CARBONYL CHLORIDE AND FLUOROPLASTIC THERMAL DEGRADATION PRODUCTS

Yaroshenko DM¹✉, Lopat'ko VS¹, Tolkach PG¹, Vengerovich NG², Basharin VA¹

¹ Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

² State Research and Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Poisoning with acylating pulmonary toxicants results in toxic pulmonary edema (TPE), the approaches to treatment of which are limited. The lung injury similar to poisoning with acylating pulmonary toxicants can be simulation through body's exposure to the fluoroplastic thermal degradation products containing perfluoroisobutylene. The study was aimed to compare toxic pulmonary edema manifestations in the laboratory animals poisoned with an acylating pulmonary toxicant (carbonyl chloride) and fluoroplastic thermal degradation products. Animals (male rats, $n = 78$) were divided into three groups: controls; Poisoning 1, where the animals were exposed to carbonyl chloride; Poisoning 2, where the animals were exposed to the fluoroplastic thermal degradation products. The animals' lung/body ratio was determined and the partial pressure of arterial oxygen (PaO_2) and carbon dioxide ($PaCO_2$) was assessed 10 min, 1, 3, 6, 24, and 48 h after the exposure. Histological examination of lung tissue was performed 3 and 6 h after the exposure. The increase in the lung/body ratio, decrease in PaO_2 , and increase in $PaCO_2$ relative to controls were revealed 3, 6, 24, and 48 h after the exposure to carbonyl chloride and fluoroplastic thermal degradation products. The signs of the interstitial toxic pulmonary edema phase were detected 3 h after the exposure to the studied toxicants, and the signs of alveolar phase were revealed after 6 h. Similar changes were identified in animals of the experimental groups. The findings have shown that the exposure to carbonyl chloride and the fluoroplastic thermal degradation products containing perfluoroisobutylene lead to similar changes in the early post-intoxication period.

Keywords: carbonyl chloride, perfluoroisobutylene, toxic pulmonary edema, fluoroplastic, combustion products, acylating agents

Author contribution: Yaroshenko DM — experimental part of the study, processing of experimental study results, manuscript writing; Lopatko VS — literature review, technical data processing, manuscript writing; Tolkach PG — interpretation of the results, manuscript writing; Vengerovich NG — interpretation of the results, manuscript editing; Basharin VA — research concept, determining the main directions of the study, manuscript editing.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation (protocol No. 288 dated 20 February 2024). The research procedure was guided by the requirements of the regulatory legal acts on conducting animal experiments, including humane handling of animals (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes).

✉ **Correspondence should be addressed:** Dmitry M. Yaroshenko
Akademika Lebedeva, 6, Saint-Petersburg, 194044, Russia; yaroshenko-spb@yandex.ru

Received: 15.03.2024 **Accepted:** 12.06.2024 **Published online:** 28.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.030

Спектр веществ, способных при ингаляционном поступлении приводить к формированию токсического отека легких (ТОЛ), весьма разнообразен. В отдельную группу следует выделить пульмоноотоксиканты с ацилирующим механизмом действия: карбонилхлорид и перфторизобутилен [1, 2].

Карбонилхлорид и перфторизобутилен используют в различных отраслях промышленности. Так, карбонилхлорид применяют в качестве исходного компонента для синтеза пестицидов, пластиков, красителей, изоцианатов и др. Для нужд промышленности ежегодно производят около 12 млн тонн карбонилхлорида [3, 4]. Перфторизобутилен используют для синтеза различных фторопластов. Помимо этого, он образуется при термодеструкции некоторых фторсодержащих полимеров [2, 4]. Наиболее вероятные ситуации, сопровождающиеся интоксикацией карбонилхлоридом и перфторизобутиленом, могут возникнуть во время аварий на соответствующих химически опасных объектах [1, 3, 5], в том числе при совершении террористических актов и диверсионных атак на такие объекты [6].

Ингаляционная интоксикация карбонилхлоридом и перфторизобутиленом приводит к развитию токсического отека легких, механизм формирования которого на сегодняшний день окончательно не установлен [1, 2]; эффективные подходы к лечению токсического отека легких отсутствуют [1, 2, 7]. Согласно данным литературы, патологические изменения, которые наблюдают у лабораторных животных при интоксикации карбонилхлоридом и перфторизобутиленом, весьма схожи, что свидетельствует об общих механизмах действия указанных токсикантов [4].

На сегодняшний день в литературе описаны подходы к моделированию токсического отека легких, вызванного воздействием химически чистого карбонилхлорида и перфторизобутилена [1, 4, 8]. Известно, что при термическом разложении фторопластов образуется перфторизобутилен [2], которым, в первую очередь, обусловлена токсичность образовавшихся продуктов термодеструкции [9]. С учетом того, что фторопласт сам по себе не требует специфических условий хранения, а продукты его термодеструкции можно получить *ex tempore*, модель токсического отека легких, вызванного воздействием продуктов термодеструкции фторопласта, может быть использована для поиска средств этиотропной и патогенетической терапии отравлений ацилирующими пульмоноотоксикантами.

Целью исследования было сравнить проявления токсического отека легких у лабораторных животных при интоксикации ацилирующим пульмоноотоксикантом (карбонилхлорид) и продуктами термического разложения фторопласта, содержащими перфторизобутилен.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования выполняли на беспородных половозрелых крысах-самцах массой 180–200 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Россия) ($n = 78$). Животных разделили на группы (по шесть животных в группе): контроль; «интоксикация 1», где крыс подвергали воздействию карбонилхлорида; «интоксикация 2», где их подвергали воздействию продуктов термического разложения фторопласта. Для седации, аналгезии и выведения животных из эксперимента использовали раствор тилетамина + золазепам (Золетил 100, Virbak; Франция) в соответствующих дозировках.

В камере объемом 0,25 м³ выполняли статическую ингаляционную интоксикацию крыс карбонилхлоридом. Моделирование воздействия на крыс продуктов термического разложения фторопласта-4 термообработанного гранулированного (далее — фторопласт) осуществляли в оригинальной установке [10]. Температура термического разложения составила 320–650 °С, а длительность термического воздействия — 3 мин.

Моделировали статическую ингаляционную интоксикацию крыс карбонилхлоридом и продуктами термического разложения фторопласта в средних летальных концентрациях, экспозиция составила 15 мин. В ингаляционной камере определяли концентрацию карбонилхлорида при помощи газоанализатора PortaSens II (АТІ; США). Качественное определение перфторизобутилена в газовой смеси осуществляли методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (хроматограф Agilent 7890В с масс-селективным детектором Agilent 240 MS (Agilent; США)). При помощи газоанализатора Автотест-02.02 (Мета; Россия) в ингаляционной камере определяли содержание монооксида углерода (СО), диоксида углерода (СО₂) и кислорода (О₂).

Лабораторных животных выводили из эксперимента через 10 мин, 1, 3, 6, 24 и 48 ч после воздействия. У них определяли легочный коэффициент, оценивали парциальное давление кислорода (РаО₂), парциальное давление углекислого газа (РаСО₂), показатель кислотности (рН) артериальной крови при помощи биохимического анализатора i-STAT (Abbott; США). Леночные срезы легких выполняли на санном микротоме PFM Slide 2003 (PFM Medical GmbH; Германия). Полученные микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином и располагали на предметных стеклах. Гистологическое исследование выполняли с помощью микроскопа Leica DM2000 (Leica Microsystems; Германия). Фоторегистрацию осуществляли с помощью камеры Olympus LC35 (Olympus Scientific Solutions; Япония).

Полученные экспериментальные данные выражали в виде медианы, первого и третьего квартилей (Ме [Q₁; Q₃]). Для сравнения двух и более независимых групп использовали критерий Краскела–Уоллиса; критерий Ньюмана–Кейлса использовали для выполнения множественных попарных сравнений. О значимости различий между группами судили при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При моделировании интоксикации животных карбонилхлоридом и продуктами термодеструкции фторопласта был выполнен анализ газовой смеси в ингаляционной камере. Концентрация карбонилхлорида составила 68 ppm, диоксида углерода — 472 ppm, кислорода — 20,8%. После окончания термодеструкции фторопласта в ингаляционной камере определили перфторизобутилен, монооксид углерода (780 ppm), диоксид углерода (1120 ppm) и кислород в концентрации 20,4%.

Во время моделирования интоксикации животных карбонилхлоридом и продуктами термического разложения фторопласта признаки раздражающего действия выявлены не были. После извлечения животных из ингаляционной камеры их состояние не отличалось от состояния крыс из контрольной группы.

Динамика легочного коэффициента крыс приведена на рис. 1. Через 10 мин и 1 ч после воздействия легочный

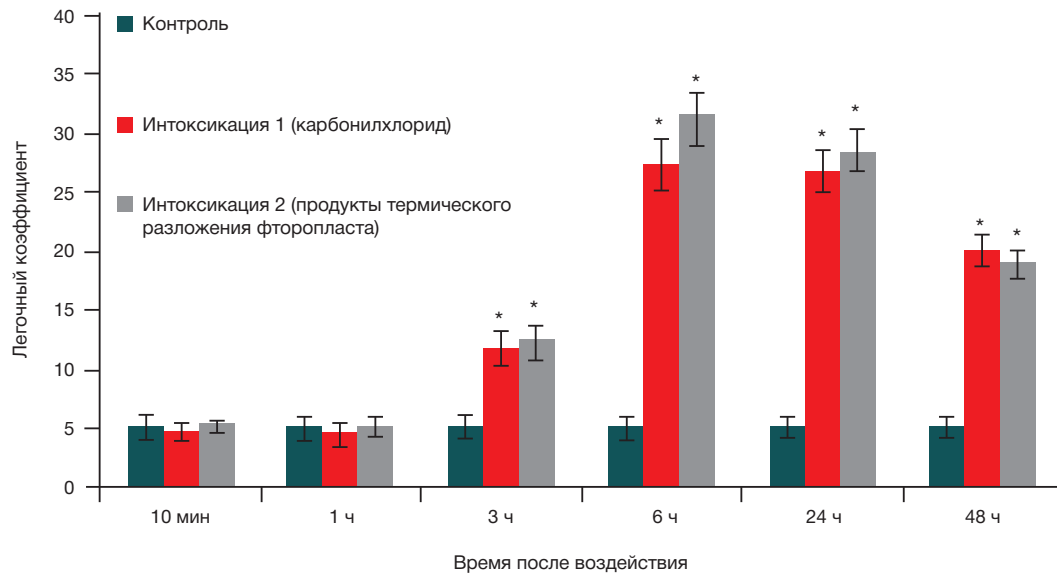


Рис. 1. Динамика легочного коэффициента крыс после воздействия карбонилхлорида и продуктов термического разложения фторопласта (отн. ед. (Me [Q₁; Q₃])). * — значимые различия по сравнению с контролем; в каждой группе по шесть животных

коэффициент животных из экспериментальных групп не отличался от показателя животных из контрольной группы. Через 3, 6, 24 и 48 ч после воздействия определили значимое увеличение ($p < 0,05$) легочного коэффициента животных из экспериментальных групп по сравнению с контролем, при этом значимых различий между животными из экспериментальных групп выявлено не было (рис. 1).

Гистологическое исследование не выявило патологических изменений в легких крыс, полученных через 1 ч после воздействия исследуемых токсикантов. Нарастание легочного коэффициента через 3 ч после воздействия сопровождалось появлением микроскопических изменений в тканях легких (рис. 2). Через 3 ч после воздействия карбонилхлорида и продуктов

термодеструкции фторопласта на гистологических препаратах выявили утолщение межальвеолярных перегородок, пропитывание их нейтрофилами и эритроцитами, полнокровие сосудов, появление единичных эритроцитов в полости альвеол. Через 6 ч после воздействия на микропрепаратах определили чередование эмфизематозно расширенных участков и отечных альвеол, заполненных экссудатом, содержащим нити фибрина, сегментоядерные нейтрофилы и единичные эритроциты. Часть альвеол увеличена в размерах, перегородки между ними истончены, местами отсутствуют. Просветы бронхов содержат слущенный эпителий. В периваскулярной и перибронхиальной ткани видна лимфоидная инфильтрация. Выявленные гистологические

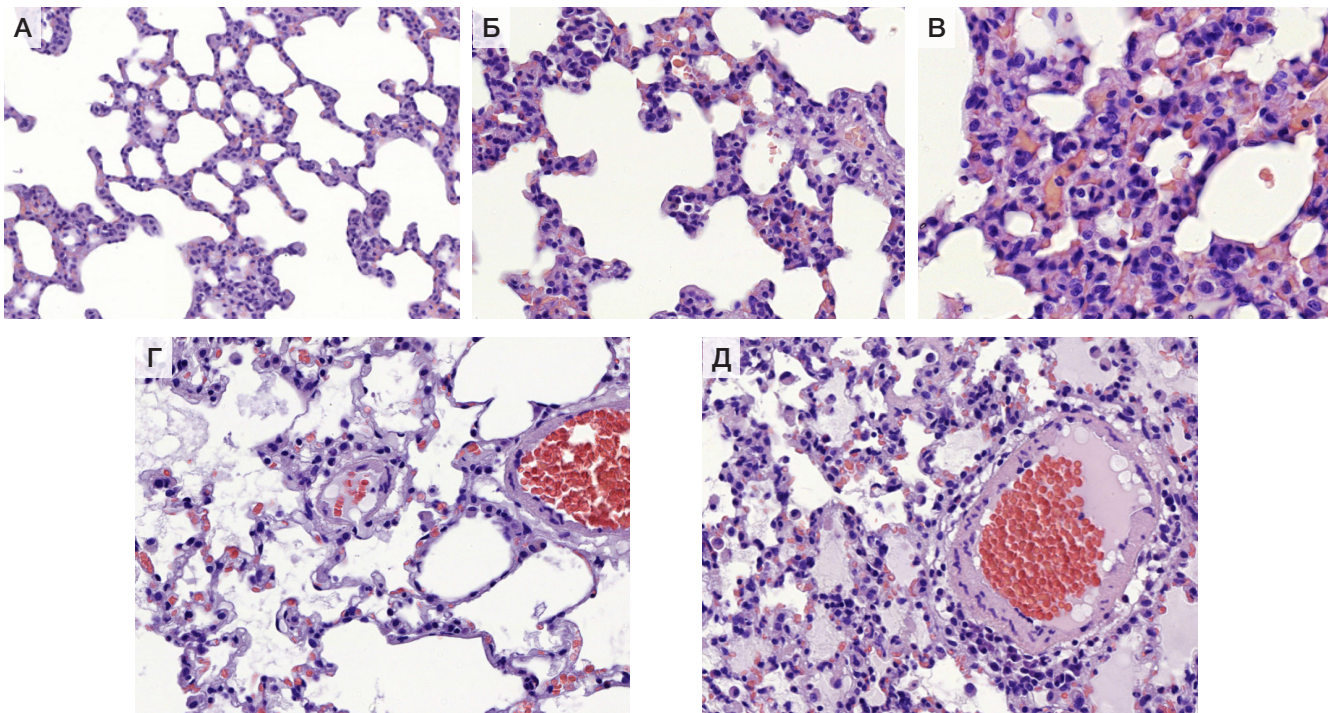


Рис. 2. Гистологические изменения в тканях легких крыс через 3 и 6 ч после воздействия карбонилхлорида и продуктов термодеструкции фторопласта (гематоксилин и эозин, ув. $\times 50$). А. Контроль. Б. Интоксикация 1 (карбонилхлорид), 3 ч. В. Интоксикация 2 (продукты термического разложения фторопласта), 3 ч. Г. Интоксикация 1 (карбонилхлорид), 6 ч. Д. Интоксикация 2 (продукты термического разложения фторопласта), 6 ч

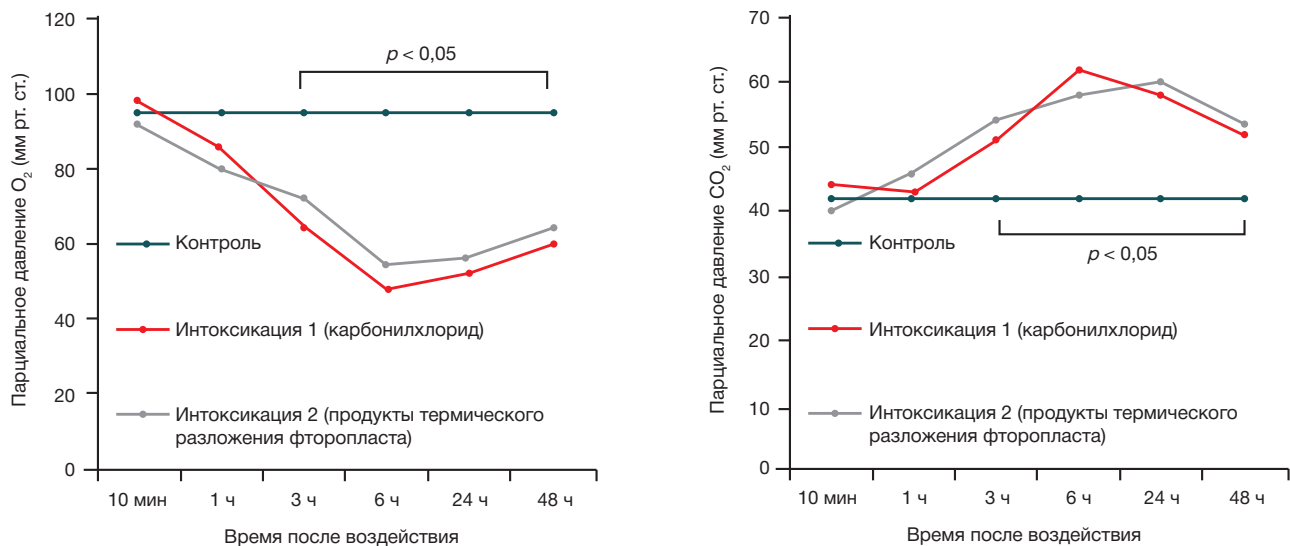


Рис. 3. Динамика парциального давления кислорода (слева) и диоксида углерода (справа) в артериальной крови крыс в различные сроки после воздействия карбонилхлорида и продуктов термического разложения фторопласта (мм рт. ст. (Ме)). $P < 0,05$ — значимые различия по сравнению с группами «интоксикация 1» (карбонилхлорид) и «интоксикация 2» (продукты термического разложения фторопласта)

изменения свидетельствуют о формировании токсического отека легких (рис. 2).

Для косвенной оценки газообмена в легких исследовали газовый состав артериальной крови. Отмечены значимое снижение ($p < 0,05$) PaO_2 и значимое увеличение ($p < 0,05$) $PaCO_2$ уже через 1 ч после воздействия исследуемых токсикантов. Через 3, 6, 24 и 48 ч после воздействия у животных исследуемых групп определили значимую гипоксемию (снижение PaO_2) и гиперкапнию (повышение $PaCO_2$) крови крыс, подвергшихся интоксикации как карбонилхлоридом, так и продуктами термодеструкции фторопласта (рис. 3). Накопление диоксида углерода в крови крыс приводило к снижению показателя кислотности. Так, через 6 ч после воздействия pH крови снизился до 7,22 [7,19; 7,29] и 7,18 [7,11; 7,23] (группы «интоксикация 1» и «интоксикация 2» соответственно).

Выявленные изменения в газовом составе артериальной крови были схожи у крыс, подвергшихся интоксикации карбонилхлоридом и продуктами термического разложения фторопласта в исследуемые сроки (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При термическом разложении фторопласта в ингаляционной камере определили перфторизобутилен, которым в первую очередь обусловлена токсичность образовавшейся газовой смеси [9]. Концентрация монооксида углерода в ингаляционной камере соответствовала 0,1 LC_{50} (для крыс при экспозиции 15 мин) [11]. Концентрация кислорода падала не ниже 20,4%. Таким образом, тяжесть состояния животных не может быть обусловлена гипоксической и/или гемической гипоксией.

В выполненном исследовании патологические процессы в тканях легких крыс, подвергшихся воздействию исследуемых токсикантов, выявили через 3 ч после окончания воздействия. Обнаружено увеличение легочного коэффициента, что косвенно свидетельствует о накоплении внесосудистой воды в легких [12]. По мере манифестации токсического отека легких (через 6 ч после воздействия) было определено еще большее значение легочного коэффициента, которое оставалось повышенным через 24 и 48 ч после воздействия.

Увеличение легочного коэффициента сопровождалось появлением микроскопических изменений в тканях легких. Через 3 ч после воздействия исследуемых токсикантов были определены признаки, характерные для интерстициальной фазы, а через 6 ч — признаки, характерные для альвеолярной фазы токсического отека легких.

Нарушение структуры аэрогематического барьера сопровождалось расстройством газообмена. Так, через 6 ч после воздействия были определены наиболее выраженное снижение PaO_2 и увеличение $PaCO_2$ в артериальной крови. Такие изменения связаны с нарушением диффузии газов, вызванным увеличением толщины аэрогематического барьера вследствие накопления внесосудистой жидкости [12]. Накопление диоксида углерода в артериальной крови и нарушение процессов аэробного окисления, обусловленное артериальной гипоксемией, приводили к изменению кислотно-основного состояния крови, проявляющемуся в виде смешанного ацидоза.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что тяжесть состояния лабораторных животных, подвергшихся интоксикации карбонилхлоридом и продуктами термического разложения фторопласта, обусловлена дыхательной гипоксией. Среди проявлений дыхательной гипоксии выявили артериальную гипоксемию и изменение кислотно-основного состояния, вызванные нарушением целостности аэрогематического барьера и расстройством газообмена в легких. Важно отметить, что в исследуемые сроки проявления токсического отека легких были схожи у крыс, подвергшихся воздействию как карбонилхлорида, так и продуктов термического разложения фторопласта, содержащих перфторизобутилен.

ВЫВОДЫ

Проявления токсического отека легких (артериальная гипоксемия и гиперкапния, морфологические изменения в тканях легких, легочный коэффициент), вызванного воздействием на крыс продуктов термодеструкции фторопласта, содержащих перфторизобутилен, были схожи с таковыми при воздействии химически чистого карбонилхлорида в раннем постинтоксикационном периоде. С учетом того, что фторопласт инертен в

химическом, физическом и биологическом отношении, не требует специфических условий хранения [9], продукты его термодеструкции, полученные *ex tempore*, могут быть использованы для моделирования токсического отека легких у животных, что продемонстрировано в настоящем исследовании. Таким образом, рассмотренная модель

позволяет адекватно воспроизводить токсический отек легких у крыс, сходный с таковым при интоксикации ацилирующими пульмонотоксикантами, что дает возможность проводить экспериментальные исследования по дальнейшему изучению механизма развития и поиску средств коррекции токсического отека легких.

Литература

1. Cao C, Zhang L, Shen J. Phosgene-induced acute lung injury: approaches for mechanism-based treatment strategies. *Front Immunol.* 2022; (13): 917395.
2. Patocka J. Perfluoroisobutene: poisonous choking gas. *Mil Med Sci Lett (Voj Zdrav Listy).* 2019; 883): 98–105.
3. Lu Q, Huang S, Meng X, Zhang J, Yu S, Li J, et al. Mechanism of phosgene-induced acute lung injury and treatment strategy. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (20): 10933.
4. Muir B, Cooper DB, Carrick WA, Timperley CM, Slater BJ, Quick S. Analysis of chemical warfare agents III. Use of bis-nucleophiles in the trace level determination of phosgene and perfluoroisobutylene. *J Chromatogr A.* 2005; 1098 (1-2): 156–65.
5. Marzec J, Nadadur S. Countermeasures against pulmonary threat agents. *J Pharmacol Exp Ther.* 2024; 388 (2): 560–7.
6. Безмакова А. Л., Потапова А. В., Юдин М. А., Чепур С. В., Шефер Т. В. Из истории использования химического оружия как инструмента диверсификации военно-политического влияния. *Военно-медицинский журнал.* 2023; 344 (11): 68–74.
7. Mistry S, Scott TE, Jugg B, Perrott R, Saffaran S, Bates DG. An in-silico porcine model of phosgene-induced lung injury predicts clinically relevant benefits from application of continuous positive airway pressure up to 8 h post exposure. *Toxicol Lett.* 2024; (391): 45–54.
8. Zhang XD, Yu WH, Liu MM, Liu R, Wu H, Wang Z, et al. Pentoxifylline inhibits phosgene-induced lung injury via improving hypoxia. *Drug Chem Toxicol.* 2023; 46 (6): 1100–7.
9. Паншин Ю. А., Малкевич С. Г., Дунаевская Ц. С. Фторопласты. Л.: Химия, 1978; 232 с.
10. Толкач П. Г., Башарин В. А., Сизова Д. Т., Чайкина М. А., Лопатко В. С. Камера термоокислительной деструкции для оценки показателя токсичности продуктов горения. Патент RU2791221C1. 3.06.2023.
11. Зобнин Ю. В., редактор. Отравление монооксидом углерода (угарным газом). СПб.: Тактик-Студио, 2011; 86 с.
12. Мороз В. В., Голубев А. М., Кузовлев А. Н. Отек легких: классификация, механизмы развития, диагностика. *Общая реаниматология.* 2009; (1): 83–8.

References

1. Cao C, Zhang L, Shen J. Phosgene-induced acute lung injury: approaches for mechanism-based treatment strategies. *Front Immunol.* 2022; (13): 917395.
2. Patocka J. Perfluoroisobutene: poisonous choking gas. *Mil Med Sci Lett (Voj Zdrav Listy).* 2019; 883): 98–105.
3. Lu Q, Huang S, Meng X, Zhang J, Yu S, Li J, et al. Mechanism of phosgene-induced acute lung injury and treatment strategy. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (20): 10933.
4. Muir B, Cooper DB, Carrick WA, Timperley CM, Slater BJ, Quick S. Analysis of chemical warfare agents III. Use of bis-nucleophiles in the trace level determination of phosgene and perfluoroisobutylene. *J Chromatogr A.* 2005; 1098 (1-2): 156–65.
5. Marzec J, Nadadur S. Countermeasures against pulmonary threat agents. *J Pharmacol Exp Ther.* 2024; 388 (2): 560–7.
6. Bezmakova AL, Potapova AV, Judin MA, Chepur SV, Shefer TV. Iz istorii ispol'zovaniya himicheskogo oruzhija kak instrumenta diversifikacii voenno-politicheskogo vlijaniya. *Voenno-meditsinskij zhurnal.* 2023; 344 (11): 68–74. Russian.
7. Mistry S, Scott TE, Jugg B, Perrott R, Saffaran S, Bates DG. An in-silico porcine model of phosgene-induced lung injury predicts clinically relevant benefits from application of continuous positive airway pressure up to 8 h post exposure. *Toxicol Lett.* 2024; (391): 45–54.
8. Zhang XD, Yu WH, Liu MM, Liu R, Wu H, Wang Z, et al. Pentoxifylline inhibits phosgene-induced lung injury via improving hypoxia. *Drug Chem Toxicol.* 2023; 46 (6): 1100–7.
9. Panshin JuA, Malkevich SG, Dunaevskaja CS. Ftoroplasty. L.: Himija, 1978. 232 p. Russian.
10. Tolkach PG, Basharin VA, Sizova DT, Chajkina MA, Lopatko VS. Kamera termookislitel'noj destrukcii dlja ocenki pokazatelja toksichnosti produktov gorenija. Patent RU2791221C1. 3.06.2023.
11. Zobnin JuV, redaktor. Otravlenie monooksidom ugleroda (ugarnym gazom). SPb.: Taktik-Studio, 2011; 86 p. Russian.
12. Moroz VV, Golubev AM, Kuzovlev AN. Otek legkih: klassifikacija, mehanizmy razvitija, diagnostika. *Obshhaja reanimatologija.* 2009; (1): 83–8. Russian.

ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ ФАНТОМ ДЛЯ ДОЗИМЕТРИИ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА ДЕСЯТИЛЕТНЕГО РЕБЕНКА ОТ ИНКОРПОРИРОВАННЫХ БЕТА-ИЗЛУЧАТЕЛЕЙ

П. А. Шарагин¹✉, Е. И. Толстых¹, Е. А. Шишкина^{1,2}

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России, Челябинск, Россия

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Остеотропные радионуклиды, в частности ^{89,90}Sr, могут попадать в окружающую среду при различных техногенных радиационных инцидентах, откуда с пищей и водой они поступают в организм человека, что приводит к внутреннему облучению красного костного мозга (ККМ). Эти элементы были в составе радиоактивных сбросов в реку Теча в 1950-е гг., и являются основным источником облучения ККМ жителей прибрежных территорий. Оценка доз на ККМ опирается на дозиметрическое моделирование, которое включает разработку трехмерных вычислительных фантомов частей скелета. На основе имитации переноса энергии в этих фантомах оценивают коэффициенты перехода от активности радионуклида в кости к мощности дозы в ККМ. Целью исследования было разработать вычислительный фантом скелета десятилетнего ребенка для оценки доз на ККМ от инкорпорированных бета-излучателей. Для создания фантомов использовали оригинальный SPSD (от англ. stochastic parametric skeletal dosimetry) подход. Согласно данной методике, участки скелета, содержащие ККМ, разбивались на меньшие сегменты простой геометрической формы, для которых генерировались воксельные фантомы. Параметры для генерации фантомов основаны на опубликованных данных, они включали: линейные размеры костей, толщину кортикального слоя, характеристики костной микроархитектуры, плотность и химический состав моделируемых сред и долю содержания ККМ в костях. Сгенерированный вычислительный фантом участков скелета с активным гемопоэзом десятилетнего ребенка состоит из 38 фантомов-сегментов. Линейные размеры сегментов были 3–88 мм, толщина кортикального слоя — 0,2–2,2 мм.

Ключевые слова: трабекулярная кость, кортикальная кость, дозиметрия костного мозга, вычислительные фантомы, Sr

Финансирование: работа выполнена в рамках реализации Федеральной целевой программы «Федеральная целевая программа «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 годы и на период до 2035 года» и при финансовой поддержке Федерального медико-биологического агентства России.

Вклад авторов: П. А. Шарагин — получение, анализ и интерпретация данных, написание статьи; Е. И. Толстых — разработка методики исследования, редактирование статьи; Е. А. Шишкина — разработка концепции, редактирование статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Павел Алексеевич Шарагин
ул. Воровского, д. 68-а, г. Челябинск, 454141, Россия; sharagin@urcrm.ru

Статья получена: 20.05.2024 **Статья принята к печати:** 21.06.2024 **Опубликована онлайн:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.032

COMPUTATIONAL PHANTOM FOR THE DOSIMETRY OF THE RED BONE MARROW OF A 10-YEAR-OLD CHILD DUE TO INCORPORATED BETA-EMITTERS

Sharagin PA¹✉, Tolstykh EI¹, Shishkina EA^{1,2}

¹ Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Bone-seeking radionuclides, in particular ^{89,90}Sr, could get into the environment in the course of various anthropogenic radiation incidents. From there they enter a human body with food and water. This leads to red bone marrow (RBM) internal exposure. These elements were present in the composition of radioactive releases into the Techa River in 1950s, and are the major source of RBM exposure for the residents of the riverside settlements. RBM dose estimation relies on dosimetric modeling which comprises the development of 3D computational phantoms of the skeleton parts. By imitating the energy transfer in these phantoms, the conversion coefficients from the radionuclide activity in a bone to the dose rate in RBM are evaluated. The given study is yet another step in the research aimed at the elaboration of a set of computational phantoms of the skeleton for people of various age. The objective is to develop a computational phantom of a skeleton of a 10-year-old child to estimate dose to RBM due to incorporated beta-emitters. Original SPSD (stochastic parametric skeletal dosimetry) approach was used to create the phantoms. According to this method the skeleton sites containing RBM were divided into smaller segment of simple geometric shape, for which voxel phantoms were generated. The parameters for phantom generation were based on published research data. They included: linear dimensions of bones, thickness of the cortical layer, characteristics/properties of the bone micro-architecture, density and chemical composition of the modelled media and the percentage of RBM content in bones. Generated computational phantom of the skeleton sites with active hematopoiesis of a 10-year-old child consists of 38 phantom-segments. Linear dimensions of the segments were from 3 to 88 mm, cortical layer thickness: 0.2–2.2 mm.

Keywords: trabecular bone, cortical bone, bone marrow dosimetry, computational phantoms, Sr

Funding: the study was performed within the framework of the Federal Target Program "Ensuring Nuclear and Radiation Safety for 2016–2020 and the Period up to 2035" and supported by the Federal Medical Biological Agency of Russia.

Author contribution: Sharagin PA — data acquisition, analysis, and interpretation; manuscript drafting and revising. Tolstykh EI — study methodology elaboration, manuscript revising and approval; Shishkina EA — study design and concept development, manuscript revising and approval.

✉ **Correspondence should be addressed:** Pavel A. Sharagin
Vorovskogo, 68-a, Chelyabinsk, 454141, Russia; sharagin@urcrm.ru

Received: 20.05.2024 **Accepted:** 21.06.2024 **Published online:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.032

Внутреннее облучение красного костного мозга (ККМ) остеотропными радионуклидами может приводить к серьезным медицинским последствиям для организма. Наиболее опасными и распространенными остеотропными

радионуклидами являются ^{89,90}Sr. Эти элементы присутствовали в составе глобальных выпадений в результате испытаний ядерного оружия, а также поступали во внешнюю среду в результате других радиационных

инцидентов [1]. В частности, изотопы стронция присутствовали в составе радиоактивных сбросов в реку Теча в 1950-е гг., что привело к их накоплению в организме жителей прибрежных территорий [2–5]. Именно $^{89,90}\text{Sr}$ были основными источниками облучения ККМ для лиц в составе когорты реки Теча. Оценка доз этих радионуклидов является сложной задачей, которая включает в себя биокинетическое моделирование метаболизма радионуклида с целью оценки его концентрации в кости (ткани-источнике) [6], а также дозиметрическое моделирование, которое позволяет оценить коэффициенты перехода (DF) от активности радионуклида в кости к мощности поглощенной дозы в ККМ. Дозиметрические модели имитируют взаимное расположение ткани-источника и ткани-мишени. В настоящее время в качестве таких моделей используют вычислительные фантомы — трехмерные модели скелета и ККМ, внутри которых проводят имитацию переноса излучений. Современные фантомы скелета для оценки доз ККМ основаны на анализе изображений компьютерной томографии (КТ) скелета ограниченного числа умерших людей [7–13]. Ограниченное количество биопсийного материала не позволяет оценить неопределенности, связанные с изменчивостью размеров и микроархитектуры скелета внутри популяции. В качестве альтернативы в ФГБУН УНПЦ РМ был разработан оригинальный параметрический метод стохастического моделирования костных структур — SPSPD-моделирование (от англ. stochastic parametric skeletal dosimetry) [14, 15]. В рамках этого подхода предлагается использовать в качестве параметров модели многочисленные опубликованные результаты морфометрических и гистоморфометрических исследований костей. Большая статистика опубликованных измерений позволяет оценить неопределенности, связанные с индивидуальной вариабельностью параметров скелета. Общий SPSPD-фантом скелета представляет собой совокупность небольших фантомов-сегментов. Они представляют собой виртуальные модели простой геометрической формы, заполненные внутри трабекулярной костью с ККМ, расположенным в промежутках между трабекулами (костными тяжами). Часть поверхностей фантома покрыта слоем сплошной кортикальной кости. Таким образом SPSPD-фантомы имеют в своем составе две ткани-источника облучения: трабекулярную и кортикальную кость и одну ткань-детектор — ККМ.

Эта модель хорошо подходит для внутренней дозиметрии остеотропных бета-излучателей [14, 15]. Адекватность модели подтверждена хорошей сходимостью рассчитанных энергетических зависимостей для SPSPD-фантомов и аналогичных зависимостей, представленных в литературе [14, 16, 17].

В случае облучения населения радионуклиды могут поступать в организм человека разных возрастных групп. Так, в случае радиационного загрязнения реки Течи облучению подверглись лица в диапазоне от новорожденного до людей преклонного возраста [2–4, 18]. С целью оценки доз на ККМ для всех возрастных групп ранее нами были созданы SPSPD-фантомы скелета новорожденного [19], годовалого [20] и пятилетнего ребенка [21].

Цель настоящего исследования — разработка вычислительного фантома скелета десятилетнего ребенка для оценки доз в ККМ от инкорпорированных в кости бета-излучающих радионуклидов. Данное исследование — продолжение работы по созданию набора вычислительных фантомов стандартного человека для различных возрастных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вычислительный фантом 10-летнего ребенка был сгенерирован в рамках методики SPSPD так же, как и фантомы для младших возрастных групп [14]. Метод включал в себя следующие этапы:

- 1) оценка распределения ККМ внутри скелета, выделение моделируемых участков скелета с активным гемопоэзом (гемопоэтических сайтов);
- 2) оценка линейных размеров и параметров микроархитектуры моделируемых костей по опубликованным данным;
- 3) сегментация гемопоэтических сайтов;
- 4) генерация воксельных фантомов для каждого сегмента.

Для оценки распределения ККМ внутри скелета десятилетнего ребенка использовали данные МКРЗ [13], которые основаны на результатах МРТ-исследований [22].

Суммарно анализ включал результаты 11 927 измерений образцов костей [23, 24]. Для оценки морфометрических параметров фантомов десятилетнего ребенка рассматривали статьи в рецензируемых изданиях, атласы, руководства, монографии и диссертации. Также изучали электронные ресурсы, содержащие коллекции рентгеновских снимков. Для анализа принимали результаты измерений людей/образцов, определенных авторами как здоровые и не имеющие заболеваний, приводящих к деформации кости. Этническая принадлежность — европеоиды и монголоиды, так как эти группы характерны для Уральского региона. Возраст субъектов — 8–12 лет.

Данные гистоморфометрии и микро-КТ были использованы для оценки параметров трабекулярной кости (*Tb. Th.*, *Tb. Sp.*, *BV/TV*) и толщины кортикального слоя. Оценивали следующие характеристики костной микроархитектуры: толщину трабекул (*Tb. Th.*), размер межтрабекулярного пространства (*Tb. Sp.*), долю костной ткани в объеме кости (*BV/TV*). Рассматривали данные измерений линейных размеров костей скелета с помощью различных техник: микрометров, анатомических боксов, ультразвуковых и рентгенологических исследований, а также КТ.

Кости в составе каждого участка скелета с активным гемопоэзом были разделены на относительно небольшие сегменты, для каждого сегмента будет смоделирован так называемый базовый фантом сегмента кости (БФСК) [25, 26]. Каждый сегмент должен иметь относительно однородную микроархитектуру и толщину кортикального слоя кости. Сегменты должны быть описаны простыми геометрическими формами (цилиндр, прямоугольный параллелепипед и др.) Такое разделение позволило учесть неоднородную микроархитектуру внутри кости. Кроме того, относительно небольшой размер сегментов позволяет генерировать имитирующие их фантомы с достаточно высоким разрешением.

В качестве параметров вычислительных фантомов принимали усредненные значения характеристик костей. Если были доступны опубликованные данные по индивидуальным измерениям, мы объединяли их и рассчитывали арифметические средние и стандартные отклонения (SD). В случае усреднения результатов исследований групп людей для каждой группы вводили взвешивающий коэффициент (W_N), который учитывал количество (N) исследуемых субъектов: $W_N = 1$, если $N \geq 25$; $W_N = N/25$, если $N < 25$. Методы отбора и анализа литературных данных подробно описаны ранее [23].

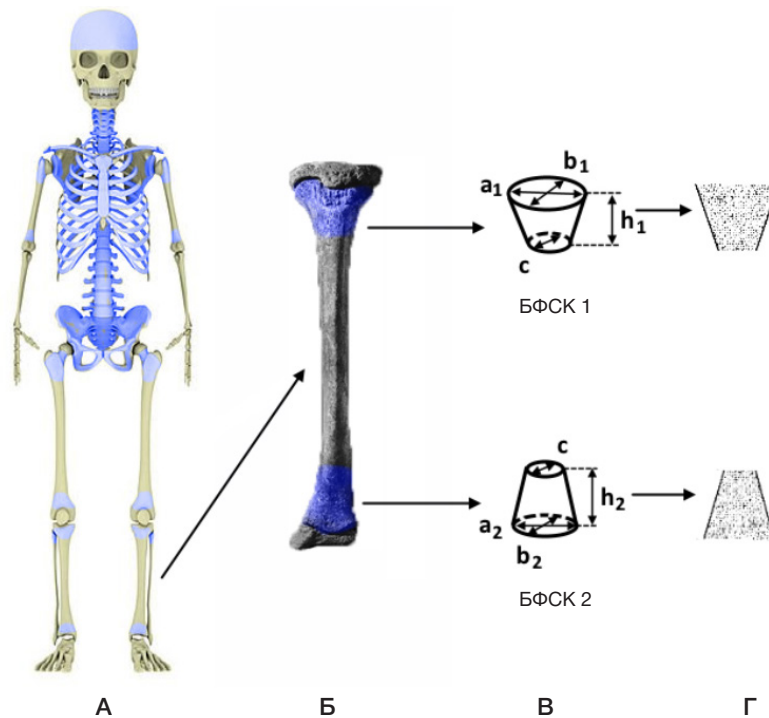


Рис. 1. Гемопоэтические сайты скелета десятилетнего ребенка и их сегментация на примере большеберцовой кости. **А.** Скелет десятилетнего ребенка (синим цветом выделены моделируемые участки скелета с активным гемопозом). **Б.** Большеберцовая кость (синим цветом выделены моделируемые участки скелета с активным гемопозом). **В.** Схема разделения кости на БФСК и их линейные параметры. **Г.** БФСК большеберцовой кости в воксельном представлении в разрезе (черным цветом показаны воксели, имитирующие кость, белым — ККМ)

Линейные размеры и параметры костной микроархитектуры, определяющие геометрию тканей источников и мишеней в составе БФСК, были определены отдельно для каждого сегмента. Помимо этих параметров, на основе опубликованных данных [27, 28] были определены химический состав и плотность моделируемых сред, которые были применены для всех БФСК десятилетнего ребенка.

Для каждого сегмента скелета был сгенерирован БФСК в воксельной форме, для этого использовали оригинальную программу Trabecula [29]. Каждый воксель в составе БФСК имитирует либо минерализованную кость, либо костный мозг (КМ), в зависимости от положения центра вокселя в фантоме.

Трабекулярную и кортикальную кости (ТК и КК соответственно) рассматривали в качестве тканей-источников, а в качестве ткани-детектора — костный мозг (КМ). КМ был равномерно распределен между трабекулами

внутри БФСК. Размер вокселя выбирали индивидуально для каждого фантома, он не превышал 70% от толщины трабекулы и варьировал от 50 до 200 мкм [29, 30]. Объемы моделируемых сред были автоматически рассчитаны в программе Trabecula для каждого БФСК.

Гемопоэтические сайты десятилетнего ребенка, процесс сегментации, а также смоделированные БФСК представлены на рис. 1 на примере большеберцовой кости.

SPSD-методика позволяет имитировать популяционную вариабельность размеров и характеристик микроструктуры для каждого БФСК. С этой целью для каждого БФСК, сгенерированного со средними значениями параметров, было создано 12 дополнительных фантомов сегментов кости (ДФСК) с параметрами микро- и макроструктуры кости, случайно разыгранными в пределах их индивидуальной вариабельности (в границах минимальных и максимальных измеренных значений).

Таблица 1. Массовая доля ККМ (% от общей массы ККМ в скелете) в основных гемопоэтических сайтах скелета ребенка в возрасте 10 лет [13, 22]

№	Гемопоэтический сайт	Массовая доля ККМ, %
1	Бедро	15,7
2	Плечо	4,1
3	Крестец	6,8
4	Берцовые кости	5,6
5	Тазовые кости	15,8
6	Череп	12,8
7	Ключица	0,9
8	Лопатка	2,9
9	Грудина	1,8
10	Рёбра	11
11	Шейные позвонки	2,7
12	Грудные позвонки	11
13	Поясничные позвонки	8,5

Таблица 2. Химический состав моделируемых сред, принятый для всех БФСК

Химический состав, отн. ед.		
Химический элемент	Кость	Костный мозг
H	0,035	0,105
C	0,16	0,414
N	0,042	0,034
O	0,445	0,439
Na	0,003	0,001
Mg	0,002	0,002
P	0,095	0,002
S	0,003	0,002
Ca	0,215	–

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Участки скелета с активным гемопоэзом ребенка в возрасте 10 лет и массовая доля ККМ в них были определены согласно данным МКРЗ [22] (табл. 1).

Скелет десятилетнего ребенка включает в себя 13 гемопоэтических сайтов (табл. 1). Массовая доля ККМ в них от общего содержания в скелете варьирует от 0,9 до 18,1%. Было также определено распределение ККМ внутри каждого гемопоэтического сайта согласно опубликованным данным МРТ [31–36].

Химический состав моделируемых сред был получен на основе данных МКРЗ для взрослых [25] (табл. 2).

Плотность минерализованной костной ткани оценена на основе результатов измерений плотности кортикальной кости детей в возрасте 10 лет и равна 1,85 г/см³ [26]. Плотность ККМ принимали равной плотности воды (1 г/см³) [25].

Характеристики микроструктуры кости были оценены на основе опубликованных данных, их анализ и расчет средне-популяционных значений подробно описаны ранее [23]. В табл. 3 приведены значения параметров микроархитектуры БФСК десятилетнего ребенка.

Линейные размеры и значения толщин кортикального слоя, принятые для БФСК десятилетнего ребенка, представлены в табл. 4.

Фантом гемопоэтических сайтов скелета десятилетнего ребенка состоит из 38 БФСК (табл. 4). Количество БФСК в

составе гемопоэтического сайта определялось его формой и варьировало от одного (ребра) до девяти (кости таза).

Большая часть БФСК десятилетнего ребенка представляет собой цилиндры и прямоугольные параллелепипеды, линейные размеры которых были в пределах 3–88 мм. Минимальное значение *Ct. Th.* было определено для БФСК позвонков (0,2 мм) и более чем в десять раз отличалось от максимального значения, принятого для проксимального конца бедренной кости (2,2 мм). Параметры микроархитектуры кости также варьировали в широких пределах. Значение *BV/TV* в БФСК варьирует от 14 до 52%, *Tb. Th.* — от 0,12 до 0,29 мм, *Tb. Sp.* — от 0,46 до 1 мм (табл. 3).

Индивидуальная вариабельность линейных размеров БФСК в среднем равна 12%, наибольшее значение вариабельности оценено для подвздошной кости (30%), а наименьшее — для латерального края лопатки (3%). Вариабельность толщины кортикального слоя кости была в пределах от 7% (шейные позвонки) до 62% (грудина) и в среднем равна 24%. Вариабельность параметров микроструктуры достигала 6–42% и в среднем составила 19%. Полученные значения вариабельности параметров фантомов были использованы для моделирования ДФСК. Объемы ДФСК могут отличаться от объема БФСК более чем в 3 раза как в большую, так и в меньшую сторону. Расчет *DF* для БФСК и ДФСК позволит оценить популяционную вариабельность *DF* как среднее квадратическое отклонение

Таблица 3. Параметры микроархитектуры, принятые для БФСК десятилетнего ребенка [11, 34–56] (в скобках дан коэффициент вариации (CV), %)

Гемопоэтический сайт	<i>BV/TV</i> , %	<i>Tb. Th.</i> , мм	<i>Tb. Sp.</i> , мм
Бедро (проксимальная часть)	35 (22–53)	0,24 (22)	0,54 (14)
Бедро (дистальная часть)	26 (17–40)		
Плечевая кость	22 (13–37)	0,21 (13)	0,58 (32)
Ребра	20 (10–37)	0,23 (34)	0,5 (14)
Берцовые кости*	25 (20–31)	0,21 (13)	0,74 (11)
Тазовые кости подвздошная кость	25 (20–31)	0,16 (10)	0,46 (15)
Прочие тазовые кости	25 (20–31)	0,16 (10)	0,6 (12)
Череп*	52 (41–65)	0,29 (32)	0,57 (35)
Ключица (центральная часть)	15 (10–23)	0,2 (32)	0,8 (25)
Ключица (концевые сегменты)	29 (15–46)	0,15 (13)	0,8 (25)
Лопатка*	22 (6–38)	0,24 (42)	0,96 (23)
Грудина*	15 (7–23)	0,15 (27)	1,0 (6)
Шейные позвонки	21 (12–35)	0,14 (14)	0,65 (24)
Грудные позвонки + поясничные позвонки + крестец	14 (7–26)	0,12 (17)	0,65 (24)

Примечания: * — параметры микроархитектуры рассчитаны по результатам измерений схожих костей или по данным для других возрастов, способ расчета описан ранее [23].

Таблица 4. Линейные размеры и толщина кортикального слоя, принятые для БФСК десятилетнего ребенка

Гемопозитический сайт	Сегмент	Форма ¹	Параметры фантома, мм (в скобках дан CV, %) ²						Источники данных
			<i>h</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>Ct.Th.</i>	
Бедро	Проксимальный конец (верхняя часть)	ц	30	25 (7)	25 (7)			1,8 (17)	[56–64]
	Проксимальный конец (нижняя часть)	ц	30	25 (7)	25 (7)			2,2 (12)	
	Дистальный конец	дц	69 (5)	78 (7)	33 (10)	21 (9)	21 (9)	1,1 (14)	
Плечо	Проксимальный конец	дц	27 (4)	39 (4)	33 (5)	18 (4)	18 (4)	1,1 (16)	[57–61,65]
	Дистальный конец	дц	27 (4)	54 (9)	18 (4)	18 (4)	18 (4)	0,8 (10)	
Ребра	Ребра ⁴	п	10 (16)	30	5 (10)			0,7 (20)	[66, 67]
Крестец	Тело 1-го позвонка	п	22 (20)	88 (20)	26 (10)			0,9 (34)	[68–73]
	Тело 2-го позвонка	п	20 (20)	70 (20)	15 (10)			0,9 (34)	
	Тело 3-го позвонка	п	18 (20)	62 (20)	10 (10)			0,9 (34)	
	Тело 4-го позвонка	п	13 (20)	53 (20)	7,7 (10)			0,9 (34)	
	Тело 5-го позвонка	п	13 (20)	44 (20)	7,7 (10)			0,9 (34)	
Берцовые	Конец малой берцовой кости ⁴	ц	30	11 (6)	11 (6)			1,7 (12)	[58, 70, 72]
	Проксимальный конец б. б.	дц	49 (6)	63 (7)	32 (20)	21 (6)	21 (6)	0,7 (11)	[57, 58, 74–77]
	Дистальный конец б. б.	дц	48 (6)	35 (12)	35 (12)	21 (6)	21 (6)	0,7 (11)	
Тазовые кости	Подвздошная кость часть 1	п	8 (22)	30	30			1,7 (33) 0,9 (19) ³	[78–85]
	Подвздошная кость часть 2	п	8 (22)	30	30			0,9 (19)	
	"Подвздошная кость вертлужная часть"	дц	26 (7)	44 (7)	20 (22)	37 (3)	28 (30)	0,9 (17)	
	Вертлужная часть лобковой кости	дц	9,8 (15)	28 (9)	21 (10)	16 (9)	11 (10)	0,5 (30)	
	Лобковая кость (верхняя ветвь)	ц	39 (15)	16 (9)	11 (10)			0,5 (30)	
	Лобковая кость (нижняя ветвь)	ц	32 (15)	11 (10)	11 (10)			0,5 (30)	
	Вертлужная часть седалищной кости	пр	29 (15)	28 (7)	29 (15)	28 (7)		0,5 (30)	
	Бугристость седалищной кости	ц	34 (15)	19 (15)	19 (15)			0,5 (30)	
Нижняя ветвь седалищной кости	ц	32 (15)	11 (10)	11 (10)			0,5 (30)		
Череп	Плоские кости свода ⁴	п	4,6 (18)	30	30			1,2 (18)	[86, 87]
Ключица	Тело ⁴	ц	30	11 (12)	8,3 (10)			1,8 (26)	[88–90]
	Грудинный конец	дц	17 (7)	22 (11)	20 (11)	11 (12)	8,3 (10)	0,8 (26)	
	Акромиальный конец	дц	17 (7)	19 (11)	11 (23)	11 (12)	8,3 (10)	0,8 (26)	
Лопатка	Гленоид	ц	15 (5)	28 (5)	20 (7)			0,9 (28)	[91–93]
	Акромион	п	8,2 (18)	27 (8)	21 (8)			0,8 (13)	
	Латеральный край	п	30	3,5 (3)	10 (12)			0,8 (13)	
Грудина	Грудина	п	8,5 (15)	30	30			0,7 (62)	[39, 94, 95]
Шейные позвонки	Тело позвонка	ц	9,4 (12)	14 (7)	19 (13)			0,2 (7)	[79, 96, 97]
Грудные позвонки	Тело позвонка	ц	14 (17)	22 (21)	27 (24)			0,2 (25)	[98–101]
	Поперечный отросток	п	8,6 (21)	13 (21)	7,3 (21)			0,2 (25)	
	Остистый отросток	п	7,2 (21)	25 (21)	4,1 (21)			0,2 (25)	
Поясничные позвонки	Тело позвонка	ц	19 (18)	27 (21)	36 (21)			0,2 (25)	[73, 98, 99, 102]
	Поперечный отросток	п	8,6 (20)	16 (20)	5,2 (20)			0,2 (25)	
	Остистый отросток	п	17 (20)	27 (20)	5,2 (20)			0,2 (25)	

Примечания: ¹ — форму фантома обозначали следующим образом: ц — цилиндр, дц — деформированный цилиндр, п — прямоугольный параллелепипед, э — эллипсоид, пр — призма с треугольным основанием; ² — размеры БФСК обозначали следующим образом: *h* — высота; *a* — большая ось (ц), большая ось для большего основания (дц) или сторона *a* (п); *b* — малая ось (ц), малая ось для большего основания (дц) или сторона *b* (п); *c* — большая ось для меньшего основания (дц); *d* — малая ось для меньшего основания (дц); для призмы (пр): *a*, *b*, *c* — стороны треугольного основания; ³ — толщину кортикального слоя принимали разной для внутренней (медиальной) и внешней (ягодичной) поверхностей данного сегмента подвздошной кости; ⁴ — БФСК имитировал лишь часть моделируемого сегмента кости в случае, если размеры сегмента кости значительно превышали 30 мм, так как в таких случаях, с точки зрения дозиметрии, не имеет смысла моделировать весь участок кости целиком [15, 24].

значений DF, рассчитанных для ДФСК, от значений, рассчитанных для БФСК.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Фантом скелета десятилетнего ребенка состоит из меньшего количества БФСК, чем фантом скелета пятилетнего ребенка. Это связано с замещением ККМ желтым костным мозгом в диафизах трубчатых костей, из-за чего данные участки скелета не моделировались.

В 10 лет наибольшая доля ККМ находится в костях таза и бедренных костях, в отличие от младших возрастных групп, где наибольшая доля ККМ была характерна для костей черепа. Также в этом возрасте на сегменты позвонков и крестца приходится 29% от всего ККМ в скелете. Параметры микроструктуры БФСК изменяются слабо по сравнению с фантомом пятилетнего ребенка, есть тенденция к уменьшению BV/TV и Tb.Th. и увеличению Tb.Sp. Толщина кортикального слоя увеличилась за период 5–10 лет на 20% в каждом отдельно взятом

Таблица 5. Сравнение объемов БФСК пятилетнего и десятилетнего ребенка

БФСК	Моделируемая среда	Объем моделируемой структуры, см ³		
		5 лет	10 лет	10/5 лет
Дистальный конец бедренной кости	КМ	22,9	49,94	2,18
	ТК	7,56	17,49	2,31
	КК	5,21	8,97	1,72
	Весь БФСК	35,67	76,4	2,14
Ключица, грудинный конец	КМ	0,89	1,8	2,02
	ТК	0,36	0,73	2,03
	КК	0,22	0,58	2,64
	Весь БФСК	1,47	2,53	1,72
Тело поясничного позвонка	КМ	8,51	12,42	1,46
	ТК	1,34	1,97	1,47
	КК	0,3	0,38	1,27
	Весь БФСК	10,15	14,77	1,46
Тело шейного позвонка	КМ	0,89	1,43	1,61
	ТК	0,24	0,38	1,58
	КК	0,05	0,07	1,4
	Весь БФСК	1,18	1,88	1,59

БФСК. Возрастную динамику характеристик фантомов можно продемонстрировать путем сравнения объемов моделируемых сред. В табл. 5 представлено сравнение объемов участков скелета пятилетнего и десятилетнего ребенка на примере дистального участка бедренной кости, ключицы, тел шейного и поясничного позвонков.

Объемы моделируемых сред десятилетнего ребенка превышают таковые для пятилетнего, что отражает рост костей скелета (табл. 5). Объем тканей источников в среднем увеличился в 1,96 раз — для ТК и в 1,48 раз — для КК. Суммарный объем БФСК увеличился в 1,6 раз за период 5–10 лет, за тот же период суммарный объем КК увеличился только в 1,3 раза, что связано с прекращением гемопоэза в частях скелета с большим значением *Ct.Th*. (середина диафизов длинных трубчатых костей). Мы ожидаем, что такая возрастная динамика характеристик фантомов приведет к снижению DF от стронция, инкорпорированного в кортикальной кости.

В ходе дальнейшей работы, параметры фантомов (табл. 3, 4), приведенные в этой статье, будут введены в программу Trabecula для генерирования воксельных фантомов, моделирование переноса излучения в которых позволит оценить DF для остеотропных бета-излучателей, что даст возможность определить мощность поглощенной дозы в ККМ.

ВЫВОДЫ

В результате данного исследования были разработаны вычислительные фантомы основных участков скелета с активным гемопоэзом для ребенка в возрасте 10 лет. Разработку данных фантомов проводили по методологии SPSPD, как и для фантомов предыдущих возрастных групп. Полученные фантомы имитируют структуру костной ткани, а их наборы отражают популяционную вариабельность размеров структур отдельных костей скелета. Представленный фантом для десятилетнего ребенка в дальнейшем будет использован для расчетов DF для ^{89,90}Sr, которые, в свою очередь, необходимы для оценки уточненных коэффициентов, связывающих индивидуальное поступление радионуклида и дозу на ККМ, что позволит усовершенствовать дозовые оценки для жителей Уральского региона. В качестве направления дальнейшей работы мы планируем создать SPSPD-фантомы скелета для лиц мужского и женского пола в возрасте 15 лет и для взрослых. Представленные фантомы могут быть использованы для дозиметрии инкорпорированных остеотропных бета-излучателей у населения, при попадании радионуклидов в окружающую среду, а также для дозиметрии других бета-излучающих радионуклидов, в том числе применяемых в радионуклидной терапии, таких как ⁸⁹Sr, ³²P, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ^{117m}Sn.

Литература

1. Sources and effects of ionizing radiation. UNSCEAR 2000 Report to the General Assembly, with Scientific Annexes/ United Nations. New York, 2000; 1229 с.
2. Degteva MO, Shagina NB, Vorobiova MI, Shishkina EA, Tolstykh EI, Akleyev AV. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949–1956. *Radiat Biol Radioecol.* 2016; 56 (5): 523–34. PMID: 30703313.
3. Krestinina LY, Epifanova S, Silkin S, Mikryukova L, Degteva M, Shagina N, et al. Chronic low-dose exposure in the Techa River Cohort: risk of mortality from circulatory diseases. *Radiat Environ Biophys.* 2013; 52 (1): 47–57. DOI: 10.1007/s00411-012-0438-5. Epub 2012 Nov 4.
4. Аклев А. В. Хронический лучевой синдром у жителей прибрежных сел реки Теча. Челябинск: Книга, 2012; 464 с.
5. Preston DL, Sokolnikov ME, Krestinina LY, Stram DO. Estimates of Radiation Effects on Cancer Risks in the Mayak Worker, Techa River and Atomic Bomb Survivor Studies. *Radiat Prot Dosimetry.* 2017; 173 (1–3): 26–31. DOI: 10.1093/rpd/ncw316.
6. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016D Code for Reconstruction of Deterministic Estimates of Dose From Environmental Exposures. *Health Phys.* 2019; 117 (4): 378–87. DOI: 10.1097/HP.0000000000001067.
7. Spiers FW, Beddoe AH, Whitwell JR. Mean skeletal dose factors for beta-particle emitters in human bone. Part I: volume-seeking

- radionuclides. The British journal of radiology. 1978; 51 (608): 622–7.
8. O'Reilly SE, DeWeese LS, Maynard MR, Rajon DA, Wayson MB, Marshall EL, et al. An 13 image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult female-internal electron 14 sources. *Phys Med Biol*. 2016; 61 (24): 8794–24. Epub 2016 Nov 29.
 9. Xu XG, Chao TC, Bozkurt A. VIP-Man: an image-based whole-body adult male model constructed from color photographs of the Visible Human Project for multi-particle Monte Carlo calculations. *Health Phys*. 2000; 78 (5): 476–86. DOI: 10.1097/00004032-200005000-00003. PMID: 10772019.
 10. Shah AP, Bolch WE, Rajon DA, Patton PW, Jokisch DW. A paired-image radiation transport model for skeletal dosimetry. *J Nucl Med*. 2005; 46 (2): 344–53. PMID: 15695796.
 11. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series. A dissertation presented to the graduate schools of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of the philosophy. University of Florida. 2009.
 12. Hough M, Johnson P, Rajon D, Jokisch D, Lee C, Bolch W. An image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult male-internal electron sources. *Phys Med Biol*. 2011; 56 (8): 2309–46. DOI: 10.1088/0031-9155/56/8/001. Epub 2011 Mar 22.
 13. Bolch WE, Eckerman K, Endo A, et al. ICRP Publication 143: Paediatric Reference Computational Phantoms. *Ann ICRP*. 2020; 49 (1): 5–297. DOI: 10.1177/0146645320915031.
 14. Degteva MO, Tolstykh EI, Shishkina EA, Sharagin PA, Zalyapin VI, Volchkova AY, et al. Stochastic parametric skeletal dosimetry model for humans: General approach and application to active marrow exposure from bone-seeking beta-particle emitters. *PLoS ONE*. 2021; 16 (10): e0257605. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257605>.
 15. Дёгтева М. О., Шишкина Е. А., Толстых Е. И., Заляпин В. И., Шарагин П. А., Смит М. А., и др. Методологический подход к разработке дозиметрических моделей скелета человека для бета-излучающих радионуклидов. *Радиационная гигиена*. 2019; 12 (2). DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-2-66-75.
 16. Volchkova AY, Sharagin PA, Shishkina EA. Internal bone marrow dosimetry: the effect of the exposure due to ^{90}Sr incorporated in the adjacent bone segments. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Mathematical Modelling, Programming & Computer Software*. 2022; 15 (4): 44–58. DOI: 10.14529/mmp220404.
 17. Шишкина Е. А., Шарагин П. А., Волчкова А. Ю. Аналитическое описание дозообразования в костном мозге от ^{90}Sr , инкорпорированного в кальцифицированных тканях. *Вопросы радиационной безопасности*. 2021; 3: 72–82.
 18. Силкин С. С., Крестинина Л. Ю., Старцев Н. В, Аклев А. В. Уральская когорта аварийно-облученного населения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21 (3): 393–402.
 19. Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Толстых Е. И. Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга новорожденного ребенка от инкорпорированных бета-излучателей. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2022; (4): 74–82. DOI: 10.47183/mes.2022.045.
 20. Шарагин, П. А., Шишкина, Е. А., Толстых, Е. И. Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга годовалого ребенка от инкорпорированных бета-излучателей. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023, (3): 44–55. DOI: 10.47183/mes.2023.030.
 21. Шарагин П. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А. Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга пятилетнего ребенка от инкорпорированных бета-излучателей. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; (4): 86–97. DOI: 10.47183/mes.2023.061.
 22. Cristy M. Active bone marrow distribution as a function of age in humans. *Phys Med Biol*. 1981; 26 (3): 389–400. 1981.
 23. Толстых Е. И., Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Волчкова А. Ю. Дегтева М. О. Анатомо-морфологический базис для дозиметрического моделирования трабекулярной кости человека с использованием стохастического параметрического подхода. *Клинический вестник ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна*. 2022; 3: 25–40.
 24. Толстых Е. И., Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Дегтева М. О. Формирование доз облучения красного костного мозга человека от $^{89,90}\text{Sr}$, оценка параметров трабекулярной кости для дозиметрического моделирования. В сборнике: *Материалы международной научной конференции «Современные проблемы радиобиологии»*. Беларусь, Гомель, 23–24 сентября 2021. 2021; с. 176–179.
 25. Шарагин П. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Дегтева М. О. Дозиметрическое моделирование кости для остеотропных бета-излучающих радионуклидов: размерные параметры и сегментация. В сборнике: *Материалы международной научной конференции «Современные проблемы радиобиологии»*. Беларусь, Гомель, 23–24 сентября 2021. 2021; с. 200–204.
 26. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI, Volchkova AY, Smith MA, Degteva MO. Segmentation of hematopoietic sites of human skeleton for calculations of dose to active marrow exposed to bone-seeking radionuclides. In: *RAD Conference Proceedings*. 2018; (3): 154–58. DOI: 10.21175/RadProc.2018.33.
 27. Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. *Annals of the ICRP*. 2002; 32 (3–4): 1–277.
 28. Woodard HQ and White DR. The composition of body tissues. *Br J Ru&ol*. 1986; 59: 1209–18.
 29. Shishkina EA, Timofeev YS, Volchkova AY, Sharagin PA, Zalyapin VI, Degteva MO, et al. Trabecula: A Random Generator of Computational Phantoms for Bone Marrow Dosimetry. *Health Phys*. 2020; 118 (1): 53–59. DOI: 10.1097/HP.0000000000001127.
 30. Zalyapin VI, Timofeev YuS, Shishkina EA. A parametric stochastic model of bone geometry. *Bulletin of Southern Urals State University, Issue «Mathematical Modelling, Programming & Computer Software» (SUSU MMCS)* 2018; 11 (2): 44–57. DOI: 10.14529/mmp180204.
 31. Robinson RA. Chemical analysis and electron microscopy of bone. In: *Bone as a tissue*, ed. by Rodahl K, Nicholson JT, Brown EM. New York: McGraw-Hill, 1960; p. 186–250.
 32. Vogler JB 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology*. 1988; 168 (3): 679–93.
 33. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiology*. 1998; 27: 471–83.
 34. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol*. 1998; 8 (8): 1327–34.
 35. Taccone A, Oddone M, Dell'Acqua AD, Occhi M, Ciccone MA. MRI "road-map" of normal age-related bone marrow. II. Thorax, pelvis and extremities. *Pediatr Radiol*. 1995; 25 (8): 596–606. PubMed PMID: 8570312.
 36. Taccone A, Oddone M, Occhi M, Dell'Acqua AD, Ciccone MA. MRI "road-map" of normal age-related bone marrow. I. Cranial bone and spine. *Pediatr Radiol*. 1995; 25 (8): 588–95. PubMed PMID: 8570311.
 37. Milovanovic P, Djonic D, Hahn M, Amling M, Busse B, Djuric M. Region-dependent patterns of trabecular bone growth in the human proximal femur: A study of 3D bone microarchitecture from early postnatal to late childhood period. *Am J Phys Anthropol*. 2017; 164 (2): 281–91. DOI: 10.1002/ajpa.23268. Epub 2017 Jun 20.
 38. Ryan TM, Krovitc GE. Trabecular bone ontogeny in the human proximal femur. *J Hum Evol*. 2006; 51 (6): 591–602.
 39. Cunningham C, Scheuer L, Black S. *Developmental Juvenile Osteology*. Second Edition. Elsevier Academic Press. 2016.
 40. man JH, Ketcham RA. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: general features of microarchitectural change. *Am J Phys Anthropol*. 2009; 138 (3): 318–32. DOI: 10.1002/ajpa.20931. PubMed PMID: 18785633.
 41. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, Parfitt AM. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*. 2000; 26 (2): 103–9.
 42. Gao S, Ren L, Qui R, Wu Z, Li C, Li J. Electron absorbed fractions in an image-based microscopic skeletal dosimetry model of chinese adult male. *Radiat Prot Dosimetry*. 2017; 175 (4): 450–59.
 43. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series. A dissertation presented to the graduate schools of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of the philosophy University of Florida. 2009.

44. Ryan TM, Raichlen DA, Gosman JH. Structural and Mechanical Changes in Trabecular Bone during Early Development in the Human Femur and Humerus. Chapter 12. In: Building Bones: Bone Formation and Development in Anthropology. Cambridge University Press 2017; 281–302. Available from: <https://doi.org/10.1017/9781316388907.013>.
45. Milenković P. Age Estimation Based on Analyses of Sternal End of Clavicle and the First Costal Cartilage Doctoral Dissertation. University OF Belgrade School of Medicine. Belgrade, 2013.
46. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, Fischer PR, Bouxsein ML, McCready LK, Melton LJ 3rd, Riggs BL, Amin S, Müller R, Khosla S. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res.* 2009; 24 (6): 1033–42. DOI: 10.1359/jbmr.081255.
47. Mitchell DM, Caksa S, Yuan A, Bouxsein ML, Misra M, Burnett-Bowie SM. Trabecular Bone Morphology Correlates With Skeletal Maturity and Body Composition in Healthy Adolescent Girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018; 103 (1): 336–45. DOI: 10.1210/jc.2017-01785.
48. Li X, Williams P, Curry EJ, Choi D, Craig EV, Warren RF, et al. Trabecular Bone Microarchitecture and Characteristics in Different Regions of the Glenoid. *Orthopedics.* 2015; 38 (3): 163–68.
49. Knowles NK, G Langohr GD, Faieghi M, Nelson A, Ferreira LM. Development of a validated glenoid trabecular density-modulus relationship. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019; 90: 140–45. DOI: 10.1016/j.jmbm.2018.10.013.
50. Jun BJ, Vasani A, Ricchetti ET, Rodriguez E, Subhas N, Li ZM, Iannotti JP. Quantification of regional variations in glenoid trabecular bone architecture and mineralization using clinical computed tomography images. *J Orthop Res.* 2018; 36 (1): 85–96. DOI: 10.1002/jor.23620.
51. Frich LH, Odgaard A, Dalstra M. Glenoid bone architecture J Shoulder Elbow Surg. 1998; 7 (4): 356–61.
52. Kneissel M, Roschger P, Steiner W, et al. Cancellous bone structure in the growing and aging lumbar spine in a historic Nubian population. *Calcif Tissue Int.* 1997; 61 (2): 95–100. DOI: 10.1007/s002239900302.
53. Arbabi A. A quantitative analysis of the structure of human sternum. *J Med Phys.* 2009; 34 (2): 80–86.
54. Bartl R, Frisch B. Biopsy of bone in internal medicine — an atlas and sourcebook. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. London, 1993.
55. Baur-Melnyk A. Magnetic Resonance Imaging of the Bone Marrow. Springer Science & Business Media, 2012.
56. Byers S, Moore AJ, Byard RW, Fazzalari NL. Quantitative histomorphometric analysis of the human growth plate from birth to adolescence. *Bone.* 2000; 27 (4): 495–501.
57. Florence JL. Linear and cortical bone dimensions as indicators of health status in subadults from the Milwaukee County Poor Farm Cemetery. M.A., University of Colorado at Denver, 2007.
58. Maresh MM. Measurements from roentgenograms. In: R.W. McCammon, editor. *Human Growth and Development*. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1970; 157–200.
59. Singh SP, Malhotra P, Sidhu LS, Singh PP. Skeletal Frame Size of Spitian Children. *Journal of Human Ecology.* 2007; 21 (3): 227–30.
60. Zivicnjak M, Smolej Narancić N, Szivovicza L, Franke D, Hrenović J, Bisof V, Tomas Z, Skarić-Jurić T. Gender-specific growth patterns of transversal body dimensions in Croatian children and youth (2 to 18 years of age). *Coll Antropol.* 2008; 32 (2): 419–31. PubMed PMID: 18756891.
61. Свадовский Б. С. Возрастная перестройка костной ткани. О росте и развитии диафизов плечевой и бедренной костей. М.: Изд-во акад. пед. наук РСФСР, 1961; 110 с.
62. Miles AEW. Growth Curves of Immature Bones from a Scottish Island Population of Sixteenth to mid-Nineteenth Century: Limb-bone Diaphyses and Some Bones of the Hand and Foot. *International Journal of Osteoarchaeology.* 1994; 4: 121–36.
63. Gosman JH, Ketcham RA. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: general features of microarchitectural change. *Am J Phys Anthropol.* 2009; 138 (3): 318–32. DOI:10.1002/ajpa.20931. PubMed PMID: 18785633.
64. Petit MA, McKay HA, MacKellie KJ, Heinonen A, Khan KM, Beck TJ. A randomized school-based jumping intervention confers site and maturity-specific benefits on bone structural properties in girls: a hip structural analysis study. *J Bone Miner Res.* 2002; 17 (3): 363–72. PubMed PMID: 11874228.
65. Danforth ME, Wrobel GD, Armstrong CW, Swanson D. Juvenile age estimation using diaphyseal long bone lengths among ancient Maya populations. *Latin American Antiquity.* 2017; 20 (1): 3–13.
66. Beresheim AC, Pfeiffer S, Grynepas M. Ontogenetic changes to bone microstructure in an archaeologically derived sample of human ribs. *J Anat.* 2019. DOI: 10.1111/joa.13116.
67. Pfeiffer S. Cortical Bone Histology in Juveniles. Available from: https://www.researchgate.net/publication/303179375_Cortical_bone_histology_in_Juveniles
68. Hresko AM, Hinchcliff EM, Deckey DG, Hresko MT. Developmental sacral morphology: MR study from infancy to skeletal maturity. *Eur Spine J.* 2020; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00586-020-06350-6>.
69. Кузнецов Л. Е. Переломы таза у детей (морфология, биомеханика, диагностика). Москва: Фолиум, 1994; 192 с.
70. Bernert Zs, Évinger S, Hajdu T. New data on the biological age estimation of children using bone measurements based on historical populations from the Carpathian Basin. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici.* 2007; 99: 199–206.
71. Sadofyeva VI. Normal X-ray anatomy of the bone-joint system of children. Leningrad "Medicine" Leningrad branch 1990. Russian
72. White TD, Black MT, Folken PA. *Human osteology: Third edition. Human Osteology: Third Edition.* 2011; 1–662.
73. Mavrych V, Bolgova O, Ganguly P and Kashchenko S. Age-Related Changes of Lumbar Vertebral Body Morphometry. *Austin J Anat.* 2014; 1 (3): 7.
74. Kindler JM, Pollock NK, Laing EM, et al. Insulin Resistance and the IGF-I-Cortical Bone Relationship in Children Ages 9 to 13 Years. *J Bone Miner Res.* 2017; 32 (7): 1537–1545. DOI: 10.1002/jbmr.3132.
75. Farr JN, Khosla S. Skeletal changes through the lifespan—from growth to senescence. *Nat Rev Endocrinol.* 2015; 11 (9): 513–21. DOI: 10.1038/nrendo.2015.89. Epub 2015 Jun 2. Review. PubMed PMID: 26032105; PubMed Central PMCID: PMC4822419.
76. Gindhart PS. Growth Standards for the Tibia and Radius in Children Aged One Month through Eighteen Years. *Am J Phys Anthropol.* 1973; 39: 41–48.
77. Lopez-Costas O, Rissech C, Trancho G, Turbón D. Postnatal ontogenesis of the tibia. Implications for age and sex estimation. *Forensic Sci Int.* 2012; 214 (1–3): 207.e1–11. DOI: 10.1016/j.foresciint.2011.07.038. Epub 2011. PubMed PMID: 21862250.
78. Blake KAS. An investigation of sex determination from the subadult pelvis: A morphometric analysis. Doctoral Dissertation, University of Pittsburgh, 2011.
79. Cunningham CA, Black SM. Iliac cortical thickness in the neonate — the gradient effect. *J Anat.* 2009a Sep; 215 (3): 364–70. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01112.x.
80. Cunningham CA, Black SM. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J Anat.* 2009b Jun; 214 (6): 817–29. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01073.x
81. Rissech C, Garcia M, Malgosa A. Sex and age diagnosis by ischium morphometric analysis. *Forensic Science International.* 2003; 135: 188–96.
82. Rissech C, Malgosa A. Pubis growth study: Applicability in sexual and age diagnostic. *Forensic Science International.* 2007; 173: 137–45.
83. Corron L, Marchal F, Condemi S, Chaumoitre K, Adalian P. A New Approach of Juvenile Age Estimation using Measurements of the Ilium and Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Models for Better Age Prediction. *Forensic Sci.* 2017; 62 (1): 18–29. DOI: 10.1111/1556-4029.13224.
84. Parfitt AM, Travers R, Rauch F, Glorieux FH. Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. *Bone.* 2000; 27 (4): 487–94. PMID: 11033443.
85. Schnitzler CM, Mesquita JM, Pettifor JM. Cortical bone development in black and white South African children: iliac crest histomorphometry. *Bone.* 2009; 44 (4): 603–11. DOI: 10.1016/j.bone.2008.12.009.
86. De Boer HH, Van der Merwe AE, Soerdjbalie-Maikoe VV. Human cranial vault thickness in a contemporary sample of 1097 autopsy cases: relation to body weight, stature, age, sex and ancestry. *Int J Legal Med.* 2016; 130 (5): 1371–7. DOI: 10.1007/s00414-016-1324-5.

87. Margulies S, Coats B. Experimental Injury Biomechanics of the Pediatric Head and Brain. Chapter 4 in: *Pediatric Injury Biomechanics* Springer Science + Business Media New York. 2013; 157–90.
88. McGraw MA, Mehlman CT, Lindsell CJ, Kirby CL. Postnatal growth of the clavicle: birth to eighteen years of age. *Journal of Pediatric Orthopedics*. 2009; 29: 937
89. Bernat A, Huysmans T, Van Glabbeek F, Sijbers J, Gielen J, Van Tongel A. The anatomy of the clavicle: a three-dimensional cadaveric study. *Clin Anat*. 2014; 27 (5): 712–23
90. Corron L. Juvenile age estimation in physical anthropology: A critical review of existing methods and the application of two standardized methodological approaches. *Biological anthropology*. Aix-Marseille Universite. English, 2016.
91. Saunders S, Hoppa R, Southern R. Diaphyseal growth in a nineteenth-century skeletal sample of subadults from St Thomas' Church, Belleville, Ontario. *International Journal of Osteoarchaeology*. 1993; 3: 265–81.
92. Badr El Dine F, Hassan H. Ontogenetic study of the scapula among some Egyptians: Forensic implications in age and sex estimation using Multidetector Computed Tomography, *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 2015; 6 (2): 56–77.
93. Rissech C, Black S. Scapular development from neonatal period to skeletal maturity. A preliminary study. *Int J Osteoarchaeol*. 2007; 17: 451–64.
94. Bayarogullan H, Yengil E, Davran R, Aglagul E, Karazincir S, Balci A. Evaluation of the postnatal development of the sternum and sternal variations using multidetector CT. *Diagn Interv Radiol*. 2014; 20 (1): 82–9.
95. Weaver AA, Schoell SL, Nguyen CM, Lynch SK, Stitzel JD. Morphometric analysis of variation in the sternum with sex and age. *J Morphol*. 2014; 275 (11): 1284–99.
96. Johnson KT, Al-Holou WN, Anderson RC, Wilson TJ, Karnati T, et al. Morphometric analysis of the developing pediatric cervical spine. *J Neurosurg Pediatr*. 2016; 18 (3): 377–89. DOI: 10.3171/2016.3.PEDS1612. Epub 2016 May 27. PubMed PMID: 27231821.
97. Caldas Md P, Ambrosano GM, Haiter Neto F. New formula to objectively evaluate skeletal maturation using lateral cephalometric radiographs. *Braz Oral Res*. 2007; 21 (4): 330–5. PubMed PMID: 18060260
98. Peters JR, Chandrasekaran C, Robinson LF, Servaes SE, Campbell RM Jr, Balasubramanian S. Age- and gender-related changes in pediatric thoracic vertebral morphology. *Spine J*. 2015; 15 (5): 1000–1020. DOI: 10.1016/j.spinee.2015.01.016.
99. Peters JR, Servaes SE, Cahill PJ, Balasubramanian S. Morphology and growth of the pediatric lumbar vertebrae. *Spine J*. 2021; 21 (4): 682–97. DOI: 10.1016/j.spinee.2020.10.029.
100. Newman SL, Gowland RL. The use of non-adult vertebral dimensions as indicators of growth disruption and non-specific health stress in skeletal populations. *American journal of physical anthropology*. 2015; 158 (1): 155–64.
101. Comeau A. Age-related Changes in Geometric Characteristics of the Pediatric Thoracic Cage and Comparison of Thorax Shape with a Pediatric CPR Manikin. PhD thesis. 2010
102. Knirsch W, Kurtz C, Häffner N, Langer M, Kececioğlu D. Normal values of the sagittal diameter of the lumbar spine (vertebral body and dural sac) in children measured by MRI. *Pediatr Radiol*. 2005; 35: 419–24. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00247-004-1382-6>.

References

1. Sources and effects of ionizing radiation. UNSCEAR 2000 Report to the General Assembly, with Scientific Annexes/ United Nations. New York, 2000; 1229 c.
2. Degteva MO, Shagina NB, Vorobiova MI, Shishkina EA, Tolstykh EI, Akleyev AV. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949–1956. *Radiat Biol Radioecol*. 2016; 56 (5): 523–34. PMID: 30703313.
3. Krestinina LY, Epifanova S, Silkin S, Mikryukova L, Degteva M, Shagina N, et al. Chronic low-dose exposure in the Techa River Cohort: risk of mortality from circulatory diseases. *Radiat Environ Biophys*. 2013; 52 (1): 47–57. DOI: 10.1007/s00411-012-0438-5. Epub 2012 Nov 4.
4. Akleev AV. Hronicheskij luchevoj sindrom u zhitelej pribrezhnyh sel reki Techa. Cheljabinsk: Kniga, 2012; 464 s. Russian.
5. Preston DL, Sokolnikov ME, Krestinina LY, Stram DO. Estimates of Radiation Effects on Cancer Risks in the Mayak Worker, Techa River and Atomic Bomb Survivor Studies. *Radiat Prot Dosimetry*. 2017; 173 (1–3): 26–31. DOI: 10.1093/rpd/ncw316.
6. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016D Code for Reconstruction of Deterministic Estimates of Dose From Environmental Exposures. *Health Phys*. 2019; 117 (4): 378–87. DOI: 10.1097/HP.0000000000001067.
7. Spiers FW, Beddoe AH, Whitwell JR. Mean skeletal dose factors for beta-particle emitters in human bone. Part I: volume-seeking radionuclides. *The British journal of radiology*. 1978; 51 (608): 622–7.
8. O'Reilly SE, DeWeese LS, Maynard MR, Rajon DA, Wayson MB, Marshall EL, et al. An 13 image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult female-internal electron 14 sources. *Phys Med Biol*. 2016; 61 (24): 8794–24. Epub 2016 Nov 29.
9. Xu XG, Chao TC, Bozkurt A. VIP-Man: an image-based whole-body adult male model constructed from color photographs of the Visible Human Project for multi-particle Monte Carlo calculations. *Health Phys*. 2000; 78 (5): 476–86. DOI: 10.1097/00004032-200005000-00003. PMID: 10772019.
10. Shah AP, Bolch WE, Rajon DA, Patton PW, Jokisch DW. A paired-image radiation transport model for skeletal dosimetry. *J Nucl Med*. 2005; 46 (2): 344–53. PMID: 15695796.
11. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series. A dissertation presented to the graduate schools of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of the philosophy. University of Florida. 2009.
12. Hough M, Johnson P, Rajon D, Jokisch D, Lee C, Bolch W. An image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult male-internal electron sources. *Phys Med Biol*. 2011; 56 (8): 2309–46. DOI: 10.1088/0031-9155/56/8/001. Epub 2011 Mar 22.
13. Bolch WE, Eckerman K, Endo A, et al. ICRP Publication 143: Paediatric Reference Computational Phantoms. *Ann ICRP*. 2020; 49 (1): 5–297. DOI: 10.1177/0146645320915031.
14. Degteva MO, Tolstykh EI, Shishkina EA, Sharagin PA, Zalyapin VI, Volchkova AY, et al. Stochastic parametric skeletal dosimetry model for humans: General approach and application to active marrow exposure from bone-seeking beta-particle emitters. *PLoS ONE*. 2021; 16 (10): e0257605. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257605>.
15. Djogteva MO, Shishkina EA, Tolstykh EI, Zalyapin VI, Sharagin PA, Smit MA, i dr. Metodologicheskij podhod k razrabotke dozimetricheskikh modelej skeleta cheloveka dlja beta-izluchajushhih radionuklidov. *Radiacionnaja gigiena*. 2019; 12 (2). DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-2-66-75. Russian.
16. Volchkova AY, Sharagin PA, Shishkina EA. Internal bone marrow dosimetry: the effect of the exposure due to 90Sr incorporated in the adjacent bone segments. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Mathematical Modelling, Programming & Computer Software*. 2022; 15 (4): 44–58. DOI: 10.14529/mmp220404.
17. Shishkina EA, Sharagin PA, Volchkova AY. Analiticheskoe opisanie dozoobrazovaniya v kostnom mozge ot 90Sr, inkorporirovannogo v kal'ficirovannyh tkanjah. *Voprosy radiacionnoj bezopasnosti*. 2021; 3: 72–82. Russian.
18. Silkin SS, Krestinina LY, Starcev NV, Akleev AV. Ural'skaja kogorta avarijno-obluchennogo naselenija. *Medicina jekstremal'nyh situacij*. 2019; 21 (3): 393–402. Russian.
19. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI. Computational phantom for red bone marrow dosimetry from incorporated beta emitters in a newborn baby. *Extreme Medicine*. 2022; 4: 74–82. DOI: 10.47183/mes.2022.045. Russian.
20. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI. Computational red bone marrow dosimetry phantom of a one-year-old child enabling

- assessment of exposure due to incorporated beta emitters. *Extreme Medicine*. 2023; 3: 44–55. DOI: 10.47183/mes.2023.030. Russian.
21. Sharagin PA, Tolstykh EI, Shishkina EA. Computational phantom for a 5-year-old child red bone marrow dosimetry due to incorporated beta emitters. *Extreme Medicine*. 2023; (4): 79–90. DOI: 10.47183/mes.2023.061. Russian.
 22. Cristy M. Active bone marrow distribution as a function of age in humans. *Phys Med Biol*. 1981; 26 (3): 389–400. 1981.
 23. Tolstykh EI, Sharagin PA, Shishkina EA, Volchkova AY, Degteva MO. Anatomico-morphological basis for the development of a model of the trabecular bone of the human skeleton. *Klinicheskiy vestnik GNC FMBC im. A. I. Burnazjana*. 2022; 3: 25–40. Russian.
 24. Tolstykh EI, Sharagin PA, Shishkina EA, Degteva MO. Formirovanie doz oblučenija krasnogo kostnogo mozga cheloveka ot 89,90Sr, ocenka parametrov trabekuljarnoj kosti dlja dozimetricheskogo modelirovanija. V sbornike: *Materijaly mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii «Sovremennye problemy radiobiologii»*. Belarus', Gomel', 23–24 sentjabrja 2021. 2021; s. 176–179. Russian.
 25. Sharagin PA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Degteva MO. Dozimetriceskoe modelirovanie kosti dlja osteotropnyh beta-izluchajushchih radionuklidov: razmernye parametry i segmentacija. V sbornike: *Materijaly mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii «Sovremennye problemy radiobiologii»*. Belarus', Gomel', 23–24 sentjabrja 2021. 2021; s. 200–204. Russian.
 26. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI, Volchkova AY, Smith MA, Degteva MO. Segmentation of hematopoietic sites of human skeleton for calculations of dose to active marrow exposed to bone-seeking radionuclides. In: *RAD Conference Proceedings*. 2018; (3): 154–58. DOI: 10.21175/RadProc.2018.33.
 27. Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. *Annals of the ICRP*. 2002; 32 (3–4): 1–277.
 28. Woodard HQ and White DR. The composition of body tissues. *Br J Radiol*. 1986; 59: 1209–18.
 29. Shishkina EA, Timofeev YS, Volchkova AY, Sharagin PA, Zalyapin VI, Degteva MO, et al. Trabecula: A Random Generator of Computational Phantoms for Bone Marrow Dosimetry. *Health Phys*. 2020; 118 (1): 53–59. DOI: 10.1097/HP.0000000000001127.
 30. Zalyapin VI, Timofeev YuS, Shishkina EA. A parametric stochastic model of bone geometry. *Bulletin of Southern Urals State University, Issue «Mathematical Modelling. Programming & Computer Software» (SUSU MMCS)* 2018; 11 (2): 44–57. DOI: 10.14529/mmmp180204.
 31. Robinson RA. Chemical analysis and electron microscopy of bone. In: *Bone as a tissue*, ed. by Rodahl K, Nicholson JT, Brown EM. New York: McGraw-Hill, 1960; p. 186–250.
 32. Vogler JB 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology*. 1988; 168 (3): 679–93.
 33. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiology*. 1998; 27: 471–83.
 34. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol*. 1998; 8 (8): 1327–34.
 35. Taccone A, Oddone M, Dell'Acqua AD, Occhi M, Ciccone MA. MRI "road-map" of normal age-related bone marrow. II. Thorax, pelvis and extremities. *Pediatr Radiol*. 1995; 25 (8): 596–606. PubMed PMID: 8570312.
 36. Taccone A, Oddone M, Occhi M, Dell'Acqua AD, Ciccone MA. MRI "road-map" of normal age-related bone marrow. I. Cranial bone and spine. *Pediatr Radiol*. 1995; 25 (8): 588–95. PubMed PMID: 8570311.
 37. Milovanovic P, Djonic D, Hahn M, Amling M, Busse B, Djuric M. Region-dependent patterns of trabecular bone growth in the human proximal femur: A study of 3D bone microarchitecture from early postnatal to late childhood period. *Am J Phys Anthropol*. 2017; 164 (2): 281–91. DOI: 10.1002/ajpa.23268. Epub 2017 Jun 20.
 38. Ryan TM, Krovitz GE. Trabecular bone ontogeny in the human proximal femur. *J Hum Evol*. 2006; 51 (6): 591–602.
 39. Cunningham C, Scheuer L, Black S. *Developmental Juvenile Osteology*. Second Edition. Elsevier Academic Press. 2016.
 40. man JH, Ketcham RA. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: general features of microarchitectural change. *Am J Phys Anthropol*. 2009; 138 (3): 318–32. DOI: 10.1002/ajpa.20931. PubMed PMID: 18785633.
 41. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, Parfitt AM. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*. 2000; 26 (2): 103–9.
 42. Gao S, Ren L, Qui R, Wu Z, Li C, Li J. Electron absorbed fractions in an image-based microscopic skeletal dosimetry model of chinese adult male. *Radiat Prot Dosimetry*. 2017; 175 (4): 450–59.
 43. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series. A dissertation presented to the graduate schools of the University of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of the philosophy University of Florida. 2009.
 44. Ryan TM, Raichlen DA, Gosman JH. Structural and Mechanical Changes in Trabecular Bone during Early Development in the Human Femur and Humerus. Chapter 12. In: *Building Bones: Bone Formation and Development in Anthropology*. Cambridge University Press 2017; 281–302. Available from: <https://doi.org/10.1017/9781316388907.013>.
 45. Milenković P. Age Estimation Based on Analyses of Sternal End of Clavicle and the First Costal Cartilage Doctoral Dissertation. University OF Belgrade School of Medicine. Belgrade, 2013.
 46. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, Fischer PR, Bouxsein ML, McCready LK, Melton LJ 3rd, Riggs BL, Amin S, Müller R, Khosla S. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res*. 2009; 24 (6): 1033–42. DOI: 10.1359/jbmr.081255.
 47. Mitchell DM, Caksa S, Yuan A, Bouxsein ML, Misra M, Burnett-Bowie SM. Trabecular Bone Morphology Correlates With Skeletal Maturity and Body Composition in Healthy Adolescent Girls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018; 103 (1): 336–45. DOI: 10.1210/je.2017-01785.
 48. Li X, Williams P, Curry EJ, Choi D, Craig EV, Warren RF, et al. Trabecular Bone Microarchitecture and Characteristics in Different Regions of the Glenoid. *Orthopedics*. 2015; 38 (3): 163–68.
 49. Knowles NK, G Langohr GD, Faieghi M, Nelson A, Ferreira LM. Development of a validated glenoid trabecular density-modulus relationship. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019; 90: 140–45. DOI: 10.1016/j.jmbm.2018.10.013.
 50. Jun BJ, Vasani A, Ricchetti ET, Rodriguez E, Subhas N, Li ZM, Iannotti JP. Quantification of regional variations in glenoid trabecular bone architecture and mineralization using clinical computed tomography images. *J Orthop Res*. 2018; 36 (1): 85–96. DOI: 10.1002/jor.23620.
 51. Frich LH, Odgaard A, Dalstra M. Glenoid bone architecture J Shoulder Elbow Surg. 1998; 7 (4): 356–61.
 52. Kneissel M, Roschger P, Steiner W, et al. Cancellous bone structure in the growing and aging lumbar spine in a historic Nubian population. *Calcif Tissue Int*. 1997; 61 (2): 95–100. DOI: 10.1007/s002239900302.
 53. Arbabi A. A quantitative analysis of the structure of human sternum. *J Med Phys*. 2009; 34 (2): 80–86.
 54. Bartl R, Frisch B. *Biopsy of bone in internal medicine — an atlas and sourcebook*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. London, 1993.
 55. Baur-Melnyk A. *Magnetic Resonance Imaging of the Bone Marrow*. Springer Science & Business Media, 2012.
 56. Byers S, Moore AJ, Byard RW, Fazzalari NL. Quantitative histomorphometric analysis of the human growth plate from birth to adolescence. *Bone*. 2000; 27 (4): 495–501.
 57. Florence JL. Linear and cortical bone dimensions as indicators of health status in subadults from the Milwaukee County Poor Farm Cemetery. M.A., University of Colorado at Denver, 2007.
 58. Maresh MM. Measurements from roentgenograms. In: R.W. McCammon, editor. *Human Growth and Development*. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1970; 157–200.
 59. Singh SP, Malhotra P, Sidhu LS, Singh PP. Skeletal Frame Size of Spitian Children. *Journal of Human Ecology*. 2007; 21 (3): 227–30.
 60. Zivicnjak M, Smolej Narancić N, Szirovcza L, Franke D, Hrenović J, Bisof V, Tomas Z, Skarić-Jurić T. Gender-specific growth patterns of transversal body dimensions in Croatian children and youth (2

- to 18 years of age). *Coll Antropol.* 2008; 32 (2): 419–31. PubMed PMID: 18756891.
67. Svadovskij BS. Vozrastnaja perestrojka kostnoj tkani. O roste i razvitii diafizov plechevoj i bedrennoj kostej. M.: Izd-vo akad. ped. nauk RSFSR, 1961; 110 s.
 68. Miles AEW. Growth Curves of Immature Bones from a Scottish Island Population of Sixteenth to mid-Nineteenth Century: Limb-bone Diaphyses and Some Bones of the Hand and Foot. *International Journal of Osteoarcheology.* 1994; 4: 121–36.
 69. Gosman JH, Ketcham RA. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: general features of microarchitectural change. *Am J Phys Anthropol.* 2009; 138 (3): 318–32. DOI:10.1002/ajpa.20931. PubMed PMID: 18785633.
 70. Petit MA, McKay HA, MacKellie KJ, Heinonen A, Khan KM, Beck TJ. A randomized school-based jumping intervention confers site and maturity-specific benefits on bone structural properties in girls: a hip structural analysis study. *J Bone Miner Res.* 2002; 17 (3): 363–72. PubMed PMID: 11874228.
 71. Danforth ME, Wrobel GD, Armstrong CW, Swanson D. Juvenile age estimation using diaphyseal long bone lengths among ancient Maya populations. *Latin American Antiquity.* 2017; 20 (1): 3–13.
 72. Beresheim AC, Pfeiffer S, Grynaps M. Ontogenetic changes to bone microstructure in an archaeologically derived sample of human ribs. *J Anat.* 2019. DOI: 10.1111/joa.13116.
 73. Pfeiffer S. Cortical Bone Histology in Juveniles. Available from: https://www.researchgate.net/publication/303179375_Cortical_bone_histology_in_Juveniles
 74. Hresko AM, Hinchliff EM, Deckey DG, Hresko MT. Developmental sacral morphology: MR study from infancy to skeletal maturity. *Eur Spine J.* 2020; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00586-020-06350-6>.
 75. Kuznecov LE. Perelomy taza u detej (morfoloģija, biomehanika, diagnostika). Moskva: Folium, 1994; 192 s. Russian.
 76. Bernert Zs, Évinger S, Hajdu T. New data on the biological age estimation of children using bone measurements based on historical populations from the Carpathian Basin. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici.* 2007; 99: 199–206.
 77. Sadofyeva VI. Normal X-ray anatomy of the bone-joint system of children. Leningrad "Medicine" Leningrad branch 1990. Russian
 78. White TD, Black MT, Folkens PA. Human osteology: Third edition. *Human Osteology: Third Edition.* 2011; 1–662.
 79. Mavrych V, Bolgova O, Ganguly P and Kashchenko S. Age-Related Changes of Lumbar Vertebral Body Morphometry. *Austin J Anat.* 2014; 1 (3): 7.
 80. Kindler JM, Pollock NK, Laing EM, et al. Insulin Resistance and the IGF-I-Cortical Bone Relationship in Children Ages 9 to 13 Years. *J Bone Miner Res.* 2017; 32 (7): 1537–1545. DOI: 10.1002/jbmr.3132.
 81. Farr JN, Khosla S. Skeletal changes through the lifespan—from growth to senescence. *Nat Rev Endocrinol.* 2015; 11 (9): 513–21. DOI: 10.1038/nrendo.2015.89. Epub 2015 Jun 2. Review. PubMed PMID: 26032105; PubMed Central PMCID: PMC4822419.
 82. Gindhart PS. Growth Standards for the Tibia and Radius in Children Aged One Month through Eighteen Years. *Am J Phys Anthropol.* 1973; 39: 41–48.
 83. Lopez-Costas O, Rissech C, Tranco G, Turbón D. Postnatal ontogenesis of the tibia. Implications for age and sex estimation. *Forensic Sci Int.* 2012; 214 (1–3): 207.e1–11. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.07.038. Epub 2011. PubMed PMID: 21862250.
 84. Blake KAS. An investigation of sex determination from the subadult pelvis: A morphometric analysis. Doctoral Dissertation, University of Pittsburgh, 2011.
 85. Cunningham CA, Black SM. Iliac cortical thickness in the neonate — the gradient effect. *J Anat.* 2009a Sep; 215 (3): 364–70. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01112.x.
 86. Cunningham CA, Black SM. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J Anat.* 2009b Jun; 214 (6): 817–29. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01073.x
 87. Rissech C, Garcia M, Malgosa A. Sex and age diagnosis by ischium morphometric analysis. *Forensic Science International.* 2003; 135: 188–96.
 88. Rissech C, Malgosa A. Pubis growth study: Applicability in sexual and age diagnostic. *Forensic Science International.* 2007; 173: 137–45.
 89. Corron L, Marchal F, Condemi S, Chaumoitre K, Adalian P. A New Approach of Juvenile Age Estimation using Measurements of the Ilium and Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Models for Better Age Prediction. *Forensic Sci.* 2017; 62 (1): 18–29. DOI: 10.1111/1556-4029.13224.
 90. Parfitt AM, Travers R, Rauch F, Glorieux FH. Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. *Bone.* 2000; 27 (4): 487–94. PMID: 11033443.
 91. Schnitzler CM, Mesquita JM, Pettifor JM. Cortical bone development in black and white South African children: iliac crest histomorphometry. *Bone.* 2009; 44 (4): 603–11. DOI: 10.1016/j.bone.2008.12.009.
 92. De Boer HH, Van der Merwe AE, Soerdjbalie-Maikoe VV. Human cranial vault thickness in a contemporary sample of 1097 autopsy cases: relation to body weight, stature, age, sex and ancestry. *Int J Legal Med.* 2016; 130 (5): 1371–7. DOI: 10.1007/s00414-016-1324-5.
 93. Margulies S, Coats B. Experimental Injury Biomechanics of the Pediatric Head and Brain. Chapter 4 in: *Pediatric Injury Biomechanics* Springer Science + Business Media New York. 2013; 157–90.
 94. McGraw MA, Mehlman CT, Lindsell CJ, Kirby CL. Postnatal growth of the clavicle: birth to eighteen years of age. *Journal of Pediatric Orthopedics.* 2009; 29: 937
 95. Bernat A, Huysmans T, Van Glabbeek F, Sijbers J, Gielen J, Van Tongel A. The anatomy of the clavicle: a three-dimensional cadaveric study. *Clin Anat.* 2014; 27 (5): 712–23
 96. Corron L. Juvenile age estimation in physical anthropology: A critical review of existing methods and the application of two standardised methodological approaches. *Biological anthropology.* Aix-Marseille Universite. English, 2016.
 97. Saunders S, Hoppa R, Southern R. Diaphyseal growth in a nineteenth-century skeletal sample of subadults from St Thomas' Church, Belleville, Ontario. *International Journal of Osteoarcheology.* 1993; 3: 265–81.
 98. Badr El Dine F, Hassan H. Ontogenetic study of the scapula among some Egyptians: Forensic implications in age and sex estimation using Multidetector Computed Tomography, *Egyptian Journal of Forensic Sciences.* 2015; 6 (2): 56–77.
 99. Rissech C, Black S. Scapular development from neonatal period to skeletal maturity. A preliminary study. *Int J Osteoarcheol.* 2007; 17: 451–64.
 100. Bayarogullan H, Yengil E, Davran R, Ađlagül E, Karazincir S, Balcı A. Evaluation of the postnatal development of the sternum and sternal variations using multidetector CT. *Diagn Interv Radiol.* 2014; 20 (1): 82–9.
 101. Weaver AA, Schoell SL, Nguyen CM, Lynch SK, Stitzel JD. Morphometric analysis of variation in the sternum with sex and age. *J Morphol.* 2014; 275 (11): 1284–99.
 102. Johnson KT, Al-Holou WN, Anderson RC, Wilson TJ, Karnati T, et al. Morphometric analysis of the developing pediatric cervical spine. *J Neurosurg Pediatr.* 2016; 18 (3): 377–89. DOI: 10.3171/2016.3.PEDS1612. Epub 2016 May 27. PubMed PMID: 27231821.
 103. Caldas Md P, Ambrosano GM, Haiter Neto F. New formula to objectively evaluate skeletal maturation using lateral cephalometric radiographs. *Braz Oral Res.* 2007; 21 (4): 330–5. PubMed PMID: 18060260
 104. Peters JR, Chandrasekaran C, Robinson LF, Servaes SE, Campbell RM Jr, Balasubramanian S. Age- and gender-related changes in pediatric thoracic vertebral morphology. *Spine J.* 2015; 15 (5): 1000–1020. DOI: 10.1016/j.spinee.2015.01.016.
 105. Peters JR, Servaes SE, Cahill PJ, Balasubramanian S. Morphology and growth of the pediatric lumbar vertebrae. *Spine J.* 2021; 21 (4): 682–97. DOI: 10.1016/j.spinee.2020.10.029.
 106. Newman SL, Gowland RL. The use of non-adult vertebral dimensions as indicators of growth disruption and non-specific health stress in skeletal populations. *American journal of physical anthropology.* 2015; 158 (1): 155–64.
 107. Comeau A. Age-related Changes in Geometric Characteristics of the Pediatric Thoracic Cage and Comparison of Thorax Shape with a Pediatric CPR Manikin. PhD thesis. 2010
 108. Knirsch W, Kurtz C, Häfner N, Langer M, Kececioğlu D. Normal values of the sagittal diameter of the lumbar spine (vertebral body and dural sac) in children measured by MRI. *Pediatr Radiol.* 2005; 35: 419–24. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00247-004-1382-6>.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНАХ АНТИОКСИДАНТОВ НА РИСК РАЗВИТИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛЮДЕЙ

Е. А. Блинова [✉], А. В. Кореченкова, М. А. Янишевская, А. В. Аклеев

Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

На фоне дополнительного радиационного воздействия однонуклеотидные полиморфизмы в генах, кодирующих ферменты антиоксидантной системы, могут способствовать усилению окислительного стресса, возникновению повреждений ДНК и, как следствие, приводить к повышению риска развития злокачественных новообразований (ЗНО). Целью работы было установить связи полиморфных локусов *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) с риском развития ЗНО у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, с учетом межгенных взаимодействий и дозы радиационного облучения. В исследование были включены две группы людей: облученные лица без ЗНО — 384 человека со средней накопленной дозой облучения красного костного мозга (ККМ) $796,95 \pm 35,97$ мГр; облученные лица с ЗНО в анамнезе — 227 человек со средней накопленной дозой облучения ККМ $520,06 \pm 38,72$ мГр. Амплификацию полиморфных локусов rs4880, rs2333227, rs7943316, rs4673, rs1050450 проводили методом ПЦР в реальном времени. Для всех полиморфных участков генов выявлено соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Обнаружено, что аллели rs4880°C (*SOD2*) и rs1050450*T (*GPX1*) ассоциированы с повышенным риском развития ЗНО согласно доминантной (ОШ = 1,49 (1,02–2,18), $p = 0,04$) и рецессивной (ОШ = 2,00 (1,11–3,62), $p = 0,02$) моделям наследования соответственно. Получена модель межфакторных взаимодействий со 100%-й воспроизводимостью и точностью 66% ($p = 0,001$), включающая в себя полиморфизмы *SOD2* (rs4880), *CYBA* (rs4673) и фактор накопленной дозы облучения ККМ. Таким образом, полиморфные локусы генов, регулирующих оксидантный статус клеток, связаны с повышенным риском развития ЗНО у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию с преимущественным облучением ККМ.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, хроническое облучение, река Теча, антиоксидантная система, злокачественное новообразование

Финансирование: статья подготовлена в рамках выполнения составной части научно-исследовательской работы (контракт № 635/ФМБЦ/23 от 29.11.2023).

Вклад авторов: Е. А. Блинова — постановка методики, написание статьи; А. В. Кореченкова — статистическая обработка данных, написание статьи; М. А. Янишевская — лабораторные исследования, написание статьи; А. В. Аклеев — концепция исследования, написание статьи, научное руководство.

Соблюдение этических стандартов: все участники добровольно подписали форму информированного согласия на участие в исследовании и забор биологического материала в банк тканей, утвержденную в протоколе исследования, одобренном этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 2 от 13 апреля 2023 г.), до включения в исследование.

✉ **Для корреспонденции:** Евгения Андреевна Блинова
ул. Воровского, д. 68, корп. А, г. Челябинск, 454141, Россия; blinova@urcrm.ru

Статья получена: 25.03.2024 **Статья принята к печати:** 03.06.2024 **Опубликована онлайн:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.022

THE IMPACT OF POLYMORPHISMS IN ANTIOXIDANT GENES ON THE RISK OF MALIGNANT NEOPLASM DEVELOPMENT IN EXPOSED INDIVIDUALS

Blinova EA [✉], Korechenkova AV, Yanishevskaya MA, Akleyev AV

Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

In the context of additional radiation exposure, single nucleotide polymorphisms in the genes encoding the antioxidant system enzymes can contribute to the oxidative stress enhancement, damage to DNA, and therefore lead to the increase in the risk of malignant neoplasm (MN) development. The study was aimed to determine the association of the *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) polymorphic loci with the risk of MN development in individuals affected by low dose rate chronic radiation exposure considering intergenic interactions and the radiation dose. Two groups of individuals were included in the study: exposed individuals with no MNs — 384 people with the mean accumulated dose to the red bone marrow (RBM) of 796.95 ± 35.97 mGy; exposed individuals with the history of MNs — 227 people with the mean accumulated dose to RBM of 520.06 ± 38.72 mGy. Amplification of the rs4880, rs2333227, rs7943316, rs4673, rs1050450 polymorphic loci was performed with real time PCR. Compliance with the Hardy–Weinberg equilibrium was reported for all gene polymorphisms. It has been found that the rs4880°C (*SOD2*) and rs1050450*T (*GPX1*) alleles are associated with the risk of MN development in accordance with the dominant (OR = 1.49 (1.02–2.18), $p = 0.04$) and recessive (OR = 2.00 (1.11–3.62), $p = 0.02$) inheritance modes, respectively. An interfactor interaction model with the 100% reproducibility and 66% accuracy ($p = 0.001$) has been obtained that includes the *SOD2* (rs4880), *CYBA* (rs4673) polymorphisms and the factor of accumulated dose to RBM. Thus, polymorphic loci of the genes regulating the oxidative status of the cells are associated with the increased risk of MN development in individuals, who have experienced chronic radiation exposure with predominant exposure of RBM.

Keywords: single nucleotide polymorphism, chronic radiation exposure, Techa River, antioxidant system, malignant neoplasm

Funding: the paper was prepared during implementation of a part of the research project (contract No. 635/FMBC/23 dated 29.11.2023).

Author contributions: Blinova EA — developing the method, manuscript writing; Korechenkova AV — statistical data processing, manuscript writing; Yanishevskaya MA — laboratory tests, manuscript writing; Akleyev AV — study conception and design, manuscript writing, academic advising.

Compliance with ethical standards: all the subjects submitted the form of the informed consent to study participation and biomaterial sampling and storage in the tissue bank finalized in the study protocol approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine of FMBA of Russia (protocol No. 2 dated 13 April 2023) before inclusion in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Eugenia A. Blinova
Vorovsky, 68-A, Chelyabinsk, 454141, Russia; blinova@urcrm.ru

Received: 25.03.2024 **Accepted:** 03.06.2024 **Published online:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.022

Механизмы повреждающего действия ионизирующего излучения тесно связаны с усилением окислительного стресса в облученных клетках [1]. Повышенное содержание активных форм кислорода (АФК) способствует повреждению макромолекул, в том числе белков, нуклеиновых кислот и липидов, что приводит к дисфункции, повреждениям ДНК и апоптотической гибели клеток [2]. Центральное место в антиоксидантной защите занимают глутатионпероксидаза (ген *GPX*), каталаза (ген *CAT*), марганец-зависимая супероксиддисмутаза (ген *SOD2*), миелопероксидаза (ген *MPO*) и цитохром b-245 (ген *CYBA*). Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) в генах, кодирующих антиоксидантные ферменты, может способствовать изменению активности ферментов и нарушению их функций [3]. В частности, наблюдаются изменение активности ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, а также снижение их способности нейтрализовать свободные радикалы при наличии неблагоприятных аллелей по полиморфным локусам генов *SOD2* (rs4880) и *GPX1* (rs1050450) соответственно [4]. Каталаза является важным эндогенным антиоксидантным ферментом, который катализирует разложение перекиси водорода на кислород и воду, тем самым нейтрализуя вредное воздействие АФК. Полиморфный локус rs7943316 в промоторной области гена *CAT* может модифицировать аффинность связывания факторов транскрипции. Из-за присутствия мутантного аллеля Т неправильное связывание факторов транскрипции может привести к изменению активности промотора, экспрессии генов и снижению каталитической активности фермента [5]. Снижение каталитической активности антиоксидантных ферментов, в свою очередь, повышает восприимчивость к окислительному стрессу. Полиморфный локус rs2333227, расположенный в промоторной области гена миелопероксидазы, снижает экспрессию гена *MPO*, нарушая сайт связывания транскрипционного фактора SP1. Установлено, что замена основания G на A связана с уменьшением экспрессии мРНК гена *MPO* и снижением количества фермента, тогда как аллель G, наоборот, связан с повышенной выработкой *MPO* [6]. Ряд полиморфизмов в промоторной и экзонной областях гена *CYBA* влияют на экспрессию гена и активацию НАДФН-оксидазы, что приводит к повышенному образованию свободных радикалов наряду с регистрируемым дефицитом антиоксидантов [7]. Все это свидетельствует о том, что наличие полиморфных участков в генах, кодирующих ферменты антиоксидантной системы, может влиять как на количественные, так и на функциональные характеристики фермента, а в случае дополнительного

воздействия ионизирующего излучения модифицировать эффект облучения.

Целью исследования было установить связь полиморфных локусов *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) с риском развития злокачественных новообразований (ЗНО) у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, с учетом межгенных взаимодействий и дозы радиационного облучения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Генотипирование по полиморфным маркерам *CYBA* (rs4673), *GPX1* (rs1050450), *MPO* (rs2333227), *CAT* (rs7943316), *SOD2* (rs4880) проводили у лиц, проживавших на радиоактивно загрязненных территориях вдоль р. Течи и подвергшихся низкоинтенсивному хроническому радиационному воздействию в диапазоне малых и средних доз [8]. Все пациенты, включенные в исследование, были госпитализированы в клиническое отделение Уральского научно-практического центра радиационной медицины ФМБА России (УНПЦ РМ) в период с 2003 по 2023 г., у них забирали образцы крови в банк тканей УНПЦ РМ. Для всех обследованных лиц критериями включения были проживание в любое время в период с 1 января 1950 г. по 31 декабря 1960 г. в одном из 41 села, расположенных на прибрежной территории р. Течи; наличие индивидуальной накопленной дозы облучения красного костного мозга (ККМ), рассчитанной с применением дозиметрической системы Techa River Dosimetry System (TRDS-2016) [9]. Для группы сравнения критерием включения было отсутствие онкологических заболеваний, для группы облученных с ЗНО — наличие солидных ЗНО. Критериями исключения для всех обследованных лиц были наличие гематологических заболеваний и отсутствие информации об истории болезни.

Обследуемые лица (611 человек) были разделены на две группы: лица, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию на р. Тече без ЗНО, — 384 человека; лица, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию на р. Тече, имеющие в анамнезе ЗНО различной локализации, — 227 человек. Подробная характеристика обследуемых групп представлена в табл. 1.

Обследуемые лица имели накопленные дозы облучения ККМ в диапазоне от 0,85 до 3715,72 мГр, а средняя доза облучения не превышала 659 мГр. Статистически значимых различий в накопленных дозах облучения ККМ между группами облученных, имеющих в анамнезе ЗНО, и облученных без ЗНО обнаружено не было ($p > 0,05$).

Таблица 1. Характеристика обследуемых групп

Показатель		Лица, облученные на р. Тече, без ЗНО ($n = 384$)	Лица, облученные на р. Тече, имеющие в анамнезе ЗНО ($n = 227$)
Пол, n (%)	Мужчины	124 (32,29)	83 (36,56)
	Женщины	260 (67,71)	144 (63,44)
Этническая группа, n (%)	Славяне	138 (35,94)	104 (45,81)
	Тюрки	246 (64,06)	123 (54,19)
Возраст на момент обследования, лет; mean \pm SD (min–max)		73,91 \pm 9,04 (43,00–97,00)	73,42 \pm 8,82 (47,00–95,00)
Накопленная доза облучения ККМ, мГр; mean \pm SE (min–max)		796,95 \pm 35,97 (1,69–3715,72)	520,06 \pm 38,72 (0,85–3507,07)

Примечание: mean \pm SD (min–max) — среднее значение \pm стандартное отклонение (мин.–макс.); mean \pm SE (min–max) — среднее значение \pm стандартная ошибка (мин.–макс.).

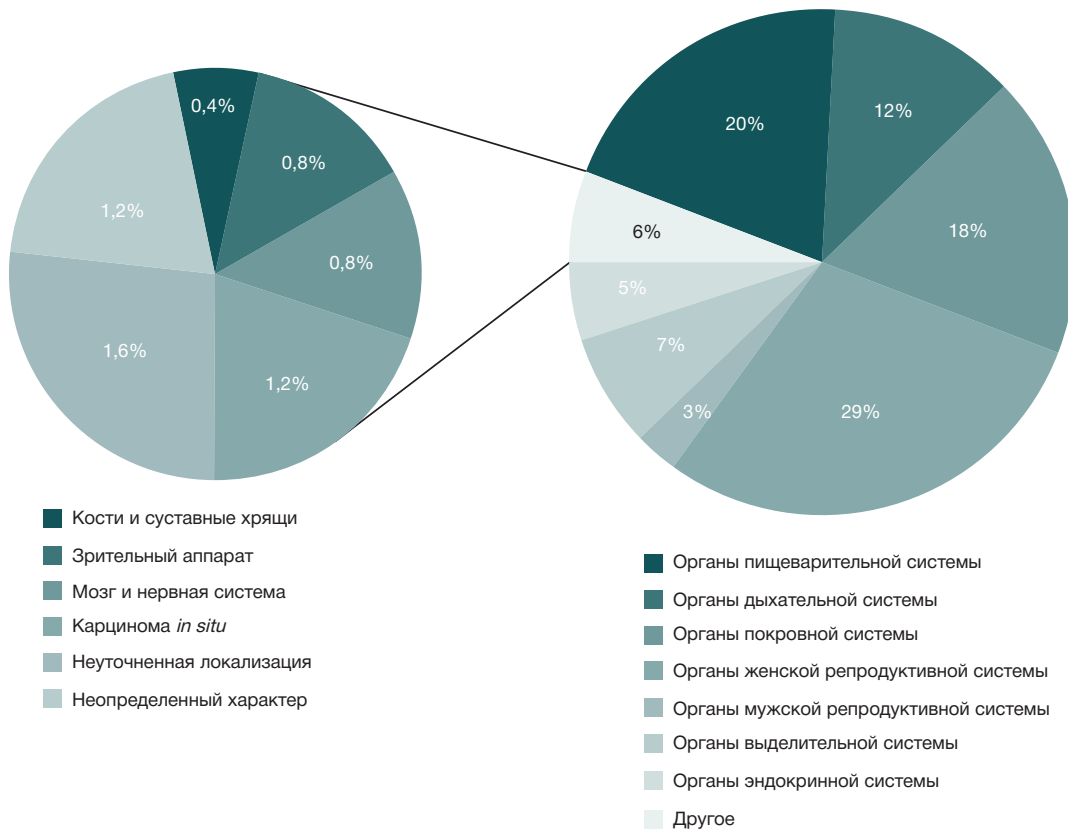


Рис. 1. Распределение ЗНО в группе облученных лиц в зависимости от локализации процесса

Представленные группы сопоставимы по полу, этническому составу и возрасту.

Из диагностированных форм солидных опухолей у облученных жителей прибрежных сел р. Течи были следующие: ЗНО органов пищеварительной системы — 49 человек (коды по МКБ-10: C00, C02, C04, C15, C16, C18.4, C19, C22.7, C25.9, C26), органов дыхательной системы — 28 человек (коды по МКБ-10: C30, C32.9, C34), органов покровной системы — 44 человека (коды по МКБ-10: C43.9, C44), органов женской репродуктивной системы — 70 человек (коды по МКБ-10: C50, C53, C54, C56), органов мужской репродуктивной системы — восемь человек (коды по МКБ-10: C61, C63), органов мочевого выделительной системы — 16 человек (коды по МКБ-10: C64, C67), органов эндокринной системы — 13 человек (код по МКБ-10: C73). Помимо этого, в обследованной группе встречались ЗНО костей и суставных хрящей — один человек (код по МКБ-10: C40), мозга и нервной системы — два человека (коды по МКБ-10: C71, C72), зрительного аппарата — два человека (коды по МКБ-10: C69), ЗНО неуточненной локализации — четыре человека (код по МКБ-10: C80), карцинома *in situ* — три человека

(код по МКБ-10: D09) и ЗНО неопределенного характера — три человека (код по МКБ-10: D48). Распределение ЗНО в группе облученных лиц представлено на рис. 1.

Забор периферической крови для исследования проводили в вакуумные пробирки Vacuette (Greiner Bio-One; Австрия) объемом 9 мл, покрытые мелкодисперсным антикоагулянтом КЗЭДТА. Выделение геномной ДНК производили на спин-колонках с использованием коммерческого набора ExtractDNA Blood & Cells («Евроген»; Россия) согласно протоколу производителя.

Однонуклеотидные полиморфные варианты генов-кандидатов для исследования выбирали с учетом расположения полиморфного локуса в гене, а также наличия связи со ЗНО на основе анализа баз данных MapMap (URL: hapmap.ncbi.nlm.nih.gov), NCBI (URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), SNPedia (URL: <https://snpedia.com/>). В табл. 2 представлена характеристика полиморфных участков исследуемых генов.

Аmplификацию исследуемых полиморфных локусов проводили методом ПЦР в реальном времени на приборе StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems; США) с использованием наборов реагентов,

Таблица 2. Характеристика полиморфных участков

Ген	ОНП	Аллели	Минорный аллель	Позиция	Расположение
<i>SOD2</i>	rs4880	T/C	C	chr6:159692840	Миссенс вариант
<i>MPO</i>	rs2333227	C/T	T	chr17:58281401	2KB Upstream Variant
<i>CAT</i>	rs7943316	A/T	T	chr11:34438925	2KB Upstream Variant
<i>CYBA</i>	rs4673	C/T	C	chr16:88646828	Миссенс вариант
<i>GPX1</i>	rs1050450	C/T	T	chr3:49357401	Миссенс вариант

Примечание: 2KB Upstream Variant — участок ДНК длиной в 2000 п. о., который находится выше (*upstream*, в направлении от 5'- к 3'-концу ДНК) целевой последовательности.

Таблица 3. Встречаемость генотипов исследуемых ОНП у облученных лиц

Ген/ОНП	Генотип	Облученные лица без ЗНО				Облученные лица со ЗНО			
		Число (%)	Ho	He	<i>p</i>	Число (%)	Ho	He	<i>p</i>
<i>SOD2</i> /rs4880	C/C	70 (19)	0,47	0,49	0,5	41 (20)	0,54	0,5	0,2
	C/T	174 (47)				110 (54)			
	T/T	125 (34)				52 (26)			
<i>MPO</i> /rs2333227	C/C	276 (72)	0,27	0,25	0,1	122 (74)	0,26	0,23	0,2
	C/T	101 (27)				42 (25)			
	T/T	4 (1)				1 (1)			
<i>CAT</i> /rs7943316	A/A	60 (16)	0,48	0,48	0,9	25 (13)	0,47	0,47	0,8
	A/T	179 (48)				89 (46)			
	T/T	134 (36)				75 (39)			
<i>CYBA</i> /rs4673	C/C	201 (54)	0,37	0,4	0,2	96 (49)	0,4	0,43	0,4
	C/T	139 (37)				78 (40)			
	T/T	34 (9)				21 (11)			
<i>GPX1</i> /rs1050450	C/C	182 (49)	0,44	0,41	0,3	73 (46)	0,4	0,45	0,1
	C/T	162 (44)				62 (40)			
	T/T	28 (8)				22 (14)			

Примечание: Ho — наблюдаемая гетерозиготность; He — ожидаемая гетерозиготность; *p* — значение для теста Харди–Вайнберга.

синтезированных ООО «ТестГен» (Россия), согласно протоколу производителя.

Оценку отклонения распределения частот генотипов исследованных полиморфизмов от ожидаемого равновесного распределения по закону Харди–Вайнберга проводили с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) в онлайн-калькуляторе Gene Calc (URL: <https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page>). Для оценки связи аллелей в полиморфных локусах с риском развития ЗНО использовали расчет отношения шансов (ОШ) с 95%-м доверительными интервалом (ДИ). Ассоциацию считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Для оценки межгенного взаимодействия, а также дозы облучения использовали непараметрический метод снижения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) [10], который реализован в свободно распространяемом пакете MDR v. 3.0.2 (URL: <http://sourceforge.net/projects/mdr>). В ходе такого анализа мультилокусные генотипы и факторы объединяются в группы повышенного и сниженного риска развития заболевания, что уменьшает размерность числа рассчитываемых параметров. Таким образом, из всех предложенных вариантов моделей, сформированных на основе вводимых первичных данных, путем многократных проверок выбирается оптимальная модель факторного взаимодействия, позволяющая с наиболее высокой точностью и низкой вероятностью ошибки предсказать наличие или отсутствие предрасположенности к определенным болезням [11]. Оптимальность полученных моделей оценивали, основываясь на воспроизводимости по результатам перекрестной проверки (Cross Validation Consistency, CVC) и точности предсказания (Testing Balanced Accuracy, TBA). Модель должна воспроизводиться не менее 9 раз из 10, а ее точность должна превышать 55%. Значение *p* для показателя точности предсказания было установлено с помощью теста 1000-кратной перестановки (Permutation Testing). Значения считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для визуализации результатов анализа взаимодействий факторов использовали графы, построенные силовым алгоритмом Фрухтермана–Рейнгольда (Fruchterman–Reingold). Вклад каждого фактора и/или взаимодействия факторов оценивается величиной энтропии *H*, выраженной в процентах. Так, фактор со 100% энтропией однозначно определяет, к какому классу (больных или здоровых) относится индивид;

соответственно, фактор с 0% не играет никакой роли в предрасположенности к заболеванию. Для учета дозового фактора обследованные лица были ранжированы на три дозовые подгруппы: 1 — 0,85–99 мГр; 2 — 100–999 мГр; 3 — ≥ 1000 мГр.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования распределения полиморфных участков генов антиоксидантной системы у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, представлены в табл. 3.

Для всех полиморфных участков генов наблюдалось соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Кроме того, значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для всех полиморфных участков были схожими, что указывает на случайность выборки.

На следующем этапе исследования был выполнен анализ связи каждого отдельно взятого полиморфизма гена с риском развития ЗНО на основе рецессивной и доминантной моделей наследования (табл. 4).

В результате анализа было установлено, что аллели rs4880*С и rs1050450*Т ассоциированы с повышенным риском развития ЗНО (ОШ = 1,49 (1,02–2,18), $p = 0,04$) и ОШ = 2,00 (1,11–3,62), $p = 0,02$ соответственно). Принимая во внимание тот факт, что при исследовании ассоциаций отдельных аллелей и генотипов не учитывают сложный каскад взаимодействий продуктов генов оксидантной системы, а также фактор радиационного воздействия в риске развития ЗНО, мы выполнили анализ межгенных взаимодействий с накопленной дозой облучения, в результате которого были получены 1*n*-, 2*n*-, 3*n*- и *n*-факторные модели (табл. 5). Одновременно тестировали все пять ОНП и фактор накопленной дозы облучения ККМ. В табл. 5 представлены четыре наилучшие комбинации факторов по результатам моделирования. Дальнейшее увеличение числа параметров значительно снижало точность представляемых моделей.

Среди всех выявленных моделей наибольшей точностью (66%) и 100%-й воспроизводимостью обладает трехфакторная модель, включающая в себя полиморфизмы *SOD2* (rs4880), *CYBA* (rs4673) и накопленную дозу облучения ККМ ($p = 0,001$). Как сопряженные с повышенным риском развития ЗНО были отмечены аллели С*rs4880 (генотипы C/C и C/T) и Т*rs4673 (генотипы T/T и T/C). Остальные модели не

Таблица 4. Связь ОНП с риском развития ЗНО

Ген/ОНП	Модель	Генотип		ОШ (95%-й ДИ)	p
		Облученные без ЗНО	Облученные со ЗНО		
SOD2/rs4880	доминантная	T/T (125) C/T-C/C (244)	T/T (52) C/T-C/C (151)	1,00 1,49 (1,02–2,18)	0,04
	рецессивная	T/T-C/T (299) C/C (70)	T/T-C/T (162) C/C (41)	1,00 1,08 (0,70–1,66)	0,72
MPO/rs2333227	доминантная	C/C (276) C/T-T/T (105)	C/C (122) C/T-T/T (43)	1,00 0,93 (0,61–1,40)	0,72
	рецессивная	C/C-C/T (377) T/T (4)	C/C-C/T (164) T/T (1)	1,00 0,57 (0,06–5,18)	0,6
CAT/rs7943316	доминантная	T/T (134) A/T-A/A(239)	T/T (75) A/T-A/A (114)	1,00 0,85 (0,59–1,22)	0,38
	рецессивная	T/T-A/T (313) A/A (60)	T/T-A/T (164) A/A (25)	1,00 0,80 (0,48–1,32)	0,37
CYBA/rs4673	доминантная	C/C (201) C/T-T/T (173)	C/C (96) C/T-T/T (99)	1,00 1,20 (0,85–1,69)	0,31
	рецессивная	C/C-C/T (340) T/T (34)	C/C-C/T (174) T/T (21)	1,00 1,21 (0,68–2,14)	0,52
GPX1/rs1050450	доминантная	C/C (182) C/T-T/T (190)	C/C (73) C/T-T/T (84)	1,00 1,10 (0,76–1,60)	0,61
	рецессивная	C/C-C/T (344) T/T(28)	C/C-C/T (135) T/T(22)	1,00 2,00 (1,11–3,62)	0,02

Примечание: ОШ (95%-й ДИ) — отношение шансов с 95%-м доверительным интервалом.

соответствовали условиям отбора. Полиморфизм *GPX1* (rs1050450) был включен в 4n-факторную модель, однако одновременно с повышением чувствительности такой модели уменьшается ее специфичность, что сказывается на точности. Остальные полиморфизмы были признаны недостаточно информативными. Граф взаимодействия элементов в трехфакторной модели представлен на рис. 2.

Наибольшей информационной ценностью обладают полиморфизм *SOD2* (rs4880), объясняющий 0,96% фенотипической энтропии (неопределенности), и фактор накопленной дозы облучения ККМ — 1,24%. Наименьший информационный вклад вносит *CYBA* (rs4673) — 0,06%, что, вероятно, не играет существенной роли в риске развития ЗНО. Однако стоит учесть взаимодействия между всеми элементами модели, которые носят синергетический характер. Так, на долю пары rs4880 и rs4673 приходится 0,61% энтропии, на долю rs4673 и накопленной дозы на ККМ — 0,83%, а на долю rs4880 и накопленной дозы на ККМ — 0,21%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

АФК являются продуктами нормального клеточного метаболизма и играют важную роль в стимуляции сигнальных путей в клетках в ответ на изменения внутри- и внеклеточных условий. Большинство АФК генерируются в дыхательной цепи митохондрий [12]. Однако дисбаланс между образованием свободных

радикалов и реактивных метаболитов и их устранением с помощью ферментов антиоксидантной системы приводит к возникновению окислительного стресса. Факторы, способствующие формированию окислительного стресса, разнообразны — от образа жизни (курение, употребление алкоголя) до воздействия окружающей среды (химическое и радиационное воздействие). Кроме того, хронические заболевания и воспаление также могут быть связаны с окислительным стрессом. В конечном счете окислительный стресс приводит к повреждению важных биомолекул и структур клеток с потенциальными последствиями для всего организма [13]. При устойчивом окислительном стрессе АФК вырабатываются в течение длительного времени. Так могут возникать значительные повреждения структуры и функций клеток, что может привести к возникновению соматических мутаций и неопластической трансформации [14]. Способность антиоксидантов нейтрализовать действие свободных радикалов может быть важной частью противоопухолевой защиты организма. Эффективность антиоксидантной системы генетически детерминирована. Сверхэкспрессия или снижение активности антиоксидантных ферментов может модифицировать эффекты облучения [15].

В ходе проведенного нами исследования установлено, что аллель rs4880*С гена *SOD2* и аллель rs1050450*Т гена *GPX1* ассоциированы с повышенным риском развития ЗНО у людей, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в широком диапазоне доз, что в целом

Таблица 5. Модели межгенных взаимодействий с накопленной дозой облучения у хронически облученных людей

Модель	Точность предсказания	Согласованность перекрестной проверки	p	Se	Sp
Доза на ККМ	0,53	5/10	0,275	0,304	0,827
<i>SOD2</i> rs4880, доза на ККМ	0,55	6/10	0,162	0,761	0,454
<i>SOD2</i> rs4880, доза на ККМ, <i>CYBA</i> rs4673	0,66	10/10	0,001	0,75	0,601
<i>SOD2</i> rs4880, доза на ККМ, <i>CYBA</i> rs4673, <i>GPX1</i> rs1050450	0,57	10/10	0,062	0,837	0,578

Примечание: p — значение для показателя точности предсказания в тесте 1000-кратной перестановки; Se — чувствительность; Sp — специфичность.

согласуется с литературными данными по необлученным людям. Согласно геномной оценке онкогенности на основе модели прогнозирования regBase, rs4880 имеет статус вероятно патогенного. По литературным данным, rs4880 ассоциирован с повышенным риском развития ЗНО предстательной железы [16]. Кроме того, у лиц с генотипом С/Т и Т/Т по полиморфизму SOD2 (rs4880) измеренная активность фермента SOD2 была на 33% ниже, чем у носителей генотипа С/С [17]. Однако в исследовании [18], напротив, показано снижение активности фермента при наличии варианта Т в кодоне 16, приводящее к усилению окислительного стресса, — что, вероятно, является причиной повреждения структур клетки. Связь между генетическими вариантами полиморфизма GPX1 (rs1050450) и предрасположенностью к ЗНО у необлученных людей также показана в ряде исследований [19]. Комплексный метаанализ, включавший в себя 31 опубликованную статью, показал, что rs1050450 может способствовать предрасположенности к развитию ЗНО за счет нарушения антиоксидантного баланса. Носители варианта аллеля Т имеют повышенный риск развития различных типов ЗНО, особенно в азиатских подгруппах на основе доминантной генетической модели [20]. Возможным механизмом таких эффектов может быть снижение функциональной активности гена. Так, по данным ClinVar, rs1050450 связан с дефицитом глутатионпероксидазы.

Учитывая, что на процесс онкотрансформации клетки влияет большое число факторов, в том числе межгенные взаимодействия и факторы внешней среды, мы провели анализ роли межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов и дозы облучения ККМ в развитии ЗНО у облученного человека. В результате анализа с наибольшей точностью (66% ($p = 0,001$) и 100%-й воспроизводимостью была установлена трехфакторная модель, согласно которой повышенный риск развития ЗНО регистрируется при сочетании аллеля C*rs4880 гена SOD2, аллеля T*rs4673 гена CYBA и накопленной дозы облучения ККМ. Стоит отметить, что в наиболее точную модель включен полиморфный вариант SOD2 (rs4880), для которого в нашем исследовании была установлена ассоциация с повышенным риском развития ЗНО. В то же время полиморфизм GPX1 (rs1050450), который также был сопряжен с повышенным риском развития ЗНО, не вошел в модель — вместо него по результатам тестирования был определен CYBA (rs4673). Однако учитывая его незначительный вклад (0,06%) на данном этапе работы

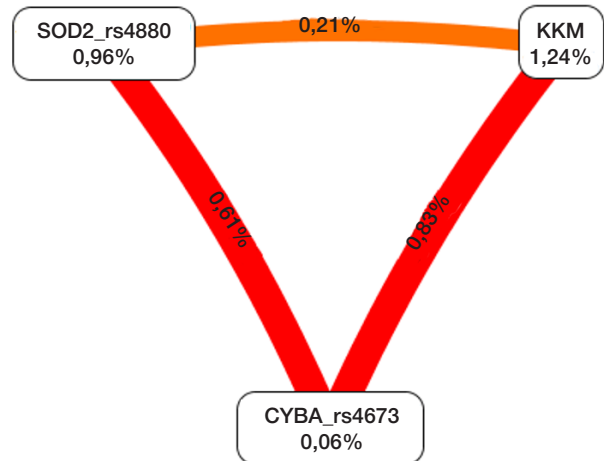


Рис. 2. Граф взаимодействия элементов в трехфакторной модели

сложно однозначно определить его роль. По результатам исследований [21], rs4673 ассоциирован с повышенным риском развития рака молочной железы. У лиц с генотипом С/Т и Т/Т rs4673 риск развития рака молочной железы в 1,42 раза выше, чем у лиц с генотипом С/С.

По всей видимости, повышенное образование АФК вследствие радиационного воздействия на фоне пониженной ферментативной активности супероксиддисмутазы предположительно может играть роль в усилении окислительного стресса, повреждении клеточных компонентов, ДНК и, как следствие, приводить к повышению риска развития ЗНО.

Выводы

Исследование показало, что полиморфные локусы генов, регулирующих окислительный статус клеток, такие как аллель rs4880*С гена SOD2 (ОШ = 1,49; 95%-й ДИ = 1,02–2,18; $p = 0,039$) и аллель rs1050450*Т гена GPX1 (ОШ = 2,00; 95%-й ДИ = 1,11–3,62; $p = 0,024$), связаны с повышенным риском развития ЗНО у хронически облученных лиц. Модель межфакторных взаимодействий также позволила установить повышенный риск развития ЗНО у носителей минорных аллелей rs4880*С, rs4673*Т и дозы облучения ККМ. Для выявления модифицирующего эффекта облучения при наличии неблагоприятных аллелей по полиморфным участкам генов антиоксидантной системы требуются дополнительные исследования.

Литература

- Buonanno M, de Toledo SM, Pain D, Azzam EI. Long-term consequences of radiation-induced bystander effects depend on radiation quality and dose and correlate with oxidative stress. *Radiat Res.* 2011; 175 (4): 405–15. DOI: 10.1667/RR2461.1.
- Sage E, Shikazono N. Radiation-induced clustered DNA lesions: repair and mutagenesis. *Free Radic Biol Med.* 2017; (107): 125–35. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.008.
- Abd El Azeem RA, Zedan MM, Saad EA, Mutawi TM, Attia ZR. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of antioxidant enzymes SOD2 and GSTP1 genes and SLE risk and severity in an Egyptian pediatric population. *Clin Biochem.* 2021; (88): 37–42. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2020.11.010.
- Nikic P, Dragicevic D, Jerotic D, Savic S, Djukic T, Stankovic B, et al. Polymorphisms of antioxidant enzymes SOD2 (rs4880) and GPX1 (rs1050450) are associated with bladder cancer risk or its aggressiveness. *Medicina (Kaunas).* 2023; 59 (1): 131. DOI: 10.3390/medicina59010131.
- Nawab SN, Zehra S, Fawwad A, Azhar A. A study on catalase gene promoter polymorphism-21 A/T (rs7943316) in healthy Pakistani population. *Pak J Med Sci.* 2017; 33 (6): 1521–4. DOI: 10.12669/pjms.336.13188.
- Taioli E, Benhamou S, Bouchardy C, Cascorbi I, Cajas-Salazar N, Dally H, et al. Myeloperoxidase G-463A polymorphism and lung cancer: a HuGE genetic susceptibility to environmental carcinogens pooled analysis. *Genet Med.* 2007; 9 (2): 67–73. DOI: 10.1097/gim.0b013e31803068b1.
- Kumar R, Kohli S, Ali Z, Duhan K, Ram R, Gupta M, et al. CYBA (p22phox) variants associate with blood pressure and oxidative stress markers in hypertension: a replication study in populations of diverse altitudes. *Hypertens Res.* 2015; 38 (7): 498–506. DOI:

- 10.1038/hr.2015.31.
- Аклеев А. В., Киселев М. Ф., редакторы. Медико-биологические и экологические последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. М.: Вторая типография ФУ «Медбиоэкстрем», 2001; 531 с.
 - Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бугров Н. Г., Крестинина Л. Ю. и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475.
 - Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. *Bioinformatics*. 2003; 19 (3): 376–82. DOI: 10.1093/bioinformatics/btf869.
 - Бурмистрова А. Л., редактор. Метаорганизм. Стресс и адаптация. Челябинск: Челябинский государственный университет, 2019; 239 с.
 - Đuračková Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010; 59 (4): 459–69. DOI: 10.33549/physiolres.931844.
 - Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010; 49 (11): 1603–16. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
 - Khandrika L, Kumar B, Koul S, Maroni P, Koul HK. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Lett*. 2009; 282 (2): 125–36. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.12.011.
 - Córdoba EE, Abba MC, Lacunza E, Fernández E, Güerci AM. Polymorphic variants in oxidative stress genes and acute toxicity in breast cancer patients receiving radiotherapy. *Cancer Res Treat*. 2016; 48 (3): 948–54. DOI: 10.4143/crt.2015.360.
 - Burri RJ, Stock RG, Cesaretti JA, Atencio DP, Peters S, Peters CA, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in SOD2, XRCC1 and XRCC3 with susceptibility for the development of adverse effects resulting from radiotherapy for prostate cancer. *Radiat Res*. 2008; 170 (1): 49–59. DOI: 10.1667/RR1219.1.
 - Bastaki M, Huen K, Manzanillo P, Chande N, Chen C, Balmes JR, et al. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16 (4): 279–86. DOI: 10.1097/01.fpc.0000199498.08725.9c.
 - Sutton A, Imbert A, Igojdil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15 (5): 311–9. DOI: 10.1097/01213011-200505000-00006.
 - Zhao Y, Wang H, Zhou J, Shao Q. Glutathione peroxidase GPX1 and its dichotomous roles in cancer. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (10): 2560. DOI: 10.3390/cancers14102560.
 - Chen J, Cao Q, Qin C, Shao P, Wu Y, Wang M, et al. GPx-1 polymorphism (rs1050450) contributes to tumor susceptibility: evidence from meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011; 137 (10): 1553–61. DOI: 10.1007/s00432-011-1033-x.
 - Tupurani MA, Padala C, Puranam K, Galimudi RK, Kupsal K, Shyamala N, et al. Association of CYBA gene (-930 A/G and 242 C/T) polymorphisms with oxidative stress in breast cancer: a case-control study. *PeerJ*. 2018; (6): e5509. DOI: 10.7717/peerj.5509.

References

- Buonanno M, de Toledo SM, Pain D, Azzam EI. Long-term consequences of radiation-induced bystander effects depend on radiation quality and dose and correlate with oxidative stress. *Radiat Res*. 2011; 175 (4): 405–15. DOI: 10.1667/RR2461.1.
- Sage E, Shikazono N. Radiation-induced clustered DNA lesions: repair and mutagenesis. *Free Radic Biol Med*. 2017; (107): 125–35. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.008.
- Abd El Azeem RA, Zedan MM, Saad EA, Mutawi TM, Attia ZR. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of antioxidant enzymes SOD2 and GSTP1 genes and SLE risk and severity in an Egyptian pediatric population. *Clin Biochem*. 2021; (88): 37–42. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2020.11.010.
- Nikic P, Dragicevic D, Jerotic D, Savic S, Djukic T, Stankovic B, et al. Polymorphisms of antioxidant enzymes SOD2 (rs4880) and GPX1 (rs1050450) are associated with bladder cancer risk or its aggressiveness. *Medicina (Kaunas)*. 2023; 59 (1): 131. DOI: 10.3390/medicina59010131.
- Nawab SN, Zehra S, Fawwad A, Azhar A. A study on catalase gene promoter polymorphism-21 A/T (rs7943316) in healthy Pakistani population. *Pak J Med Sci*. 2017; 33 (6): 1521–4. DOI: 10.12669/pjms.336.13188.
- Taioli E, Benhamou S, Bouchardy C, Cascorbi I, Cajas-Salazar N, Dally H, et al. Myeloperoxidase G-463A polymorphism and lung cancer: a HuGE genetic susceptibility to environmental carcinogens pooled analysis. *Genet Med*. 2007; 9 (2): 67–73. DOI: 10.1097/gim.0b013e31803068b1.
- Kumar R, Kohli S, Ali Z, Duhan K, Ram R, Gupta M, et al. CYBA (p22phox) variants associate with blood pressure and oxidative stress markers in hypertension: a replication study in populations of diverse altitudes. *Hypertens Res*. 2015; 38 (7): 498–506. DOI: 10.1038/hr.2015.31.
- Akleev AV, Kiselev MF, redaktory. Mediko-biologicheskie i jekologicheskie posledstvija radioaktivnogo zagrjaznenija reki Techa. M.: Vtoraja tipografija FU "Medbiojkestrem", 2001; 531 p. Russian.
- Degteva MO, Nape BA, Tolstyh EI, Shishkina EA, Bugrov NG, Krestinina LJu, et al. Raspredelenie individual'nyh doz v kogorte ljudej, oblučennyh v rezul'tate radioaktivnogo zagrjaznenija reki Tечи. Medicinskaja radiologija i radiacionnaja bezopasnost'. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475. Russian.
- Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. *Bioinformatics*. 2003; 19 (3): 376–82. DOI: 10.1093/bioinformatics/btf869.
- Burmistrova AL, redaktor. Metaorganizm. Stress i adaptacija. Cheljabinsk: Cheljabinskij gosudarstvennyj universitet, 2019; 239 p. Russian.
- Đuračková Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010; 59 (4): 459–69. DOI: 10.33549/physiolres.931844.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010; 49 (11): 1603–16. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
- Khandrika L, Kumar B, Koul S, Maroni P, Koul HK. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Lett*. 2009; 282 (2): 125–36. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.12.011.
- Córdoba EE, Abba MC, Lacunza E, Fernández E, Güerci AM. Polymorphic variants in oxidative stress genes and acute toxicity in breast cancer patients receiving radiotherapy. *Cancer Res Treat*. 2016; 48 (3): 948–54. DOI: 10.4143/crt.2015.360.
- Burri RJ, Stock RG, Cesaretti JA, Atencio DP, Peters S, Peters CA, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in SOD2, XRCC1 and XRCC3 with susceptibility for the development of adverse effects resulting from radiotherapy for prostate cancer. *Radiat Res*. 2008; 170 (1): 49–59. DOI: 10.1667/RR1219.1.
- Bastaki M, Huen K, Manzanillo P, Chande N, Chen C, Balmes JR, et al. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. *Pharmacogenet Genomics*. 2006; 16 (4): 279–86. DOI: 10.1097/01.fpc.0000199498.08725.9c.
- Sutton A, Imbert A, Igojdil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15 (5): 311–9. DOI: 10.1097/01213011-200505000-00006.
- Zhao Y, Wang H, Zhou J, Shao Q. Glutathione peroxidase GPX1 and its dichotomous roles in cancer. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (10): 2560. DOI: 10.3390/cancers14102560.
- Chen J, Cao Q, Qin C, Shao P, Wu Y, Wang M, et al. GPx-1 polymorphism (rs1050450) contributes to tumor susceptibility: evidence from meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011; 137 (10): 1553–61. DOI: 10.1007/s00432-011-1033-x.
- Tupurani MA, Padala C, Puranam K, Galimudi RK, Kupsal K, Shyamala N, et al. Association of CYBA gene (-930 A/G and 242 C/T) polymorphisms with oxidative stress in breast cancer: a case-control study. *PeerJ*. 2018; (6): e5509. DOI: 10.7717/peerj.5509.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ СТАРЕНИЯ У ЖИТЕЛЕЙ ПРИБРЕЖНЫХ СЕЛ РЕКИ ТЕЧА

Ю. Р. Ахмадуллина^{1,2}✉, А. В. Возилова¹, Я. В. Кривошапова¹

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Исследование влияния хронического низкоинтенсивного облучения на старение клеток иммунной системы имеет важное значение для понимания последствий воздействия облучения на здоровье человека и разработки мер минимизации негативных эффектов. Целью работы было исследовать влияние хронического низкоинтенсивного облучения человека на старение клеток иммунной системы с использованием цитогенетических маркеров. В работе оценили маркеры старения — нестабильность генома и истощение теломер в Т-лимфоцитах у облученных людей на Южном Урале (дозы облучения от 0,001 до 4,7 Гр, возраст — от 40 лет до 89 лет). Анализ данных показал, что хроническое воздействие повлияло на старение Т-клеток опосредованно. Частота нестабильных хромосомных aberrаций у облученных лиц была статистически выше в 40–59 лет ($p = 0,012$). Частота лимфоцитов с микроядрами у облученных лиц наиболее различалась у мужчин и женщин ($p = 0,001$). Выявили статистически значимое снижение показателей длины теломер у облученных лиц (для хромосомных плеч 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0,05$); 19p, 21q ($p < 0,01$)).

Ключевые слова: маркеры клеточного старения, ионизирующая радиация, нестабильные хромосомные aberrации, микроядра, река Теча, теломерные районы хромосом

Финансирование: государственное задание ФМБА РФ на выполнение прикладной научно-исследовательской работы по теме: «Изучение влияния хронического низкоинтенсивного облучения на преждевременное старение клеток иммунной системы человека».

Благодарности: авторы выражают благодарность старшему лаборанту Н. Ф. Савковой за техническую и лабораторную поддержку.

Вклад авторов: Ю. Р. Ахмадуллина — разработка критериев анализа, окраска и анализ стекол для раздела про микроядра, статистика, анализ литературы, написание статьи; А. В. Возилова — идея исследования, постановка научных задач, анализ литературы, окраска и анализ цитогенетических препаратов для раздела про НХА, статистика, написание статьи; Я. В. Кривошапова — разработка критериев анализа, окраска и анализ стекол для раздела про теломерные участки хромосом, статистика, анализ литературы, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 1 от 22 января 2024 г.). У лиц, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и дальнейшие исследования.

✉ **Для корреспонденции:** Юлия Рафисовна Ахмадуллина
ул. Воровского, д. 68А, г. Челябинск, 454141, Россия; akhmadullina.yul@yandex.ru

Статья получена: 02.04.2024 **Статья принята к печати:** 31.05.2024 **Опубликована онлайн:** 19.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.018

THE EFFECT OF CHRONIC EXPOSURE ON THE PARAMETERS OF CYTOGENETIC MARKERS OF SENESCENCE IN THE RESIDENTS OF THE TECHA RIVERSIDE SETTLEMENTS

Akhmadullina YuR^{1,2}✉, Vozilova AV¹, Krivoshchapova YV¹

¹ Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

The understanding of the exposure effects on the human health could be improved by analyzing the influence of the chronic low dose rate exposure on the senescence of the immune system cells. It will also help to develop the measures aimed at the mitigation of the adverse effects. The objective of the study is to investigate the influence of the chronic low dose rate exposure on the senescence of the immune system cells using the cytogenetic markers. In the course of the research the authors evaluated the cellular senescence markers — genome instability and telomere depletion — in T-lymphocytes of the individuals exposed in the Southern Urals (exposure doses were 0.001 Gy — 4.7 Gy, the age of examined people was 40–89 years). The data analysis has demonstrated that the effect of chronic exposure on the T-cell senescence was indirect. Unstable chromosome aberrations occurred statistically significantly more frequently in exposed people aged 40–59 years ($p = 0.012$). Frequency of lymphocytes with micronuclei in exposed individuals differed in men and women ($p = 0.001$). Statistically significant decrease in the telomere length was revealed (for the chromosome arms 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0.05$); 19p, 21q ($p < 0.01$)).

Keywords: markers of cellular senescence, ionizing radiation, unstable chromosome aberrations, micronuclei, the Techa River, telomeres

Funding: the study was supported by the RSF grant (project № 22-25-20145 “Exploring the Mechanisms Underlying the Effects of Tolerance to Food Antigens on the Glucose Utilization”).

Acknowledgments: the authors would like to express their gratitude to Savkova N.F., senior laboratory assistant, for technical and laboratory support.

Author contributions: Akhmadullina YR — developing the criteria of the analysis, slide staining and assessment for the manuscript section on micronuclei, statistical analysis, literature review, manuscript writing; Vozilova AV — study conception and design, research priority setting, literature review, staining and analysis of cytogenetic slides for the manuscript section on unstable chromosome aberration, statistical analysis, manuscript writing; Krivoshchapova YaV — developing the criteria of the analysis, slide staining and assessment for the manuscript section on the telomere regions of the chromosomes, statistical analysis, literature review, manuscript writing.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (protocol No. 1 dated 22 January 2024); individuals who underwent cytogenetic examinations gave the informed consent to blood sampling and further assessment.

✉ **Correspondence should be addressed:** Yulia Rafisovna Akhmadullina
Vorovskogo, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; akhmadullina.yul@yandex.ru

Received: 02.04.2024 **Accepted:** 31.05.2024 **Published online:** 19.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.018

В УНПЦ РМ ФМБА России более 60 лет обследуют людей, которые подверглись хроническому облучению в результате сброса жидких радиоактивных отходов (ЖРО) в реку Течу на Южном Урале. Особенность воздействия состояла в том, что облучение было сочетанным — как внутренним за счет поступления и накопления в организме радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$, так и внешним за счет γ -облучения от речной воды. Критическим органом был красный костный мозг (ККМ), где клетки-предшественники гемопоэза подвергались воздействию в широком диапазоне доз. Поскольку сбросы ЖРО в реку Течу начались с 1948 г., а максимальные мощности наблюдали в 1951–1952 гг., то дозы облучения были сформированы к 1960 г., но хроническое внутреннее облучение в малых дозах продолжается и в настоящее время. Следовательно, самые младшие из облученных лиц старше 60 лет, что делает возможным исследовать влияние ионизирующего облучения на старение человека [1].

Организм человека — сложная многоуровневая система, имеющая свою программу онтогенеза, за реализацию которой отвечают группы генов и многочисленные пути взаимодействия и взаимовлияния их продуктов. Важный этап онтогенеза — старение организма. В силу существенного нарастания среди населения планеты доли людей старшего возраста (более 60 лет) большой интерес ученых и медиков состоит в изучении механизмов естественного старения человека, факторов, вызывающих преждевременное старение, и механизмов, способных отложить или замедлить во времени его реализацию [2].

Безусловно, кроме естественных процессов на старение организма влияют условия окружающей среды. В результате активного использования источников ИИ для медицинских и диагностических процедур возник вопрос о возможном влиянии радиации на преждевременное старение [3, 4].

Изучение любого процесса основано на выявлении маркеров, которые обладают качественными или количественными признаками. К общепринятым маркерам старения относят: геномную нестабильность, истощение теломерных районов, эпигенетические повреждения генома, изменения протеостатуса клеток, нарушение контроля за питательными веществами, митохондриальные дисфункции, истощение пула стволовых клеток, нарушение внутриклеточных взаимодействий [3, 5].

В нашей работе мы оценили состояние хроматина ядерной ДНК в стимулированных фитогемагглютинином (ФГА) Т-лимфоцитах периферической крови облученных людей. Отобранные нами показатели отражают два вышеперечисленных маркера старения — нестабильность генома (частота нестабильных хромосомных aberrаций и частота клеток с микроядрами) и истощение теломер (оценка длины теломерных районов хромосом).

К нестабильным хромосомным aberrациям (НХА) относят перестройки в виде дицентрических и кольцевых хромосом, ацентрических колец. Многочисленные исследования подтвердили зависимость НХА от возраста человека, поскольку с возрастом увеличивается число ошибок репарации и клеток с НХА соответственно [6–9].

Анализ частоты цитокин-блокированных Т-лимфоцитов с микроядрами (МЯ) служит дополнительным инструментом для косвенной оценки хромосомных аномалий и применяется в условиях воздействия разных генотоксических факторов окружающей среды. Микроядро — это структура, содержащая хроматин, который образуется либо из нерепарируемых разрывов

ДНК, либо в результате неправильной сегрегации сестринских хроматид одной или нескольких хромосом. Как показывают исследования, частота спонтанных МЯ увеличивается с возрастом [10].

Показатель длины теломерных районов хромосом или «биологические часы» клетки также является маркером клеточного старения. Постепенное истощение теломер хромосом при делении клеточной линии приводит к тому, что дочерние клетки утрачивают способность делиться и погибают (лимит Хейфлика). Феномен укорочения длины теломерных районов в клетках организма с возрастом человека составил основу методики определения его биологического возраста [11, 12].

Таким образом, для оценки влияния хронического облучения на старение ДНК стимулированных ФГА Т-лимфоцитов человека нами были выбраны цитогенетические методики, которые позволяют оценить состояние хромосомной ДНК клеток иммунной системы, предшественники которых начали облучаться еще в ККМ более 50 лет назад, и это облучение продолжается в настоящее время.

Цель работы — исследование влияния хронического низкоинтенсивного облучения человека на старение клеток иммунной системы с использованием цитогенетических маркеров.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: сформировать одинаковые разновозрастные подгруппы среди облученных и необлученных лиц, проанализировать показатели нестабильности генома в каждой возрастной подгруппе и сравнить эти показатели между собой. Оценить возрастную динамику хромосомных aberrаций в возрастных подгруппах у облученных и необлученных лиц (оценка нестабильности ядерной ДНК).

Характеристика обследованных лиц

Объектом исследования были люди, подвергшиеся хроническому сочетанному облучению на Южном Урале (далее «доноры»). Предметом исследования был ядерный хроматин ФГА стимулированных Т-лимфоцитов периферической крови.

В исследование включали лиц с суммарными дозами от внешнего и внутреннего облучения от 0,001 до 4,7 Гр на красный костный мозг (ККМ), рассчитанными по TRDS-2016, до 1959 г. рождения включительно [13]. Это были лица обоих полов, в основном трех национальностей — русские, татары и башкиры.

Для обследования также были включены лица, проживавшие в сходных социально-экономических условиях на Южном Урале, но аварийному облучению не подвергавшиеся («группа сравнения»). Для исследования длины теломерных районов хромосом группу сравнения составили лица из когорты р. Течи, у которых дозы на ККМ не превышали 0,01 Гр.

Согласно цитогенетическим критериям выбора доноров, из исследования исключали лиц, у которых имелись в анамнезе аутоиммунные и онкологические заболевания, а также хронические воспалительные заболевания в фазе обострения. Исключали также лиц, принимающих цитостатики и антибиотики.

Информация о состоянии здоровья облученных лиц была предоставлена отделом «База данных «Человек»»,

Таблица 1. Характеристика обследованных и результаты оценки частоты (%) нестабильных хромосомных aberrаций в обследуемых группах (медиана, 25% и 75%)

Возрастные подгруппы, лет	Группа сравнения	Облученные лица		
		0,001–4 Гр	0,001–0,2 Гр	0,3–4 Гр
40–59	0 $n = 17$	0 0–0,27 $p = 0,012$ $n = 100$	0 0–0,4 $p = 0,002$ $n = 39$	0 $p = 0,04$ $n = 61$
60–69	0 $p_1 = 0,064$ $n = 44$	0 0–0,26 $n = 285$	0 0–0,133 $n = 58$	0 0–0,2 $n = 227$
70–89	0 0–0,62 $p_2 = 0,023$ $n = 22$	0 0–0,22 $n = 185$	0 0–0,18 $n = 43$	0 0–0,255 $n = 142$
Все обследуемые	0 $n = 83$	0 0–0,20 $p = 0,04$ $n = 570$		

Примечание: n — число обследованных лиц; p — статистические отличия показателей с группой сравнения в одной возрастной группе; p_1 — статистические отличия показателей между возрастными группами «40–59 лет» и «60–69 лет»; p_2 — статистические отличия показателей между возрастными группами «40–59 лет» и «70–89 лет».

индивидуальные дозы облучения были рассчитаны в биофизической лаборатории, информация о наличии онкопатологии в анамнезе обследуемых лиц была предоставлена эпидемиологической лабораторией (УНПЦ РМ).

Изучение частоты НХА

Для выполнения исследований по оценке частоты НХА сформировали две группы доноров: группу сравнения составили 83 человека, в группу облученных лиц вошло 570 человек с дозами на ККМ от 0,001 до 4 Гр. Возраст людей, которых обследовали, располагался в ряду от 40 до 89 лет. Группу облученных лиц разбили на две подгруппы: первую составили лица с дозами от 0,001 до 0,2 Гр включительно, а вторая подгруппа включала лиц с дозами от 0,3 до 4 Гр. Группы облученных и необлученных лиц были ранжированы по возрасту на момент обследования. Было выделено три возрастных периода — в группе сравнения от 40 до 59 лет, от 60 до 69 лет, и старшая группа — от 70 до 89 лет (табл. 1). Зависимости частоты НХА от пола в наших ранних исследованиях не было выявлено, поэтому группы были смешанные, большинство обследованных были женщины (до 70%).

Изучение частоты клеток с МЯ

Характеристика обследованных групп представлена в табл. 2. Всего в группу сравнения вошли 113 женщин

Таблица 2. Характеристика людей, обследованных с применением МЯ теста

Возрастные группы, лет	Женщины		Мужчины	
	Группа сравнения	Облученные	Группа сравнения	Облученные
	Возраст, лет число человек	Возраст, лет число человек. доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек	Возраст, лет число человек доза на ККМ, Гр
50–59	57 $n = 23$	57 $n = 45$ 0,002–2,9	56 $n = 8$	56 $n = 22$ 0,007–1,0
60–69	65 $n = 45$	65 $n = 177$ 0,004–3,7	65 $n = 20$	65 $n = 125$ 0,004–2,2
70–89	74 $n = 45$	75 $n = 132$ 0,001–4,0	75 $n = 16$	73 $n = 72$ 0,02–2,1

и 44 мужчины. Возраст обследованных лиц располагался в ряду от 52 до 82 лет. Во всех возрастных периодах в группах преобладали женщины. Группа облученных лиц состояла из 573 человек, из них было 354 женщины и 219 мужчин. Возраст обследованных располагался в ряду от 50 до 89 лет. Кумулятивные дозы облучения ККМ находились в диапазоне от 0,001 до 4 Гр.

Было также проведено пилотное исследование на предмет включения в состав микроядра хроматина X-хромосомы. Это исследование проводили у 6 облученных женщин в возрасте от 73 до 82 лет, с дозами на ККМ от 0,73 до 1,93 Гр. В группу сравнения вошли две необлученные женщины в возрасте 63 и 65 лет.

Оценка длины теломерных районов хромосом

Для выполнения исследований по оценке длины теломерных районов сформировали две группы доноров: группу сравнения составили 27 человек с дозами на ККМ от 0 до 0,01 Гр, из них 23 человека имели дозы от 0,0001 до 0,01 Гр, а 4 человека аварийному облучению вообще не подвергались. В группу облученных лиц вошло 26 человек с дозами на ККМ от 0,6 до 4,7 Гр. Возраст обследованных лиц составил от 61 до 84 лет. Характеристика обследованных доноров представлена в табл. 3.

Для анализа влияния пола на длину теломер группы были выравнены по количеству обследованных лиц и их возрасту. В группу «Женщины» вошли 11 доноров в

Таблица 3. Характеристика доноров, у которых исследовали длину теломерных районов

Возраст, лет	Женщины		Мужчины	
	Группа сравнения	Облученные	Группа сравнения	Облученные
	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр	Возраст, лет число человек, доза на ККМ, Гр
61–84	62–80 n = 20 0–0,01	70–84 n = 22 0,6–4,7	61–72 n = 7 0–0,01	71–76 n = 4 0,6–1,35

возрасте от 61 до 73 лет с дозой облучения на ККМ от 0 до 1,4 Гр. Группа «Мужчины» состояла из 11 доноров, возраст от 61 до 72 лет, доза облучения на ККМ от 0 до 1,4 Гр.

Исходя из того что нерадиационный фактор «пол» может оказывать влияние на показатель относительной длины теломер, для выполнения исследований по оценке влияния облучения на показатель относительной длины теломерных районов сформировали две группы доноров женского пола: группу сравнения составили 20 человек с дозами на ККМ от 0 до 0,01 Гр, из них 18 женщин имели дозы от 0,0001 до 0,01 Гр, а двое аварийному облучению вообще не подвергались. Возраст доноров — от 62 до 80 лет. В группу подвергшихся облучению лиц вошло 22 женщины с дозами на ККМ от 0,6 до 4,7 Гр. Возраст на момент обследования — от 70 до 84 лет.

Получение препаратов метафазных хромосом

Приготовление и окрашивание препаратов хромосом

Цитогенетические препараты из ФГА стимулированных Т-лимфоцитов периферической крови доноров получали согласно протоколу, который включает четыре последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы (52 ч, за 3 ч вводили колцемид в итоговой концентрации 0,1 мг/мл), гипотоническую обработку метафазных клеток (за 1 ч до фиксации), фиксацию метафазных пластинок (3 части этанол медицинский, 95%:1 часть — ледяная уксусная кислота) и получение препаратов хромосом. Метафазные хромосомы окрашивали 2% раствором Гимза в течение 10 мин, затем краску смывали и стекла сушили при комнатной температуре [14].

Анализ препаратов осуществляли при световой микроскопии, без кариотипирования на микроскопах Axiolmager A2, Z2. В анализ включали клетки с 46 хромосомами, без наложений или максимум с 1–2 наложениями, отмечали дицентрические и кольцевые хромосомы, ацентрические кольца. На каждого обследуемого человека анализировали от 100 до 500 клеток.

Получение препаратов двуядерных лимфоцитов для обнаружения микроядер

Протокол методики МЯ теста включал несколько этапов: культивирование ФГА-стимулированных Т-лимфоцитов периферической крови, блокирование цитокинеза, гипотоническую обработку, фиксацию суспензии клеток, приготовление цитогенетических препаратов [15]. Окрашивали препараты 1%-м раствором Гимза в течение 20 мин. Анализ препаратов осуществляли при световой микроскопии на микроскопе Axiolmager A2. На каждого донора анализировали по 1000 двуядерных клеток.

Изучение хромосомного состава микроядер производили методом локуспецифичной флуоресцентной *in situ*

гибридизации. Использовали флуоресцентные зонды для центромерного района X-хромосомы (cenX) (Metasystems; Германия). Флуоресцентное окрашивание проводили в соответствии с протоколом производителя, который обязательно включает денатурацию ДНК препарата и зонда, гибридизацию в течение суток при 37 °С, постгибридизационную отмывку несвязанных зондов. Для контр-окрашивания хроматина на препарат наносили 15 мкл DAPI antifade (Metasystems; Германия). Накрывали покровным стеклом и хранили при –20 °С. Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили с помощью флуоресцентного микроскопа Axiolmager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами для распознавания флуоресцентной окраски, а также с программным модулем Isis Metasystems для обработки флуоресцентных изображений. При анализе центромерных сигналов X-хромосомы (cen X) отмечали их наличие и количество в микроядре. Микроядра с одним и более центромерными сигналами считали центромеро-положительными (cen X+), микроядра без центромерных сигналов считали центромеро-отрицательными (cen X–).

Выявление теломерных районов метафазных хромосом

Препараты с метафазными пластинками получали по протоколу, описанному для оценки НХА. Для флуоресцентного окрашивания методом Q-FISH стекла очищали от цитоплазмы RNA-азой (100 нг/мл в 2xSSC) и пепсином, затем проводили денатурацию ДНК зонда и препарата. Гибридизация проходила в соответствии с протоколом производителя, к которому прилагались оригинальные растворы. Для оценки длины теломерных районов хромосом использовали зонды (DAKO; Дания), реперным сигналом служил центромерный район хромосомы #2 (Metasystems; Германия).

Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на флуоресцентном микроскопе Axiolmager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами DAPI и SpO (spectrum orange). Анализировали 30 полных клеток на одного обследуемого. Измерения теломер проводили с использованием теломерного модуля программы Isis. Результат выражали в процентах отношения длины теломерного (T) сигнала к длине центромерного (C) — (%T/C). Подробно метод оценки длины теломерных районов описан в работе [16].

В результатах представлена длина теломерных районов для метацентрических (#1, #3, #19, #20) и для акроцентрических хромосом (#13, #14, #15, #21, #22).

При выполнении работы основной акцент был сделан на исследование относительной длины теломерных районов в метацентрических и акроцентрических хромосомах как наиболее различных по коэффициенту отношения хромосомных плеч и по длине хромосом в целом. Сравнили также хромосомы разного размера внутри метацентрических и акроцентрических групп.

У метацентрических хромосом самая крупная хромосома #1 содержит примерно 8% от всего ДНК-материала клетки. Самая маленькая метацентрическая хромосома #20 содержит около 2,5% всей ДНК клетки. В группу акроцентриков входят #13, #14, #15 хромосомы — каждая из которых содержит примерно от 3,5 до 4%, и самые маленькие акроцентрики — #21 #22 хромосомы, которые содержат от 1,5 до 2% всей ДНК клетки [17].

Статистические методы исследования

Проверку нормальности распределения данных проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Для обработки результатов использовали общепринятые методы вариационной статистики с вычислением медианы и 25 и 75 перцентилей. Сравнение значений в группах осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Для определения связи между частотой НХА, возрастом и дозой облучения были рассчитаны линейные регрессионные уравнения.

Для определения связи между частотой лимфоцитов с микроядрами с возрастом использовали коэффициент корреляции Спирмена. Для оценки влияния комплекса факторов на частоту лимфоцитов с МЯ у исследованных лиц была применена одномерная общая линейная модель. Частоту микроядер с центромерными сигналами X хромосомы рассчитывали как процент от всех микроядер. Анализ проводили с помощью критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета прикладных программ Sigmaplot (SYSTAT Software; США), STATISTICA, версия 10.0 (StatSoft; США) и PAST версия 4.03 (Oyvind Hammer; Великобритания).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование частоты НХА

При сравнении показателей между облученными и необлученными лицами выявили достоверное превышение клеток с обменными нестабильными хромосомными абберациями у облученных лиц, $p = 0,04$ (табл. 1). Была выявлена слабая линейная корреляционная зависимость исследуемых показателей от дозы облучения костного мозга в объединенной группе облученных лиц ($R = 0,125$, $p = 0,005$).

В группе сравнения с увеличением возраста происходит небольшой рост исследуемого показателя (среднее — 0, 0,18 и 0,30 на 100 клеток, соответственно). Частота хромосомных аббераций у необлученных лиц в обеих старших возрастных подгруппах увеличена при сравнении с подгруппой «40–59 лет» ($p_1 = 0,06$, $p_2 = 0,02$). Несмотря на рост частоты обменов в старшей подгруппе «70–79 лет», различия с подгруппой «60–69 лет» статистически не значимы.

Что касается облученных лиц — с возрастом увеличения исследуемого показателя не отметили. Напротив, хромосомные нестабильные абберации во всех трех возрастных подгруппах встречались с одинаковой частотой ($p_1 = 0,69$, $p_2 = 0,37$), что подтвердило и отсутствие линейной корреляции ($R = 0,0002$, $p = 0,76$).

При сравнении частоты обменных аббераций в подгруппах между контролем и облученными лицами

выявлено достоверное превышение показателей у лиц, подвергшихся радиационному воздействию только у младшей возрастной подгруппе — «40–59 лет» ($p = 0,038$). Выше показатели были у облученных лиц в возрасте 60–69 лет (но статистически не значимо), а в более старшем возрасте частота клеток с хромосомными абберациями в этих группах была одинаковой.

При построении линейной регрессии слабая тенденция зависимости частоты НХА от возраста была отмечена для группы сравнения (уравнение 1), для группы облученных лиц линейной зависимости частоты НХА от возраста не отметили (уравнение 2). Слабая зависимость была отмечена для частоты НХА от дозы облучения ККМ (уравнение 3), что также согласуется с литературными данными [1, 18].

$$\text{НХА} = 0,013\text{В} - 0,670 \quad (R = 0,242 \quad p = 0,04) \quad (1)$$

$$\text{НХА} = 1,56 \times 10^{-6}\text{В} + 0,241 \quad (R = 0,0002 \quad p = 0,76) \quad (2)$$

$$\text{НХА} = 0,109\text{Д} + 0,152 \quad (R = 0,126 \quad P = 0,005), \quad (3)$$

где НХА — частота % обменных аббераций; В — возраст, полных лет; Д — доза на ККМ, Гр.

Изучение частоты клеток с микроядрами

По данным, представленным в табл. 4, видно, что у облученных женщин в возрасте 50–59 лет частота лимфоцитов с МЯ составила 15%, в 60–69 лет — 16%, в 70–79 лет — 18%, а в возрасте 80–89 лет — 20%. Статистически значимых различий с группой сравнения обнаружено не было.

При изучении частоты лимфоцитов с МЯ в дозовых группах облученных женщин не было отмечено значимых различий с группой сравнения и между собой.

По данным, представленным в табл. 5, видно, что у облученных мужчин в возрасте 50–59 лет частота лимфоцитов с МЯ составила 11%, в 60–69 лет — 12% и в 70–79 лет частота лимфоцитов с МЯ составляет 15%, что не отличается от группы необлученных лиц. При рассмотрении частоты лимфоцитов с МЯ в дозовых группах облученных мужчин не было отмечено значимых различий с группой сравнения и между собой.

При изучении частоты лимфоцитов с МЯ в зависимости от пола в группах облученных лиц у женщин исследуемый показатель был статистически значимо выше, чем у мужчин. Так, в группе облученных лиц частота лимфоцитов с МЯ у женщин составила 18% (13–25%), а у мужчин 13% (10–19%), $p = 0,001$.

При оценке различий в частоте лимфоцитов с микроядрами между женщинами и мужчинами в разных возрастных периодах было отмечено, что у облученных лиц значимые отличия наблюдали в группе 60–69 и 70–79 лет ($p = 0,0001$ и $p = 0,033$ соответственно). В возрастном периоде 50–59 лет различия между женщинами и мужчинами были на уровне тенденции ($p = 0,119$).

Для изучения влияния совокупности факторов радиационной и нерадиационной природы был использован многофакторный анализ, результаты которого отражены в табл. 6. Как видно, наибольший вклад в частоту лимфоцитов с МЯ вносит пол исследуемых лиц. Зависимости частоты лимфоцитов с МЯ от дозы облучения ККМ обнаружено не было, $p = 0,599$. Зависимость частоты лимфоцитов с МЯ от возраста была на уровне тенденции, $p = 0,053$.

В табл. 7 представлены частоты микроядер, содержащие центромеры X-хромосом. Как видно из табл. 7, в группе облученных лиц 46,6% микроядер

Таблица 4. Частота лимфоцитов с микроядрами (%) в разновозрастных группах у облученных женщин (медиана, 25–75%, минимум–максимум)

Возрастные группы	Группа сравнения	Облученные лица		
		0,001–4Гр	0,001–0,2 Гр	0,3–4 Гр
50–59	15 9–21 (5–65)	15 11–20 (6–36)	12 10–18 (6–24)	16 14–24 (7–36)
60–69	17 12–26 (4–48)	16 12–22 (2–55)	15 11–19 (2–42)	16 12–25 (3–55)
70–79	16 10–22 (0–40)	18 13–23 (3–47)	19 15–25 4–42	17 12–23 (3–47)
80–89	15 11–21 (10–24)	20 17–25 (4–44)	20 18–27 (16–39)	20 15–23 (4–44)

Таблица 5. Частота лимфоцитов с микроядрами (%) в разновозрастных группах у облученных мужчин (медиана, 25–75%, минимум–максимум)

Возрастные группы	Группа сравнения	Облученные лица		
		0,001–4 Гр	0,001–0,2 Гр	0,3–4 Гр
50–59	15 8–20 (3–21)	11 9–18 (5–41)	11 8–20 (5–29)	12 10–22 (5–41)
60–69	13 11–19 (5–37)	12 8–19 (2–38)	15 11–22 (3–34)	12 8–18 (2–38)
70–79	15 10–18 (3–21)	15 11–19 (4–41)	16 11–19 (8–28)	15 11–19 (4–41)

содержали в себе центромеро-положительный хроматин X-хромосомы, что было статистически значимо выше, чем в группе сравнения — 31%, $\chi^2 = 4,78$, $p = 0,04$. Обнаружена межиндивидуальная вариация показателей у облученных женщин. Частота микроядер с центромерным сигналом X-хромосомы варьирует от 22,8% до 59%.

Индивидуальную вариабельность наблюдали и в частоте микроядер, содержащих разное количество центромер. Так, среди облученных лиц был донор, у которого центромеро-позитивные микроядра преимущественно содержали одну центромеру, три донора, у которых преимущественно в центромеро-положительных микроядрах было два сигнала. В группе сравнения у доноров центромеро-положительные микроядра содержали преимущественно только одну центромеру. Данные результаты показывают, что в исследуемых группах имеется нерасхождение или отставание X-хромосом в анафазе, вследствие чего, скорее всего, они элиминируются в микроядра.

Изучение длины теломерных районов хромосом

В табл. 8 представлена длина теломерных районов для метацентрических и акроцентрических хромосом у мужчин и женщин.

Как видно из табл. 8, у мужчин показатель относительной длины теломерных районов был достоверно выше, чем у женщин, для метацентрических (#1, #3, #19, #20) и акроцентрических хромосом (#13, #14, #15, #21, #22),

Таблица 6. Влияние радиационного фактора, возраста и пола на частоту лимфоцитов с микроядрами

Фактор	Параметры модели
Скорректированная модель	$F = 9,5$ $p = 0,0001$
Возраст	$F = 3,75$ $p = 0,053$
Доза ККМ	$F = 0,3$ $p = 0,599$
Пол	$F = 22,24$ $p = 0,0001$

различия с уровнем значимости $p < 0,05$ наблюдали для хромосомных плеч 1q, 3p, 20q, 13q, 15q, 21q.

В табл. 9 представлена медиана длины теломерных районов для метацентрических (#1, #3, #19, #20) и акроцентрических (#13, #14, #15, #21, #22) хромосом в группе сравнения и у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

Как видно из табл. 9, у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, показатель длины теломерных районов метацентрических хромосом был в целом ниже, чем в клетках людей из группы сравнения, значимые различия наблюдали для хромосомных плеч метацентрических хромосом 1q, 3p, 3q, 19p, 20p, 20q и в плечах акроцентрических хромосом 13q, 15p, 21q, 22q.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате сброса ЖРО в реку Течу более 100 тыс. жителей прибрежных сел оказались под воздействием хронического сочетанного облучения.

Поскольку в настоящее время регистрируют естественную убыль когорты облученных лиц и в то же время накоплена довольно большая база цитогенетических данных, было важно оценить, повлияло ли хроническое облучение на процессы старения на клеточном уровне. Для этой цели были выбраны разные цитогенетические методы, так как все они отражают состояние хромосомной ДНК в Т-клетках периферической крови. Для поставленной нами

Таблица 7. Частота микроядер с центромерными сигналами X-хромосомы, %

Номер донора	Клетки	Количество МЯ	Сеп X+, %	Один сигнал, %	Два сигнала, %	Три сигнала, %	Четыре сигнала, %	Сеп X-, %
1	2683	134	59	25,3	68,3	5,1	1,3	41
2	2234	70	40	28,6	71,4	–	–	60
3	1941	27	22,2	66,7	33,3	–	–	77,8
4	633	22	54,5	50	41,7	–	8,3	45,5
5	3191	55	49	37	55,6	7,4	–	51
6	1000	35	22,9	12,5	87,5	–	–	77,1
Итого «Облученные лица»		343	46,6	30,6	64,3	3,75	1,25	53,4
7	1667	46	32,6	73,4	13,3	–	13,3	67,4
8	3000	127	30,7	66,7	30,7	–	2,6	69,3
Итого «Группа сравнения»		173	31,2	68,5	26	–	5,5	68,8

цели важно было именно охарактеризовать состояние хроматина на разном уровне организации его структуры и поведения в клеточном цикле.

Анализ представленных в табл. 1 данных показывает, что НХА — события, достаточно редко встречающиеся в стимулированных Т-клетках жителей Южного Урала. Так, в группе сравнения в трех возрастных периодах от 40 до 89 лет около 60% обследованных лиц не имели клеток с НХА (исключение — обмены в старшей возрастной группе). Важно также отметить, что, согласно протоколам цитогенетического анализа, в основном в группе сравнения обменные аберрации были представлены дицентрическими хромосомами без парных фрагментов, и это доказывало, что клетки претерпели первый митоз *in vivo*. Только у старших доноров наблюдали вклад кольцевых хромосом и ацентрических фрагментов. Подобная ситуация для дицентриков без парных фрагментов была и у облученных лиц. Известно, что нестабильные аберрации, которые образовались при облучении гемопоэтических стволовых

клеток в костном мозге, со временем элиминируются вместе с клетками, их содержащими. Однако частота НХА у пострадавших лиц превышает таковую в группе сравнения в отдаленные сроки после начала воздействия. Очевидно, что большинство аберрантных клеток, которые мы регистрируем в отдаленные сроки от начала воздействия, облучились в костном мозге (их предшественники), вышли в кровяное русло, прошли дифференцировку в тимусе и пребывали в состоянии покоя до момента стимуляции ФГА в условиях *in vitro*.

Микроядра могут быть образованы как вследствие повреждений, связанных с нерепарированными разрывами хромосомной ДНК, так и в ходе нарушения сегрегации хромосом, что обусловлено изменением метилирования цитозина в центромерных районах хромосом, нарушениями в строении кинетохорных белков и микротрубочек и некоторыми другими событиями [19]. В результате анализа зависимости частоты клеток с МЯ от возраста у необлученных жителей Южного Урала было

Таблица 8. Длина теломерных районов (%T/C) в метацентрических и акроцентрических хромосомах в зависимости от пола (Медиана, 25% и 75%)

№ хромосомы	Плечо хромосомы	Мужчины, n = 11			Женщины, n = 11		
		Медиана	Процентиль		Медиана	Процентиль	
			25%	75%		25%	75%
1	p	21,7	11,1	44,3	19,1	10,1	37,6
	q	23,1*	9,8	42	16	8,8	33,6
3	p	21,4*	10,3	46,2	16,8	9,7	30,8
	q	16,4	8,2	40,8	14,8	7,6	29,4
19	p	13,7	7,7	34,1	12,7	6,6	24,7
	q	12,8	6,7	33,2	11,3	6,4	26
20	p	18,3	8,8	33	16,3	9,5	29,2
	q	15,4*	8,5	32,9	11,9	5,9	20,1
13	p	19	9,5	43,4	18,7	10,9	33,3
	q	19,3*	8,5	40,8	14	7,7	29,1
14	p	16,1	8,9	37,6	16,1	9,3	32,6
	q	17,6	8,5	35,3	14,5	7,1	30
15	p	15,3	8,3	32,3	18,1	9,1	35,1
	q	15,5*	6,9	31	11,9	6,4	23,4
21	p	15,1	7,6	39	16,7	8,5	36,1
	q	12,5*	6,5	32,2	11	5,1	27,1
22	p	16,7	8,4	41	15	7,8	32
	q	13,3	6	32,4	12,3	5,9	26

Примечание: * — статистически значимое отличие показателей по полу, $p < 0,05$.

Таблица 9. Медиана теломерных районов (%T/C) в метацентрических и акроцентрических хромосомах у женщин, в группе сравнения и подвергшихся облучению (Медиана, 25% и 75%)

№ хромосомы	Плечо хромосомы	Группа сравнения, n = 20			Облученные лица, n = 22		
		Медиана	Процентиль		Медиана	Процентиль	
			25%	75%		25%	75%
1	p	17,3	7,2	36,6	16	7	35,7
	q	14,6**	6,3	31,2	13,3	5,9	28,8
3	p	16,0*	6,7	31,3	14	6	30,3
	q	12,7**	5,5	26,8	12,2	5,2	24,5
19	p	11,7**	4,7	24	10,5	4,4	22
	q	10,8	5	24,5	9,4	4,5	21,2
20	p	14,4*	7,6	27,6	13,6	7,6	25,8
	q	10,0*	4,7	22,7	9,9	4,5	19,9
13	p	16,7	7,9	32,5	16,6	8	31,1
	q	13,4*	5,5	30,2	12,5	5,2	27,6
14	p	17,1	8,7	32,1	15,5	8,3	30
	q	13,3	5,4	29,4	12	4,8	26,6
15	p	16,6*	7,6	31	15,7	7,5	28,9
	q	11,3	4,8	24	10,4	4,2	21
21	p	16	7,1	32,8	15,2	7	30,1
	q	10,1**	4,5	22,9	9,2	4	30,1
22	p	15	6,9	4,7	13,5	6,1	27,1
	q	10,6*	4,7	24,9	10,1	4,5	21,3

выявлено монотонное увеличение показателей у женщин и у мужчин до 69 лет [20]. После 70 лет данный показатель остается на этом же уровне или немного снижается. Подобные результаты, касающиеся частоты клеток с МЯ в возрастной группе от 60 до 69 лет, были получены и другими исследователями, которые показали, что частота МЯ достигает максимума в возрасте 50–69 лет, а затем выходит на плато [21–23].

В данной работе возраст обследованных нами облученных лиц, соответствующий достижению плато частоты МЯ, составил 50–89 лет. Поэтому, так же, как и у необлученных лиц, частота лимфоцитов с МЯ не ассоциируется с увеличением возраста в этом возрастном промежутке.

При исследовании влияния пола на частоту лимфоцитов с МЯ было показано, что у облученных женщин она статистически значимо выше, чем у мужчин, $p = 0,001$. Анализ сравнения частоты лимфоцитов с МЯ между мужчинами и женщинами в разных возрастных группах показал, что статистические отличия имеются в группе облученных лиц в возрасте 60–69 и 70–79 лет. Таким образом, мы наблюдаем, что различия в частоте МЯ у мужчин и женщин в группе облученных лиц более выражены, чем в группе необлученных. Как показывают исследования, различия в соотношении частоты МЯ между мужчинами и женщинами становятся наиболее выраженными у людей в возрасте 40 лет и старше [21]. Однако основные механизмы, приводящие к этому возрастному увеличению, не вполне ясны. В литературе имеются данные о том, что с возрастом у человека наиболее часто элиминируются в микроядра половые хромосомы. В нашей работе было отмечено, что частота микроядер с X-хромосомой довольно высокая — от 22 до 59% от общего числа микроядер. Кроме того, имеются микроядра как с одной центромерой X-хромосомы, так и с несколькими, что говорит о нерасхождении X-хромосом в анафазе митоза. Возможно, в нашем случае играет

определенную роль радиационный фактор, даже при отсутствии линейной зависимости частоты МЯ от дозы ККМ.

В одной работе исследовали хромосомный состав микроядер у облученных женщин методом mFISH [24]. Исследование также показало, что в составе микроядер часто встречается X-хромосома. В группе облученных женщин микроядра также в среднем состоят из большего количества хромосом, чем в группе сравнения. У облученных женщин на одно микроядро приходится в два раза выше хромосомных сигналов, чем в контроле ($p = 0,001$). При этом средняя частота микроядер на 1000 просчитанных двуядерных лимфоцитов у женщин двух групп не отличается. Эти результаты могут косвенно указывать на повышенную частоту хромосомных повреждений и их элиминацию из ядерного генома в микроядра. Механизмы образования микроядер были схожи в группе облученных женщин и в группе сравнения, но, тем не менее, у облученных женщин имеются особенности в образовании моно- и многоцветных микроядер. Таким образом, мы можем предполагать, что имеют место механизмы нарушения сегрегации половых хромосом и хромосом с абберациями.

В соответствии с полученными данными, относительная длина теломер у каждого донора варьирует в широком диапазоне. Теломеры по длине отличаются как в пределах одной клетки, так и в пределах одной хромосомной пары. Это соответствует результатам предыдущих исследований [16, 25] и литературным данным [26–28]. Наши результаты показали, что длина теломерного района не зависит от размера хромосомы или плеча, на котором она расположена [16]. В ходе исследования мы выявили зависимость длины теломерных участков хромосом от пола: у мужчин длина теломер в исследованных группах хромосом была достоверно выше, чем у женщин.

В данной работе при исследовании теломерных сигналов в метацентрических и акроцентрических хромосомах женщин, подвергшихся облучению, отметили достоверное

снижение показателя по сравнению с группой сравнения, значимые различия наблюдали для хромосомных плеч 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0,05$); 19p, 21q ($p < 0,01$). Эти результаты согласуются с литературными данными, в которых показано, что облучение в низких дозах вызывает укорочение теломер и эти изменения сохраняются даже через 20–70 лет после облучения [29, 30]. Интересно, что влияние ионизирующего излучения на длину теломер имеет двоякий эффект: в некоторых исследованиях показывают увеличение у облученных людей длины теломер, что связывают с повышенной экспрессией теломеразы (авторы связывают это с повышенным риском развития злокачественных новообразований), а если теломеры короткие, то с репликативным старением клеток [31, 32]. Кроме того, наши результаты могут свидетельствовать о том, что ионизирующее излучение в период максимального воздействия вызвало гибель иммунных клеток, что привело к компенсаторной пролиферации клеточных дифферонов в органах гемопоэза и, соответственно, к укорочению теломер.

Анализ полученных данных позволяет нам сделать вывод о том, что хроническое радиационное воздействие, имевшее место на Южном Урале, влияет на клеточное старение Т-клеток опосредованно как один из многих факторов. Возможно, что на результаты повлияли критерии отбора доноров для цитогенетического исследования, которые могут способствовать выбору наиболее радиоустойчивых доноров в группу облученных лиц. Так, согласно критериям отбора, в исследование включают лица без онкологических, аутоиммунных заболеваний, без сахарного диабета в анамнезе. Учитывая, что вышеперечисленные заболевания чаще начинают манифестироваться в старшем и пожилом возрасте, вполне возможно, что среди облученных людей радиочувствительные лица имели больше шансов

реализовать эффекты от воздействия облучения и, следовательно, при формировании групп доноров они попали под критерии исключения [20, 33].

Выводы

На основании проведенного цитогенетического исследования можно констатировать, что хроническое радиационное воздействие, имевшее место на Южном Урале, влияет на клеточное старение Т-лимфоцитов периферической крови опосредованно как один из факторов.

Частота нестабильных хромосомных аберраций у облученных лиц была статистически выше в группе «40–59 лет» ($p = 0,012$). Была выявлена слабая линейная корреляционная зависимость исследуемых показателей от дозы облучения костного мозга в объединенной группе облученных лиц ($R = 0,125$, $p = 0,005$).

Частота лимфоцитов с микроядрами у облученных лиц соответствовала группе сравнения. У облученных лиц отметили различия в частоте лимфоцитов с микроядрами у мужчин и женщин ($p = 0,001$). В составе микроядер облученных женщин от 22 до 59% была обнаружена X-хромосома. Зависимости частоты лимфоцитов с микроядрами от дозы облучения костного мозга обнаружено не было.

Выявили статистически значимое снижение показателей длины теломер у облученных лиц (для хромосомных плеч 1q, 3p, 3q, 20p, 20q, 13q, 15p, 22q ($p < 0,05$); 19p, 21q ($p < 0,01$)). В исследуемых группах у мужчин показатель относительной длины теломерных районов был достоверно выше, чем у женщин (для хромосомных плеч 1q, 3p, 20q, 13q, 15q, 21q).

Нельзя исключить, что критерии выбора возрастных доноров в отдаленные сроки от начала облучения для цитогенетического исследования способствуют включению в группу наиболее радиорезистентных облученных лиц, что может приводить к «парадоксальным» результатам.

Литература

1. Аклеев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. Челябинск: Книга, 2016; 400 с.
2. Aunan J, Watson MM, Hagland HR, et al. Molecular and biological hallmarks of ageing. *British Journal of Surgery*. 2016; 103 (2): 29–46.
3. Richardson R. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging*. 2009; 1 (11): 887–902.
4. Little MP, Brenner AV, Grant E J, et al. Age effects on radiation response: summary of a recent symposium and future perspectives. *International Journal of Radiation Biology*. 2022; 2: 1–11.
5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013; 153 (6): 1194–217.
6. Bauchinger M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. *Mutation Research*. 1995; 339: 177–89.
7. Любимова Н. Е., Воробцова И. Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных аберраций в лимфоцитах человека. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2007; 47 (1): 80–5.
8. Севаньяев А. В., Хвостунов И. К., Снигирёва Г. П. и др. Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2013; 53 (1): 5–24.
9. Sigurdson A, Hauptmann M, Bhatti P, et al. International study of factors affecting human chromosome translocations. *Mutation Research*. 2008; 652 (2): 112–21.
10. Fenech M, Bonassi S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 43–9.
11. Оловников А. М. Старение есть результат укорочения «дифферотены» в теломере из-за концевой недорепликации и недорепарации ДНК. *Известия АН СССР, Сер. биол.* 1992; 4: 641–3.
12. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiological Reviews*. 2008; 88 (2): 557–79.
13. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016 D code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures. *Health Physics*. 2019; 117 (4): 378–87.
14. IAEA. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna, Austria: IAEA, 2011; p. 229.
15. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007; 2 (5): 1084–104.
16. Кривошапова Я. В., Возилова А. В. Исследование длины теломерных районов хромосом в Т-лимфоцитах облученных лиц. *Вопросы радиационной безопасности*. 2022; 3 (107): 71–9.
17. King RC, Stansfield WD, Mulligan PK. *A Dictionary of genetics*. 7th ed. Oxford University Press, 2006; p. 608.
18. Пилинская М. А. Цитогенетические эффекты в соматических клетках лиц, пострадавших вследствие Чернобыльской

- катастрофы, как биомаркер действия ионизирующих излучений в малых дозах. *Международный журнал радиационной медицины*. 1999; 2: 60–6.
19. Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan A, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 125–32.
 20. Ахмадуллина Ю. Р. Изучение возрастной зависимости спонтанной частоты лимфоцитов с микроядрами у жителей Южного Урала. *Социально-экологические технологии*. 2021; 11 (2): 230–45.
 21. Fenech M, Neville S, Rinaldi J. Sex is an important variable affecting spontaneous micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutation Research*. 1994; 313: 203–7.
 22. Bolognesi C, Abbondandolo A, Barale R, et al. Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome aberrations, and micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiology*. 1997; 6 (4): 249–56.
 23. Jones KH, York TP, Juusola J, et al. Genetic and environmental influences on spontaneous micronuclei frequencies in children and adults: a twin study. *Mutagenesis*. 2011; 26 (6): 745–52.
 24. Ахмадуллина Ю. Р. Состав микроядер в Т-лимфоцитах у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022; 62 (6): 591–601.
 25. Возилова А. В., Кривошапова Я. В. Исследование частоты инверсий и комплексных транслокаций в Т-лимфоцитах у облученных жителей Южного Урала. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022; 62 (4): 408–15.
 26. Ning Y, Xu JF, Li Y, et al. Telomere length and the expression of natural telomeric genes in human fibroblasts. *Human Molecular Genetics*. 2003; 12 (11): 1329–36.
 27. Ferrucci L, Gonzalez-Freire M, Fabbri E, et al. Measuring biological aging in humans: A quest. *Aging Cell*. 2020; 19 (2): e13080.
 28. Shaffer LG, Tommerup N, editors. *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005) («ISCN 2005»)*. Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger, 2005; p. 132.
 29. Ilyenko I, Lyaskivska O, Bazyka D. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionizing radiation. *Exp Oncol*. 2011; 33 (4): 235–8.
 30. Lustig A, Shterev I, Geyer S, et al. Long term effects of radiation exposure on telomere lengths of leukocytes and its associated biomarkers among atomic-bomb survivors. *Oncotarget*. 2016; 7 (26): 38988.
 31. Reste J, Zvigule G, Zvagule T, et al. Telomere length in Chernobyl accident recovery workers in the late period after the disaster. *Journal of Radiation Research*. 2014; 55 (6): 1–12. DOI: 10.1093/jrr/rru060.
 32. Berardinelli F, Nierab D, et al. Telomere loss, not average telomere length, confers radiosensitivity to TK6-irradiated cells. *Mutation Research*. 2012; 740: 13–20.
 33. Возилова А. В. Оценка влияния хронического облучения на преждевременное старение Т-лимфоцитов человека на основе нестабильных хромосомных аберраций. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 2: 85–90.

References

1. Akleev AV, editor. *Posledstviya radioaktivnogo zagryazneniya reki Techa*. Chelyabinsk: Kniga, 2016; p. 400. Russian.
2. Aunan J, Watson MM, Hagland HR, et al. Molecular and biological hallmarks of ageing. *British Journal of Surgery*. 2016; 103 (2): 29–46.
3. Richardson R. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging*. 2009; 1 (11): 887–902.
4. Little MP, Brenner AV, Grant E J, et al. Age effects on radiation response: summary of a recent symposium and future perspectives. *International Journal of Radiation Biology*. 2022; 2: 1–11.
5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013; 153 (6): 1194–217.
6. Bauchinger M. Quantification of low-level radiation exposure by conventional chromosome aberration analysis. *Mutation Research*. 1995; 339: 177–89.
7. Lyubimova NE, Vorobtsova IE. The Effect of Age and Low-Dose Irradiation on the Chromosomal Aberration Frequency in Human Lymphocytes. *Radiation Biology. Radioecology*. 2007; 47 (1): 80–5. Russian.
8. Sevankaev AV, Khvostunov IK, Snigiryova GP, et al. Comparative Analysis of Cytogenetic Examination of Control Groups of Subjects Carried out in Different Russian Laboratories. *Radiation Biology. Radioecology*. 2013; 53 (1): 5–24. Russian.
9. Sigurdson A, Hauptmann M, Bhatti P, et al. International study of factors affecting human chromosome translocations. *Mutation Research*. 2008; 652 (2): 112–21.
10. Fenech M, Bonassi S. The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 43–9.
11. Olovnikov AM. Starenie est' rezul'tat ukorocheniya «differoteny» v telomere iz-za kontsevoy nedoreplikatsii i nedoreparatsii DNK. *Izvestiya AN SSSR, Ser. biol.* 1992; 4: 641–3. Russian.
12. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiological Reviews*. 2008; 88 (2): 557–79.
13. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016 D code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures. *Health Physics*. 2019; 117 (4): 378–87.
14. IAEA. *Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies*. Vienna, Austria: IAEA, 2011; p. 229.
15. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2007; 2 (5): 1084–104.
16. Krivoshchapova YaV, Voziлова AV. The study of the telomere length of the chromosomes in T-lymphocytes of the exposed individuals. *Radiation Safety Problems*. 2022; 3 (107): 71–9. Russian.
17. King RC, Stansfield WD, Mulligan PK. *A Dictionary of genetics*. 7th ed. Oxford University Press, 2006; p. 608.
18. Pilinskaya MA. Tsitogeneticheskie efekty v somaticheskikh kletkakh lits, postradavshikh vsledstvie Chernobyl'skoy katastrofy, kak biomarker deystviya ioniziruyushchikh izlucheniyy v malykh dozakh. *Mezhdunarodnyy zhurnal radiatsionnoy meditsiny*. 1999; 2: 60–6. Russian.
19. Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan A, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 2011; 26 (1): 125–32.
20. Akhmadullina YuR. Study of the age dependence of the spontaneous frequency of lymphocytes with micronuclei in residents of the South Urals. *Environment and Human: Ecological Studies*. 2021; 11 (2): 230–45. Russian.
21. Fenech M, Neville S, Rinaldi J. Sex is an important variable affecting spontaneous micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes. *Mutation Research*. 1994; 313: 203–7.
22. Bolognesi C, Abbondandolo A, Barale R, et al. Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome aberrations, and micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiology*. 1997; 6 (4): 249–56.
23. Jones KH, York TP, Juusola J, et al. Genetic and environmental influences on spontaneous micronuclei frequencies in children and adults: a twin study. *Mutagenesis*. 2011; 26 (6): 745–52.
24. Akhmadullina YuR. Sostav mikroyader v T-limfotsitakh u zhenshchin, podvergnutyykh khronicheskomu radiatsionnomu vozdeystviyu. *Radiation Biology. Radioecology*. 2022; 62 (6): 591–601. Russian.
25. Voziлова AV, Krivoshchapova YaV. Investigation of the Frequency of Inversions and Complex Translocations in T-Lymphocytes in Irradiated Residents of the Southern Urals. *Radiation Biology. Radioecology*. 2022; 62 (4): 408–15. Russian.
26. Ning Y, Xu JF, Li Y, et al. Telomere length and the expression of

- natural telomeric genes in human fibroblasts. *Human Molecular Genetics*. 2003; 12 (11): 1329–36.
27. Ferrucci L, Gonzalez-Freire M, Fabbri E, et al. Measuring biological aging in humans: A quest. *Aging Cell*. 2020; 19 (2): e13080.
 28. Shaffer LG, Tommerup N, editors. *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005) («ISCN 2005»)*. Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger, 2005; p. 132.
 29. Ilyenko I, Lyaskivska O, Bazyka D. Analysis of relative telomere length and apoptosis in humans exposed to ionising radiation. *Exp Oncol*. 2011; 33 (4): 235–8.
 30. Lustig A, Shterev I, Geyer S, et al. Long term effects of radiation exposure on telomere lengths of leukocytes and its associated biomarkers among atomic-bomb survivors. *Oncotarget*. 2016; 7 (26): 38988.
 31. Reste J, Zvigule G, Zvagule T, et al. Telomere length in Chernobyl accident recovery workers in the late period after the disaster. *Journal of Radiation Research*. 2014; 55 (6): 1–12. DOI: 10.1093/jrr/rru060.
 32. Berardinelli F, Neriab D, et al. Telomere loss, not average telomere length, confers radiosensitivity to TK6-irradiated cells. *Mutation Research*. 2012; 740: 13–20.
 33. Vozilova AV. Assessment of the effect of chronic exposure on premature aging of human T-lymphocytes based on unstable chromosome aberrations. *Extreme medicine*. 2023; 2: 85–90. Russian.

ОЦЕНКА ПРОТИВОРАДИАЦИОННОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕБНОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Т. Р. Гайнутдинов^{1,2,3} ✉, С. А. Рыжкин^{2,3,4,6}, Р. Ф. Шавалиев^{4,5}, К. Н. Вагин^{1,2}, Я. М. Курбангалеев¹, Ф. Х. Калимуллин¹, Э. М. Плотникова¹, А. М. Идрисов¹, С. Е. Охрименко³, Е. Н. Майорова¹

¹ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

⁴ Казанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия

⁵ Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан, Казань, Россия

⁶ Академия наук Республики Татарстан, Казань, Россия

Актуальность проведенных исследований заключается в том, что снижение токсичности микроорганизмов в процессе их радиоинактивации сопровождается синтезом радиопротекторных субстанций и проявлением радиозащитного действия при введении этих микробных препаратов в организм облученных животных. Целью исследования было изучить радиозащитную эффективность облученных вариантов золотистого стафилококка. В работе установлено, что культура *Staphylococcus aureus*, подвергнутая однократному гамма-облучению в диапазоне доз от 30 до 40 кГр, обеспечивает защиту от 55 до 66% летально облученных животных. Многократное облучение тест-микроба постепенно возрастающими дозами гамма-лучей индуцировало еще большее возрастание радиорезистентности, обусловленное синтезом эндогенных радиопротекторов, в частности антиоксидантного фермента пероксидазы и цитокина IL1 β , обеспечивающих перехват радиоиндуцированных токсических радикалов, предотвращая тем самым пострadiационную панцитопению в костном мозге. В опытах на белых мышах, облученных гамма-лучами в абсолютно летальных дозах (7,9 Гр, LD_{100/30}), показано, что однократное подкожное введение радиорезистентного варианта *St. aureus* штамм 209R₇₀ в дозе 2×10^8 микробных клеток на особь через 3 суток после облучения обеспечивало 77,7% выживаемость при 100% гибели нелеченых животных. На основании полученных результатов сделано предположение, что включение облученных препаратов микробного происхождения позволит повысить эффективность комплексных радиозащитных средств.

Ключевые слова: золотистый стафилококк, гамма-лучи, радиоинактивация, радиомодификация, лабораторные животные, противорадиационная эффективность
Финансирование: работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» для выполнения научно-исследовательской работы, государственная регистрация № 01200202604.

Благодарности: работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Вклад авторов: Т. Р. Гайнутдинов — литературный обзор по теме статьи, выполнена экспериментальная часть работы, обработан полученный материал, отредактирован текст, подготовлена рукопись; С. А. Рыжкин — научное руководство; Р. Ф. Шавалиев — консультативная помощь в выполнении экспериментальной части работы, редактирование текста; К. Н. Вагин, Я. М. Курбангалеев, С. Е. Охрименко — консультативная помощь по выполнению исследований; Ф. Х. Калимуллин — содействие и выполнение экспериментальной части работы; Э. М. Плотникова, А. М. Идрисов, Е. Н. Майорова — выполнение экспериментов, проведение статистической обработки данных.

Соблюдение этических стандартов: все процедуры с модельными животными были проведены в соответствии с Правилами лабораторной практики и директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС (2010 г.) о защите животных, используемых для научных целей.

✉ **Для корреспонденции:** Тимур Рафкатович Гайнутдинов
ул Научный городок, д. 2, г. Казань, 420075, Россия, gtr_timur@mail.ru

Статья получена: 10.05.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.023

EVALUATION OF ANTI-RADIATION EFFICACY OF THE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*-DERIVED THERAPEUTIC AGENT

Gaynutdinov TR^{1,2,3} ✉, Ryzhkin SA^{2,3,4,6}, Shavaliyev RF^{4,5}, Vagin KN^{1,2}, Kurbangaleev YaM¹, Kalimullin FH¹, Plotnikova EM¹, Idrisov AM¹, Ohrimenko SE³, Mayorova EN¹

¹ Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russia

² Kazan Federal University, Kazan, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁴ Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russia

⁵ Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

⁶ Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

The study is relevant due to the fact that the decrease in microbial toxicity observed during the radio-inactivation of microorganisms is accompanied by synthesis of radioprotective substances and exertion of the radioprotective effects associated with administration of such microbial agents to exposed animals. The study was aimed to assess radioprotective efficacy of the exposed *Staphylococcus aureus* variants. The study showed that the *Staphylococcus aureus* culture treated with a single dose of gamma radiation (30–40 kGy) ensured protection of 55–66% of the lethally irradiated animals. Multiple exposures of the test microorganism to the gradually increasing doses of gamma radiation induced an even larger increase in radioresistance resulting from the synthesis of endogenous radioprotectors, particularly peroxidase, the antioxidant enzyme, and IL1 β cytokine, ensuring interception of the radiation-induced toxic radicals and thereby preventing post-exposure pancytopenia in the bone marrow. The experiments involving white mice exposed to the absolutely lethal gamma radiation doses (7.9 Gy, LD_{100/30}) showed that a single subcutaneous administration of the *St. aureus* radioresistant variant (strain 209R₇₀) in a dose of 2×10^8 bacterial cells per animal 3 days after the exposure ensured the 77.7% survival rate, while 100% of untreated animals died. Based on the findings it was concluded that inclusion of the exposed agents of microbial origin would make it possible to increase the efficacy of the combination radioprotectors.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, gamma rays, radio inactivation, radio modification, laboratory animals, anti-radiation effectiveness

Funding: the study was conducted the expense of the subsidy granted to the Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety for research work, state registration No. 01200202604.

Acknowledgements: the study was performed within the framework of the Strategic Academic Leadership Program of the Kazan Federal University (PRIORITY-2030).

Author contribution: Gaynutdinov TR — literature review on the issue, conducting the experimental part of the study, processing of the data acquired, text editing, manuscript preparation; Ryzhkin SA — academic advising; Shavaliyev RF — advisory assistance during the experimental part of the study, text editing; Vagin KN, Kurbangaleev YaM, Ohrimenko SE — advisory assistance during the study; Kalimullin FH — assistance and conducting the experimental part of the study; Plotnikova EM, Idrisov AM, Mayorova EN — conducting the experiments, statistical data processing.

Compliance with ethical standards: all the procedures involving model animals were conducted in accordance with the Good Laboratory Practice and the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council (2010) on the protection of animals used for scientific purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Timur R. Gaynutdinov
Nauchnyj Gorodok, 2, Kazan, 420075, Russia; gtr_timur@mail.ru

Received: 10.05.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.023

Принципиальные основы современной радиационной микробиологии нашли широкое применение в медицине и ветеринарии (стерилизация веществ микробного происхождения, антибиотиков, крови, сывороток, вакцин, питательных сред, оценка биологической безопасности облученных кормов и пищевых продуктов) [1, 2]. Радиоинактивированные бактерии и вирусы, а также антигены (радиовакцины, радиоантигены) успешно используют в области инфекционной патологии в качестве профилактических и диагностических средств. Установленные антимикробные эффекты ионизирующих излучений позволили постулировать важнейшие для радиомикробиологии и радиовирусологии положения, которые составляют основу современной радиационной микробиологии и радиационной генетики микроорганизмов, и используются при получении и конструировании радиовакцин и радиоантигенов [3–6]. При этом весьма важную роль играют сведения о том, что радиоинактивация микроорганизмов сопровождается резким снижением токсичности микробов и изменением их метаболизма с индукцией синтеза субстанций, обладающих радиопротекторными свойствами [7–10].

Снижение токсичности микроорганизмов с одновременной индукцией синтеза радиопротекторных субстанций в процессе ослабления или радиоинактивации послужили основанием для изучения у облученных микроорганизмов способности оказывать радиозащитное действие при поражении организма ионизирующей радиацией [11, 12]. При этом установлено, что использование как корпускулярных вакцин из грамотрицательных бактерий (сальмонелл, эшерихий, клебсиелл и др.), так и клеточных компонентов метаболитов микробов (эндо-, экзотоксины, полисахариды, ДНК) при назначении веществ микробного происхождения (ВМП) за несколько часов или от 1 до 2 суток до и в первые часы и сутки после облучения способствует значительному повышению выживаемости облученных животных [13–16].

Цель исследования — изучить влияние гамма-лучей на золотистый стафилококк и возможности использования облученных вариантов микробов в качестве противорадиационного средства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве тест-штамма использовали золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* штамм (шт.) 209, полученный из отдела государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Россия. Перед облучением культуры выращивали в жидкой питательной среде Китта–Тароцци с добавлением 1% нормальной сыворотки крупного рогатого скота (ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»; Россия), термостатировали при температуре 37 °С в течение 72 ч. Выращенную трехсуточную культуру разливали в стерильные флаконы и осаждали центрифугированием при 3000 об./мин в течение 40 мин. Супернатант сливали, а центрифугат разводили стерильной дистиллированной водой до концентрации 1×10^9 микробных клеток (м. к.) в 1 см³. Полученную взвесь культуры *St. aureus* фасовали во флаконы по 10 см³, закрывали их резиновыми пробками и обкатывали алюминиевыми колпачками. После этого флаконы с тест-культурой облучали на гамма-установке «Исследователь» (Завод «Балтиец»; Эстония) с источником

излучения ⁶⁰Со при мощности экспозиционной дозы $2,652 \times 10^{-2}$ А/кг в поглощенных дозах 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 и 70 кГр. Степень инактивации гамма-облученных взвесей *St. aureus* определяли путем высева их на среду Китта–Тароцци с последующим термостатированием в течение 7 суток и ежедневной регистрацией наличия или отсутствия роста микроорганизмов.

С целью отбора радиорезистентных мутантов выросшие одиночные субкультуры многократно пересеивали на среду Китта–Тароцци, содержащую нормальную сыворотку крупного рогатого скота, до сплошного роста культуры. Полученные субкультуры при сплошном росте подвергали дальнейшему гамма-облучению в постепенно возрастающих вышеуказанных дозах.

Облученные культуры подвергали микробиологическому анализу, для чего делали серийные разведения в стерильном фосфатном буфере и анализировали на колониеобразующей единице (КОЕ) с помощью стандартных процедур путем посева на чашки Петри с МПА. Последние инкубировали в течение 24 ч при температуре 3 °С. Количество КОЕ подсчитывали на 3 чашках Петри с 30–300 колониями с помощью автоматического счетчика колоний New Brunswick Scientific Rietran II R (New Brunswick Scientific; США) и находили среднее арифметическое для каждого образца. Жизнеспособность клеток выражали в виде среднего $\log_{10} \pm SD$ трех повторностей.

С выращенных культур делали мазки, окрашивали по Граму, микроскопировали под иммерсией с 90-кратным увеличением.

Противорадиационную активность облученных вариантов *St. aureus* и радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R испытывали на облученных в летальных дозах беспородных белых мышах со средней живой массой 18–20 г. Моделирование острой лучевой болезни (ОЛБ) осуществляли с помощью стационарной гамма-установки «Пума» (АО «В/О «Изотоп»; Россия) с источником излучения ¹³⁷Cs в дозе 7,9 Гр (ЛД_{100/30}) с мощностью дозы $2,5 \times 10^{-5}$ А/кг неравномерностью гамма-поля, не превышающей 10%.

Опыты проводили на 117 белых мышах, разделенных на 13 групп по 9 животных в каждой. Животные 12 групп были подвергнуты гамма-облучению в летальной дозе (7,9 Гр) и через 3 суток однократно подкожно в объеме 0,2 см³ (2×10^8 м. к./особь) им вводили исходную необлученную культуру *St. aureus* шт. 209 (1-я группа), облученную в дозе 30 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (2-я группа), облученную в дозе 35 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (3-я), облученную в дозе 40 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (4-я), облученную в дозе 45 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (5-я), облученную в дозе 50 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (6-я), облученную в дозе 55 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (7-я), облученную в дозе 60 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (8-я), облученную в дозе 65 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (9-я), облученную в дозе 70 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (10-я), радиорезистентную культуру *St. aureus* шт. 209R₇₀ (11-я). Облученным животным контрольной группы (12-я группа) в аналогичных условиях вводили 0,2 см³ физиологического раствора. Животных 13-й группы не облучали и не лечили, они служили биологическим контролем.

За облученными, контрольными и опытными животными вели наблюдения в течение 30 суток, регистрируя павших и выживших животных. Влияние испытываемых веществ микробного происхождения оценивали по критерию выживаемости и срокам продолжительности жизни (СПЖ), морфологическому и биохимическому составу крови общепринятыми в радиационной гематологии методикам,

состоянию антиоксидантной защиты (по уровню синтеза малонового диальдегида).

Учитывая, что облучение животных, растений и микроорганизмов сопровождается образованием токсических продуктов радиоллиза (радиотоксинов), опыты проводили по индикации указанных метаболитов в исходной и облученных культурах стафилококка. Для индикации радиотоксинов в исследуемых пробах использовали РНГА-тест путем постановки реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с использованием разработанного нами антительного варианта противорадиационного эритроцитарного диагностикума (АТЭД), представляющего собой сенсibilизированные антирадиотоксической гипериммунной сывороткой формализированные и танизированные эритроциты барана.

Иммунохимический анализ дезинтегрантов облученных вариантов *St. aureus* шт. 209 проводили путем постановки РНГА с АТЭД. Для этого из полученных дезинтегрантов готовили последовательные двукратные (1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 и т. д.) разведения антигена на физиологическом растворе и добавляли к каждому разведению по 1 капле (330 мкл) сенсibilизированных антирадиотоксической сывороткой формализированные и танизированные эритроциты барана — АТЭД. Смесь испытуемых антигенов и диагностикума тщательно перемешивали до гомогенной взвеси и оставляли на 2–2,5 ч в термостате при температуре 37 °С.

Результаты реакции оценивали по общепринятой в иммунологии методике. Количественную оценку реакции выражали в титрах радиотоксина (1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 и т. д.) или в логарифмах с основанием 2 (1 : 2 = 1log₂; 1 : 4 = 2log₂ и т. д.).

Реакцию сопровождали соответствующими контролями. В качестве положительного контроля в РНГА использовали стандартный хиноидный радиотоксин, полученный от летально облученного *St. aureus* шт. 209, а в качестве отрицательного контроля использовали необлученный вариант указанной культуры.

На следующем этапе работы проводили исследования по определению пероксидазной активности в клеточной суспензии и культуральной жидкости радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ [17]. При этом в качестве окисляемого субстрата использовали пирогаллол, который окислялся в пурпурогаллин с максимумом поглощения. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-46 (ОАО «ЛОМО»; Россия). Клеточную суспензию и культуральную жидкость исходные и радиорезистентные варианты *St. aureus* получали общепринятым методом путем центрифугирования бульонной культуры, разводя центрифугат до концентрации 1 × 10³ м. к./см³, а супернатант использовали как культуральную жидкость.

Исследуемый раствор содержал 0,8 мг 0,006 М натрий-фосфат буфера рН 6,8; 0,12 см³ ферментной вытяжки (суспензия, центрифужная жидкость); 0,5 см³ 0,15%-ной Н₂О₂; 1,1 см³ Н₂О и 0,5 см³ 0,003 М пирогаллола. В контроле вместо Н₂О₂ добавляли 0,5 см³ Н₂О.

Активность фермента определяли по формуле:

$$A = D_{t_2} - D_{t_1} / (t_2 - t_1) \times c,$$

где А — активность фермента, D — оптическая плотность, t — время, с — концентрация.

Измерения проводили в течение 2,5–3 мин.

В следующей серии опытов изучали механизм противорадиационного действия *St. aureus* шт. 209R₇₀ на

облученный организм. Для этой цели опыты проводили на 30 белых мышах живой массой от 15 до 20 г, разделенных на три группы по 10 животных в каждой. Животных 1-й и 2-й групп подвергли гамма-облучению на установке «Пума» в летальной дозе (7,9 Гр, ЛД_{100/30}). Через 3 суток после облучения животным 1-й группы однократно подкожно вводили радиорезистентный вариант *St. aureus* шт. 209R₇₀ с титром 1 × 10⁸ м. к./особь в объеме 0,2 см³. Облученным в указанной дозе гамма-лучей животным 2-й группы вводили 0,2 см³ стерильного инъекционного раствора (контроль облучения). Необлученные животные 3-й группы никакие средства не получали — служили биологическим контролем.

За облученными животными вели наблюдение в течение 30 суток, изучая клинику, форму течения ОЛБ. Противорадиационную активность препарата оценивали по выживаемости, СПЖ, а также по морфологическому составу крови, состоянию системы антиоксидантной защиты, синтезу цитокинов и реакции системы клеточного обновления (опустошение и восстановление кроветворных клеток костного мозга).

Цитокининдуцирующую активность радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ оценивали путем определения концентрации интерлейкина 1β (IL1β) в сыворотке крови и суспензии костного мозга методом иммуноферментного анализа (ИФА) через 24, 48, 72 ч после облучения и применения лечебного препарата. Коммерческий набор Mouse IL1β для ИФА (Biosource, R&D и Eudogen; США) имел предел чувствительности для IL1β 50 нг/см³ [18]. Для оценки уровня секреции ИЛ1β клетками костного мозга бедренную кость отпрепарировали в асептических условиях, тщательно измельчали в 0,5 см³ физиологическом растворе с добавлением гепарина. Полученную суспензию инкубировали в течение 5 ч при 37 °С, а затем центрифугировали 10 мин при 800 г. Содержание цитокинов в супернатанте определяли в расчете на 1 млн клеток костного мозга и на общее количество миелокариоцитов в бедре.

В качестве интегрального показателя противорадиационного эффекта испытуемого средства использовали 30-суточную выживаемость. Гемопротекторный эффект препарата оценивали путем подсчета клеток периферической крови на автоматическом анализаторе MINOS ST0 (Horiba ABX Diagnostics; Франция). Функциональную полноценность системы антиоксидантной защиты определяли путем измерения концентрации в сыворотке крови стабильных альдегидных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), реагирующей с тиобарбитуровой кислотой [19].

Материалы исследований обрабатывали статистически с использованием параметрических методов. Степень достоверности результатов между сравнительными показателями определяли по критерию Стьюдента с поправками Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение радиочувствительности тест-штамма *St. aureus* 209 к гамма-лучам показало, что микроорганизм обладает высокой радиорезистентностью. Результаты наших исследований показали, что отсутствие роста наблюдалось лишь в образце, облученном в дозе 70 кГр, при наличии слабого роста в диапазоне доз от 45 до 65 кГр [20].

После облучения в дозах от 40 до 70 кГр рост культуры отсутствовал в течение 4 суток после высева,

Таблица 1. Выживаемость летально облученных белых мышей на фоне применения испытуемых вариантов *St. aureus* шт. 209 через 3 суток после однократного подкожного введения лечебного средства, $n = 9$

Номер группы	Вариант <i>Staphylococcus aureus</i> шт. 209 нативный и облученный в разных дозах	Метод и объем введения препарата, см ³	СПЖ, сут.	Выживаемость, %
1	Исходный шт. <i>St. aureus</i> 209	подкожно, 0,2	8	22,2
2	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 30 кГр	подкожно, 0,2	12,7	66,6
3	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 35 кГр	подкожно, 0,2	13,7	66,6
4	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 40 кГр	подкожно, 0,2	11,5	55,5
5	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 45 кГр	подкожно, 0,2	11,2	44,4
6	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 50 кГр	подкожно, 0,2	11	44,4
7	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 55 кГр	подкожно, 0,2	9	44,4
8	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 60 кГр	подкожно, 0,2	8,7	22,2
9	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 65 кГр	подкожно, 0,2	8,4	22,2
10	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 70 кГр	подкожно, 0,2	7,8	22,2
11	<i>St. aureus</i> шт. 209R ₇₀ (радиорезистентный вариант)	подкожно, 0,2	17,5	77,7
12	Контроль облучения	–	6,8	0
13	Биологический контроль	–	–	–

Примечание: м. к. — микробные клетки; шт. — штамм; обл. — облученный.

а при длительном культивировании (120 ч) выросли единичные колонии. Поэтому опыты по изучению формирования радиорезистентности исходной культуры к гамма-лучам в процессе последовательного облучения выживших колоний в возрастающих дозах излучений были продолжены. При этом для получения радиорезистентного варианта *St. aureus* выросшие единичные колонии после летального облучения (40 кГр) подвергали длительному пассажу на средах Китта–Тароцци, МПА и МПБ до получения сплошного роста культуры. Такие операции повторяли многократно с использованием возрастающих доз гамма-лучей 45, 50, 55, 60, 65 и 70 кГр.

При микроскопии мазков, изготовленных из облученной культуры и окрашенной по Граму, в поле зрения отчетливо обнаруживаются грамположительные одиночные и парные кокки в виде несимметричных виноградных гроздей, характерные для данной культуры.

В результате проведенных исследований установлено, что из исходной культуры *St. aureus* шт. 209 путем отбора выживших единичных колоний после каждой дозы облучения и длительного пассирования на соответствующих питательных средах, на 10-м пассаже после облучения в дозе 70 кГр, получили радиорезистентный вариант *St. aureus* шт. 209R₇₀, радиостойчивость к гамма-лучам которого превосходила исходный штамм в два раза.

Облученные в вышеуказанных дозах от 30 до 70 кГр *St. aureus* 209 (30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70) и радиорезистентный вариант (*St. aureus* шт. 209R₇₀), на следующем этапе работы были испытаны на радиозащитные свойства на летально облученных белых мышах.

При подкожном введении облученных культур *St. aureus* шт. 209 у отдельных животных на месте введения образовывалась небольшая припухлость, которая в течение суток рассасывалась. В контрольной группе у животных, которым вводили *St. aureus* шт. 209 (исходная необлученная культура), на месте инъекции наблюдали припухлость, местную гиперемию, болезненность.

Противорадиационная активность испытанных необлученного и облученных вариантов *St. aureus* 209, изученная на летально облученных белых мышах, представлена в табл. 1.

Облучение стафилококков гамма-лучами в дозах от 30 до 40 кГр приводит к модификации тест-микробов, сопровождающейся повышением их противорадиационной активности, обеспечивая от 55 до 66,6% выживаемости летально облученных животных, что превышает исходный противорадиационный уровень в 1 группе в 2–3 раза (табл. 1). Дальнейшее увеличение дозы облучения исходной культуры оказывает отрицательное действие на микробы — противорадиационный уровень облученных животных в дозах от 45 до 70 кГр снижается от 44,4 до 22,2% соответственно.

В отличие от однократного облучения исходной культуры в дозах от 30 до 70 кГр, многократное облучение исходной культуры, полученное в ходе эксперимента из субкультур стафилококков в постепенно возрастающих дозах, оказывало модифицирующее действие на тест-микробы. Противорадиационная активность радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ превышала таковую исходного штамма в 3,5 раза и составляла 77,7%. При этом отмечено, что при использовании облученных вариантов *St. aureus* в качестве радиозащитных препаратов наряду с повышением выживаемости летально облученных животных наблюдали также увеличение другого важного показателя радиозащиты — средней продолжительности жизни павших животных (СПЖ).

Как видно из приведенных данных, СПЖ у больных ОЛБ животных после применения необлученного варианта *St. aureus* шт. 209 составляла 8,0 дней. Применение облученных в дозах от 30 до 50 кГр культуры приводило к увеличению этого показателя до 11,0–13,7 дней (варианты 6, 5, 4, 3, 2). Использование радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ в качестве радиозащитного препарата обеспечивало увеличение срока продолжительности жизни павших животных до 17,5 дней против 8,0 дней у исходного штамма стафилококка, что превышает таковой исходного штамма в 2,19 раза.

Повторение вышеописанных экспериментов на другом виде лабораторных животных — белых крысах, облученных в летальных дозах (9,5 Гр, ЛД_{100/30}) и леченных радиомодифицированными вариантами *St. aureus* шт. 209 (30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70) и радиорезистентным

Таблица 2. Результаты индикации радиотоксина в облученных различными дозами гамма-лучей вариантах *Staphylococcus aureus* шт. 209

Культура золотистого стафилококка и ее облученные варианты	Доза облучения, кГр	Концентрация радиотоксина, \log_2	Выживаемость летально облученных животных на фоне применения облученных вариантов <i>St. aureus</i>
Исходная <i>St. aureus</i> шт. 209 (необлученная)	–	0,7 ± 0,01	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209 (30)	30	2,0 ± 0,3	66,6
<i>St. aureus</i> шт. 209 (35)	35	3,0 ± 0,5	66,6
<i>St. aureus</i> шт. 209 (40)	40	4,0 ± 0,7	55,5
<i>St. aureus</i> шт. 209 (45)	45	6,0 ± 0,9	44,4
<i>St. aureus</i> шт. 209 (50)	50	7,0 ± 1,2	44,4
<i>St. aureus</i> шт. 209 (55)	55	7,5 ± 0,9	44,4
<i>St. aureus</i> шт. 209 (60)	60	8,0 ± 1,5	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209 (65)	65	9,0 ± 1,7	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209 (70)	70	10,0 ± 2,1	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209R70 (радиорезистентный вариант)	70	2,4 ± 1,6	77,7

Примечание: шт. — штамм.

вариантом (*St. aureus* шт. 209R₇₀), показало аналогичные результаты.

Облучение исходной культуры *St. aureus* шт. 209 гамма-лучами в дозах от 30 до 70 кГр оказывает разнонаправленное действие на способность облученных культур индуцировать различную степень радиорезистентности организма летальному облучению (табл. 1). При этом установлено, что культуры *St. aureus* шт. 209, облученные в дозах от 30 до 40 кГр, повышали противорадиационный уровень до 66,6%, а облучение исходной культуры в дозах, начиная с 45 кГр и выше, оказывало противоположное действие, снижая радиозащитную активность облученных вариантов стафилококков до 22,2%.

Результаты индикации хиноидного радиотоксина в дезинтеграторах облученного различными дозами гамма-лучей золотистого стафилококка в РНГА тест-системе с антительным вариантом эритроцитарного диагностикума представлены в табл. 2.

Облучение стафилококка гамма-лучами индуцирует усиление синтеза токсических продуктов радиолитиза (радиотоксинов), которые в малых дозах (2,0–4,0 \log_2) оказывают стимулирующее действие на организм (табл. 2). Выживаемость летально облученного животного повышается до 66,6%, а избыточное образование токсических продуктов (6,0–10,0 \log_2) снижает выживаемость облученных животных, противорадиационный процент при этом составляет от 44,4 до 22,2%. Следовательно, оптимальной дозой облучения культуры стафилококка гамма-лучами составляет 30–35 кГр, а повышение дозы облучения ведет к усилению синтеза микроорганизмом радиотоксина, то есть обуславливает снижение противорадиационных факторов облученных вариантов *St. aureus*.

В этой связи представляет интерес повышение противорадиационных свойств радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀, полученного путем многократного облучения исходной культуры и ее

субкультур постепенно возрастающими дозами от 30 до 70 кГр. Известно, что развитие радиорезистентности сопровождается синтезом антиокислительных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы), проводили опыты по определению антиокислительного фермента — пероксидазы. Выбор указанного фермента для исследования обусловлен тем, что пероксидаза является антиоксидантным ферментом, одна из основных функций которого — это разрушение опасных для жизнедеятельности клеток токсических продуктов радиолитиза — пероксидов.

Результаты измерения пероксидазной активности вариантов *St. aureus* шт. 209 и *St. aureus* шт. 209R₇₀ представлены в табл. 3.

Оба опытных варианта *St. aureus* обладают пероксидазной активностью (табл. 3). Однако у радиорезистентного варианта она была в 2,17 раза больше ($p < 0,01$) по сравнению с исходным вариантом микроба. Аналогичную тенденцию увеличения пероксидазной активности наблюдали в культуральной жидкости, в которой выращивали испытуемые микробы. При этом концентрация пероксидазы в культуральной жидкости, полученной при выращивании *St. aureus* шт. 209R₇₀, была в 3 раза выше ($p < 0,001$), чем таковая исходной культуры.

Полученные в этом эксперименте данные относительно повышения концентрации антиоксидантного фермента пероксидазы в культуральной жидкости во время инкубирования *St. aureus* шт. 209R₇₀ показывают то, что испытуемая культура способна синтезировать и экспрессировать данный фермент *in vivo*, то есть в организме интактных и облученных животных, оказывая антиоксидантное и, следовательно, противорадиационное действие.

С учетом сказанного нами была проведена серия опытов по изучению механизма радиозащиты организма на фоне применения радиорезистентных вариантов *St. aureus* шт. 209R₇₀ в качестве потенциального противорадиационного средства.

Таблица 3. Пероксидазная активность клеток исходной и радиорезистентной культуры *St. aureus* шт. 209

Штамм бактерий	Уровень пероксидазной активности ($\text{с}^{-1} \text{мг}^{-1}$)	
	клеточная суспензия	культуральная жидкость
<i>St. aureus</i> шт. 209 (исходная культура)	$0,123 \times 10^{-3} \pm 0,01$	$0,031 \times 10^{-3} \pm 0,01$
<i>St. aureus</i> шт. 209 R ₇₀ (радиорезистентная культура)	$0,267 \times 10^{-3} \pm 0,03^{**}$	$0,09 \times 10^{-3} \pm 0,009^{***}$

Примечание: ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; шт. — штамм.

Таблица 4. Показатели системы крови белых мышей на 10 сутки после облучения и однократного подкожного введения *St. aureus* шт. 209R₇₀, n = 10

Показатель	Группа животных		
	Контроль	Облучение	Облучение + лечение <i>St. aureus</i> шт. 209 R ₇₀
Количество лейкоцитов в периферийной крови, ×10 ⁹ /л	5,4 ± 0,7	1,95 ± 0,1×××	4,98 ± 0,5
Количество нейтрофилов в периферийной крови, ×10 ⁹ /л	2,17 ± 0,3	1,03 ± 0,5××	1,95 ± 0,2
Количество лимфоцитов в периферийной крови, ×10 ⁹ /л	4,39 ± 0,4	1,63 ± 0,3×××	3,98 ± 0,9
Количество миелокариоцитов в костном мозге бедра, ×10 ⁶ /л	27,1 ± 1,3	15,7 ± 0,5××	26,3 ± 0,7

Примечание: ×× — $p < 0,01$; ××× — $p < 0,001$; шт. — штамм.

Результаты динамического наблюдения за подопытными животными показали, что однократное подкожное введение радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ оказывало радиомодифицирующее действие, изменяя как течение ОЛБ, так и выживаемость облученных животных, а также увеличивая срок продолжительности жизни павших животных. При этом установлено, что ОЛБ у контрольных (облученных) животных протекала в тяжелой форме с СПЖ 6,8 суток. В отличие от контроля, у животных опытной группы, получавших в качестве противорадиационного средства *St. aureus* шт. 209R₇₀, ОЛБ проходила в более легкой форме. При этом выживаемость животных составляла 77,7%, а СПЖ павших животных составлял 17,5 против 6,8 сут в контрольной группе облучения.

Повышение выживаемости летально облученных животных на фоне применения испытуемого препарата сопровождалось коррекцией радиоиндуцированной панцитопении (табл. 4).

Летальное облучение белых мышей вызывает гемотоксическое действие, сопровождающееся опустошением костного мозга (гибель миелокариоцитов) и угнетением гемопоэза (достоверная лейко- и лимфопения) (табл. 4). Применение испытуемого препарата оказывало гемопротекторное и миелопротекторное действия, предотвращая развитие тяжелой панцитопении, сохраняя пул миелоцитов и гранулоцитов в костном мозге и периферической крови.

Гемопротекторное действие испытуемого препарата реализовалось путем ингибирования синтеза токсических продуктов радиолитиза (малондальдегида) и усиленного синтеза медиаторов иммуногемопоэза цитокинов (табл. 5).

Летальное облучение животных гамма-лучами сопровождается резким увеличением МДА (в 5,85 раза, $p < 0,001$) в сыворотке крови с одновременным снижением синтеза иммунорегуляторного цитокина — IL1β (табл. 5).

Применение на этом фоне веществ микробного происхождения (радиорезистентного варианта *St. aureus*

шт. 209R₇₀) оказывает антиоксидантное действие, ингибируя процессы свободнорадикального и перекисного окисления липидов, снижая синтез альдегидных продуктов ПОЛ малондальдегида.

Одновременно используемый препарат микробного происхождения проявил себя как усилитель синтеза интерлейкина IL1β в периферической крови и костном мозге облученных животных.

Описанные биохимические изменения в органах иммуногемопоэза под воздействием препарата микробного происхождения обеспечивают 70% выживаемость летально облученных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы, при изучении различных аспектов механизма противолучевого действия, отечественными и зарубежными исследователями был накоплен экспериментальный материал, свидетельствующий о способности веществ микробного происхождения (эндотоксины, полисахариды, анатоксины и т. д.) повышать резистентность организма к ионизирующим излучениям [4, 11, 13–16]. С учетом изложенного проводили настоящие исследования по оценке радиозащитных свойств радиомодифицированного варианта *St. aureus*.

Проведенные опыты убедительно показали, что облучение стафилококков гамма-лучами в дозах 30–40 кГр оказывает на микробы модифицирующее действие, повышая их противорадиационные свойства на 22,2% по сравнению с исходной культурой. Эти результаты хорошо согласуются со всеми литературными данными по изучаемой проблеме. Многими авторами было показано, что корпускулярные микробы, микробные полисахариды, экзо-, эндотоксины и анатоксины на 20–30% повышают выживаемость экспериментальных животных, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации в дозах порядка ЛД_{80-90/30} [21]. Не подлежит сомнению,

Таблица 5. Концентрация малондальдегида (МДА) и IL1β в сыворотке крови и костном мозге летально облученных и леченных *St. aureus* 209R₇₀ белых мышей через 8 суток после облучения и лечения, n = 10

Показатель	Группа животных		
	Контроль	Облучение	Облучение + лечение <i>St. aureus</i> 209R ₇₀
Концентрация МДА в сыворотке крови, мкмоль/г белка	0,87 ± 0,05	5,09 ± 0,37×××	1,05 ± 0,15
Концентрация IL1β в сыворотке крови, нг/мл	55,1 ± 3,7	41,1 ± 5,9	87,1 ± 2,5
Концентрация IL1β в костном мозге бедра, нг на 1 млн клеток	1,93 ± 0,31	1,05 ± 0,17××	1,78 ± 0,25

Примечание: ×× — $p < 0,01$; ××× — $p < 0,001$.

что этими же свойствами обладают и липополисахариды стафилококков, содержащихся в вакцинных и других бактериальных препаратах [22].

Выбор стафилококков в качестве модели для конструирования микробного радиопротектора обоснован тем, что, во-первых, эти микробы продуцируют сильные экзо- и эндотоксины, которые под воздействием физико-химических факторов (УФ-, ионизирующая радиация, формалин и т. д.) переходят в анатоксины, обладающие радиозащитными свойствами [23], во-вторых, *St. aureus* обладает мощной антиоксидантной системой и способностью индуцировать антиоксидантные ферменты [24] и цитокины [25] и, в-третьих, из фаголизатов патогенных штаммов стафилококков получают высокоэффективные лечебные препараты широкого спектра биологического действия.

При проведении настоящих исследований исходили из того, что известна роль микроорганизмов в защите против действия ионизирующей радиации. Под влиянием веществ микробного происхождения в организме животных активируются защитные механизмы в виде усиления пролиферации кроветворных клеток гранулярного и лимфоидного рядов, непосредственно участвующих в реакции иммунного ответа, возрастает количество тромбоцитов, гранулоцитов, гемоглобина, усиливается активность эндогенных и экзогенных клеток лимфоидной системы селезенки, лимфоузлов [26]. Кроме этого, также учитывали, что облучение микробов в дозах, недостаточных для разрушения молекул их ДНК, не вполне приемлемых для ДНК перестройки с изменением фрагментов ДНК цепочек, может привести к образованию бактерий-мутантов с отличительными культурально-морфологическими свойствами с приобретением некоторых полезных качеств, а именно способностью продуцировать определенные субстанции, полезные с точки зрения человеческой практики [27].

С учетом необходимости разработки новых безопасных и эффективных противорадиационных средств для лечения ОЛБ, нами были проведены настоящие исследования по оценке противорадиационного действия ВМП, в качестве которых использовали препараты, полученные из стафилококков. Как рабочую гипотезу при проведении исследований мы использовали данные о том, что физическое воздействие на микробы индуцирует повышение радиорезистентности облученного организма путем индукции микроорганизмами Toll-подобных рецепторов (TLR) [4].

Для проверки правомочности этой гипотезы мы воздействовали на стафилококки гамма-лучами в широком диапазоне доз от 30 до 70 кГр. Опыты показали, что гамма-облучение стафилококков, в зависимости от дозы, оказывает разнонаправленное действие на микроорганизм, повышая или снижая радиозащитную эффективность *St. aureus*. Установлено, что облученные гамма-лучами культуры стафилококка в дозах от 30, 35 и 40 кГр обладали радиозащитной активностью, защищая 55,5–66,6% летально облученных белых мышей от радиационной гибели. Однако дальнейшее повышение дозы облучения (от 45 до 70 кГр) оказывало противоположный эффект, снижая уровень защиты животных от ОЛБ. Снижение радиозащитной активности облученных в высоких дозах вариантов *St. aureus* объясняется усилением образования радиотоксинов в облученных культурах, что и обуславливает повышение смертности облученных животных, вследствие суммации (потенцирования) токсических эффектов облученных микробов и макроорганизма [20].

Многokратное облучение микроорганизмов постепенно возрастающими дозами ионизирующих излучений ведет к ступенчатому возрастанию радиорезистентности [27], сопровождающейся изменением метаболизма клеток с индукцией эндогенных радиопротекторов [21], и нами были проведены исследования по получению радиозащитного варианта *St. aureus*. Путем многократного облучения тест-микроба постепенно возрастающими дозами гамма-лучей в диапазоне 30–70 кГр нами был получен радиорезистентный вариант *St. aureus* 209R₇₀, который выживал при сверхлетальной дозе облучения (70 кГр). Изучая механизм формирования направленного приобретения чрезвычайной радиорезистентности *St. aureus* установили, что процесс адаптационного приспособления к сверхлетальной дозе гамма-лучей сопровождается изменением метаболизма микробных клеток с увеличением антиоксидантного фермента — пероксидазы, играющей одну из ключевых ролей в условиях воздействия на организм стресс-факторов, в том числе ионизирующей радиации [17]. Полученные нами данные согласуются с данными других исследователей, которые наблюдали у радиотерморезистентных мутантов *St. aureus* усиление продукции антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, гидропероксидазы), убихинона, усиленной рекомбинационной репарации ДНК [7, 28].

Способность радиоустойчивого варианта *St. aureus* синтезировать антиоксидантные ферменты в процессе его радиоадаптации обуславливала повышение его противорадиационных свойств при применении его в качестве противолучевого средства в условиях *in vivo*. В опытах на белых мышах, облученных гамма-лучами в абсолютно летальных дозах (7,9 Гр, ЛД_{100/30}), показано, что однократное подкожное введение радиорезистентного варианта *St. aureus* 209R₇₀ в дозе 2×10^8 м. к./особь через 3 суток после облучения обеспечивало 77% выживаемость при 100% гибели нелеченых животных. Повышение выживаемости облученных и леченых *St. aureus* 209R₇₀ животных сопровождалось переходом острой формы ОЛБ в легкую, которая была обусловлена предотвращением панцитопении и депопуляции костного мозга. Механизм гемо- и миелопротекторного эффекта облученного гамма-лучами микроба (*St. aureus* 209R₇₀) реализовался, во-первых, путем перехвата и нейтрализации антирадикальными ферментами (пероксидазой и супероксиддисмутазой) радиоиндуцированных токсических продуктов радиолитического распада радиотоксинов (малондиальдегида), основной мишенью атаки которых служат клетки системы иммуногемопоза (лимфоциты, моноциты, стволовые клетки костного мозга) и, во-вторых, путем индукции испытуемым микроорганизмом цитокинов (в нашем случае IL1 β), инициирующих пострадиационное восстановление гемопоза, что согласуется с данными других исследователей [29, 30].

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о том, что лечебные средства, полученные на основе *St. aureus*, подвергнутые радиационному воздействию в диапазоне доз от 30 до 40 кГр, обладают противорадиационной эффективностью, обеспечивая 66,6% выживаемость летально облученных животных, а радиорезистентный вариант *St. aureus* шт. 209R₇₀ превосходит указанные препараты, увеличивая до 77,7% выживаемость облученных в ЛД_{100/30} животных от радиационной гибели.

Вещества микробного происхождения перспективны и целесообразны, поскольку препараты этого класса являются безвредными и, главное, обладают полифункциональными (иммунотропными, антиоксидантными, гемо- и миелопротективными) свойствами.

В связи с вышеизложенным считаем целесообразным продолжить поиски повышения эффективности ВМП, поскольку включение препаратов этого класса в арсенал средств борьбы с лучевым поражением позволило бы повысить эффективность комплексного противолучевого лечения.

Литература

- de Cassan D, Hoheisel AL, Glasmacher B. Impact of sterilization by electron beam, gamma radiation and X-rays on electrospun poly-(ε-caprolactone) fiber mats. *J Mater Sci: Mater Med*. 2019; 30: 42. DOI: 10.1007/s10856-019-6245-7.
- Tapia-Guerrero YS, Del Prado-Audelo ML, Borbolla-Jiménez FV, Gomez D, García-Aguirre I, Colín-Castro CA, et al. Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications. *Materials* (Basel, Switzerland). 2020; 13 (5): 1090. DOI: 10.3390/ma13051090.
- Shehata MM, Goma FA, Helal Z. Effects of gamma and electron beam irradiation on viability and DNA elimination of *Staphylococcus aureus*. *Archives of Clinical Microbiology*. 2011; 121: 44–55. DOI: 10.3823/244.
- Xu Y, Chen Y, Liu H, Lei X, Guo J, Cao K, et al. Heat-killed salmonella typhimurium (HKST) protects mice against radiation in TLR4-dependent manner. *Oncotarget*. 2017; 40 (8): 67082–93. DOI: 10.18632/oncotarget.17859.
- Tobin GJ, Tobin JK, Gaidamakova EK, Wiggins TJ, Bushnell RV, Lee WM, et al. A novel gamma radiation-inactivated sabin-based polio vaccine. *PloS one*. 2020; 15 (1): e0228006. DOI: 10.1371/journal.pone.0228006.
- Mullbacher A, Pardo J, Furuya Y. SARS-CoV-2 Vaccines: Inactivation by Gamma Irradiation for T and B Cell Immunity. *Pathogens* (Basel, Switzerland). 2020; 9 (11): 928. DOI: 10.3390/pathogens9110928.
- Bruno-Barcena JM, Azcárate-Peril AM, Hassan HM. Role of antioxidant enzymes in bacterial resistance to organic acids. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76 (9): 2747–50. DOI: 10.1128/AEM.02718-09.
- Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Archives of pharmacol research*. 2018; 41 (11): 1033–50. DOI: 10.1007/s12272-018-1083-6.
- Montoro A. Radioprotection and Radiomitigation: From the Bench to Clinical Practice. *Biomedicines*. 2020; 8 (11): 461. DOI: 10.3390/biomedicines8110461.
- Гайнутдинов Т. Р. Оценка противорадиационной эффективности препаратов, полученных на основе веществ микробного происхождения. *Ветеринарный врач*. 2024; 1: 52–7. DOI: 10.33632/1998-698X_2024_1_52.
- Riehl TE, Alvarado D, Ee X, Zuckerman A, Foster L, Kapoor V, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects the intestinal epithelium from radiation injury through release of lipoteichoic acid, macrophage activation and the migration of mesenchymal stem cells. *Gut*. 2019; 68 (6): 1003–13. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316226.
- Gaynutdinov TR, Nizamov RN, Idrisov AM, Rakhmatullina GI, Guryanova VA. Obtaining radioactivated strains of microorganisms and studying their antiradiation efficiency IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021; 723: 042008. DOI: 10.1088/1755-1315/723/4/042008.
- Иванов А. А., Симбирцев А. С., Мальцев В. Н., Петров Л. Н., Андрианова И. Е., Ставракова Н. М. и др. Снижение опасности носительства условно-патогенной микрофлоры при радиационном поражении с помощью пробиотика «Витафлор» и антибиотиков. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2013; 1 (43): 76–81.
- Кобатов А. И., Вербицкая Н. Б., Полоцкий А. Е., Савин И. И., Гребенюк А. Н. Разработка технологии получения кислomолочного продукта на борту космического корабля и оценка его пробиотических и потенциальных радиозащитных свойств. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21 (4): 517–26.
- Кобатов А. И., Полинцев Д. Г., Савин И. И., Попова Е. В., Кутник И. В. Космический эксперимент «Пробиовит»: итоги и перспективы (Часть 1). *Пилотируемые полеты в космос*. 2023; 1 (46): 74–87.
- Кобатов А. И., Полинцев Д. Г., Савин И. И., Попова Е. В., Кутник И. В. Космический эксперимент «Пробиовит»: итоги и перспективы (Часть 2). *Пилотируемые полеты в космос*. 2023; 2 (47): 87–98.
- Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*. 1979; 59 (3): 527–605. DOI: 10.1152/physrev.1979.59.3.527.
- Mathialagan N, Roberts RM. A role for cytokines in early pregnancy. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1994; 38: 153–62. PubMed PMID: 7814074.
- Гурьянова В. А., Тарасова Н. Б. Перекисное окисление липидов при поражении печени ионизирующей радиацией. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2013; 213: 76–80.
- Гайнутдинов Т. Р. Экспериментальный подбор доз ионизирующего излучения, вызывающих ингибирование роста и полную инактивацию золотистого стафилококка. *Ветеринарный врач*. 2020; 4: 4–8. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-4-4-8.
- Smith WW, Alderman IM, Gillespie RE. Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. *Am J Physiol*. 1957; 191 (1): 124–30. DOI: 10.1152/ajplegacy.1957.191.1.124.
- Pluznik DY. Beneficial effect on endotoxins. *Immunobiology and Immunopharmacology of Bacterial Endotoxins*. 1986; 7: 124–8. DOI: 10.1007/978-1-4613-2253-5.
- Ledney GD, Wilson R. Protection induced by bacterial endotoxin against whole body X-irradiation germfree and conventional mice. *Proc Soc Exptl Biol Med*. 1996; 118 (4): 1062–5. DOI: 10.3181/00379727-118-30046.
- Алмагамбетов К. Х. Молекулярная биология *Staphylococcus aureus*. *Медицинский журнал Астана*. 2021; 1 (107): 61–8.
- Neta R. Role of cytokines in radioprotection. *Pharmacology and Therapeutics*. 1988; 39 (1–3): 261–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.
- Гребенюк А. Н., Стрелова О. Ю., Лерега Т. И., Степанова Е. Н. Основы радиобиологии и радиационной медицины: учебное пособие. СПб.: ООО «Изд-во ФОЛИАНТ», 2012; 232 с.
- Галлямова М. Ю., Вагин К. Н., Гайнутдинов Т. Р., Рахматуллина Г. И., Рыжкин С. А. Влияние ионизирующего излучения на активность антиоксидантных ферментов штамма *Escherichia coli* «ПЛ-6» при многократном облучении. *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2024; 33 (1): 68–76. DOI: 10.21870/0131-3878-2024-33-1-68-76.
- Gaupp R, Lei S, Reed JM, Peisker H, Boyle-Vavra S, Bayer AS, et al. *Staphylococcus aureus* metabolic adaptations during the transition from a daptomycin susceptibility phenotype to a daptomycin nonsusceptibility phenotype. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015; 59 (7): 4226–38. DOI: 10.1128/AAC.00160-15.
- Linder H, Holler E, Ertl B, Multhoff G, Schreglmann M, Klauke I, et al. Peripheral blood mononuclear cells induce programmed cell death in human endothelial cells and may prevent repair: role of cytokines. *Blood*. 1997; 29 (6): 1931–8. PubMed PMID: 9058713.
- Neta R, Oppenheim J. The role of cytokines in immunoregulation. *Cancer cell*. 1991; 3 (10): 391–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.

References

- de Cassan D, Hoheisel AL, Glasmacher B. Impact of sterilization by electron beam, gamma radiation and X-rays on electrospun poly-(ε-caprolactone) fiber mats. *J Mater Sci: Mater Med.* 2019; 30: 42. DOI: 10.1007/s10856-019-6245-7.
- Tapia-Guerrero YS, Del Prado-Audelo ML, Borbolla-Jiménez FV, Gomez D, García-Aguirre I, Colín-Castro CA, et al. Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications. *Materials* (Basel, Switzerland). 2020; 13 (5): 1090. DOI: 10.3390/ma13051090.
- Shehata MM, Goma FA, Helal Z. Effects of gamma and electron beam irradiation on viability and DNA elimination of *Staphylococcus aureus*. *Archives of Clinical Microbiology.* 2011; 121: 44–55. DOI: 10.3823/244.
- Xu Y, Chen Y, Liu H, Lei X, Guo J, Cao K, et al. Heat-killed salmonella typhimurium (HKST) protects mice against radiation in TLR4-dependent manner. *Oncotarget.* 2017; 40 (8): 67082–93. DOI: 10.18632/oncotarget.17859.
- Tobin GJ, Tobin JK, Gaidamakova EK, Wiggins TJ, Bushnell RV, Lee WM, et al. A novel gamma radiation-inactivated sabin-based polio vaccine. *PLoS one.* 2020; 15 (1): e0228006. DOI: 10.1371/journal.pone.0228006.
- Mullbacher A, Pardo J, Furuya Y. SARS-CoV-2 Vaccines: Inactivation by Gamma Irradiation for T and B Cell Immunity. *Pathogens* (Basel, Switzerland). 2020; 9 (11): 928. DOI: 10.3390/pathogens9110928.
- Bruno-Barcena JM, Azcárate-Peril AM, Hassan HM. Role of antioxidant enzymes in bacterial resistance to organic acids. *Applied and Environmental Microbiology.* 2010; 76 (9): 2747–50. DOI: 10.1128/AEM.02718-09.
- Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Archives of pharmacal research.* 2018; 41 (11): 1033–50. DOI: 10.1007/s12272-018-1083-6.
- Montoro A. Radioprotection and Radiomitigation: From the Bench to Clinical Practice. *Biomedicines.* 2020; 8 (11): 461. DOI: 10.3390/biomedicines8110461.
- Gaynutdinov TR. Evaluation of the anti-radiation effectiveness of drugs derived from substances of microbial origin. *Veterinary Vrach.* 2024; 1: 52–7. DOI: 10.33632/1998-698X_2024_1_52. Russian.
- Riehl TE, Alvarado D, Ee X, Zuckerman A, Foster L, Kapoor V, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects the intestinal epithelium from radiation injury through release of lipoteichoic acid, macrophage activation and the migration of mesenchymal stem cells. *Gut.* 2019; 68 (6): 1003–13. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316226.
- Gaynutdinov TR, Nizamov RN, Idrisov AM, Rakhmatullina GI, Guryanova VA. Obtaining radioactivated strains of microorganisms and studying their antiradiation efficiency IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021; 723: 042008. DOI: 10.1088/1755-1315/723/4/042008.
- Ivanov AA, Simbircev AS, Maltsev VN, Petrov LN, Andrianova IE, Stavrakova NM, et al. Lowering risk of being a carrier of opportunistic infections in case of radiation damage by using probiotic vitaflor and antibiotics. *Extreme medicine.* 2013; 1 (43): 76–81. Russian.
- Kobatoev AI, Verbitskaya NB, Polotsky AE, Savin II, Grebenyuk AN. Development of a technology for producing a fermented milk product on space shipboard and evaluation of its probiotic and potential radioprotective properties. *Extreme medicine.* 2019; 21 (4): 517–26. Russian.
- Kobatoev AI, Polyntsev DG, Savin II, Popova EV, Kutnik IV. The «Probiovit» Space Experiment: Outputs and Outlook (Part 1). *Manned Spaceflight.* 2023; 1 (46): 74–87. Russian.
- Kobatoev AI, Polyntsev DG, Savin II, Popova EV, Kutnik IV. The «Probiovit» Space Experiment: Outputs and Outlook (Part 2). *Manned Spaceflight.* 2023; 2 (47): 87–98. Russian.
- Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev.* 1979; 59 (3): 527–605. DOI: 10.1152/physrev.1979.59.3.527.
- Mathialagan N, Roberts RM. A role for cytokines in early pregnancy. *Indian J. Physiol Pharmacol.* 1994; 38: 153–62. PubMed PMID: 7814074.
- Guryanova VA, Tarasova NB. Lipid peroxidation at liver injury by ionizing radiation. *Academic notes of Kazan state academy of veterinary medicine named after N. Bauman.* 2013; 213: 76–80. Russian.
- Gaynutdinov TR. Experimental selection of doses of ionizing radiation causing growth inhibition and full inactivation of golden staphylococci. *Veterinary Vrach.* 2020; 4: 4–8. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-4-4-8. Russian.
- Smith WW, Alderman IM, Gillespie RE. Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. *Am J Physiol.* 1957; 191 (1): 124–30. DOI: 10.1152/ajplegacy.1957.191.1.124.
- Pluznik DY. Beneficial effect on endotoxins. *Immunobiology and Immunopharmacology of Bacterial Endotoxins.* 1986; 7: 124–8. DOI: 10.1007/978-1-4613-2253-5.
- Ledney GD, Wilson R. Protection induced by bacterial endotoxin against whole body X-irradiation germfree and conventional mice. *Proc Soc Exptl Biol Med.* 1996; 118 (4): 1062–5. DOI: 10.3181/00379727-118-30046.
- Almagambetov KKh. Molecular biology of *Staphylococcus aureus*. *Meditsinskiy zhurnal Astana.* 2021; 1 (107): 61–8. Russian.
- Neta R. Role of cytokines in radioprotection. *Pharmacology and Therapeutics.* 1988; 39 (1–3): 261–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.
- Grebenyuk AN, Strelova OYu, Legeza TI, Stepanova EN. *Osnovy radiobiologii i radiatsionnoy meditsiny: uchebnoe posobie.* SPb.: OOO «Izd-vo FOLIANT», 2012; p. 232. Russian.
- Gallyamova MYu, Vagin KN, Gaynutdinov TR, Rakhmatullina GI, Ryzhkin SA. The effect of multiple ionizing radiation on the activity of antioxidant enzymes of *Escherichia coli* "PL-6" cells. *Radiation and risk.* 2024; 33 (1): 68–76. DOI: 10.21870/0131-3878-2024-33-1-68-76. Russian.
- Gaupp R, Lei S, Reed JM, Peisker H, Boyle-Vavra S, Bayer AS, et al. *Staphylococcus aureus* metabolic adaptations during the transition from a daptomycin susceptibility phenotype to a daptomycin nonsusceptibility phenotype. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2015; 59 (7): 4226–38. DOI: 10.1128/AAC.00160-15.
- Linder H, Holler E, Ertl B, Multhoff G, Schreglmann M, Klauke I, et al. Peripheral blood mononuclear cells induce programmed cell death in human endothelial cells and may prevent repair: role of cytokines. *Blood.* 1997; 29 (6): 1931–8. PubMed PMID: 9058713.
- Neta R, Oppenheim J. The role of cytokines in immunoregulation. *Cancer cell.* 1991; 3 (10): 391–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.

ВТОРИЧНЫЙ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗ НА ФОНЕ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D У ЮНЫХ ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ

Е. П. Исаева^{1,3,4} ✉, П. Л. Окоороков^{1,2}, И. В. Зябкин^{1,3}

¹ Федеральный научно-клинический центр детей и подростков Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

³ Медико-биологический университет инноваций и непрерывного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

⁴ Российский университет медицины Минздрава России, Москва, Россия

Длительно некомпенсированный дефицит витамина D сопряжен с высокими рисками развития рахита у детей и остеомаляции у взрослых, миопатий и низкоэнергетических переломов, а также вторичного гиперпаратиреоза (ВГПТ). ВГПТ — один из основных механизмов, посредством которых дефицит витамина D может вносить вклад в патогенез низкоэнергетических переломов. Целью работы было изучить состояние фосфорно-кальциевого обмена и значения маркеров метаболизма костной ткани у высококвалифицированных спортсменов с ВГПТ, а также его распространенность в спорте высших достижений. В исследование включено 527 юных спортсменов в возрасте 12–18 лет (средний возраст 15,2 лет), занимающихся 32 видами спорта. В группу с ВГПТ вошло 16 детей (11 девочек и 5 мальчиков); средний возраст 15,0 лет. Контрольную группу с нормальным уровнем паратиреоидного гормона составили 511 детей (254 мальчика и 273 девочки); средний возраст 15,2. Исследуемые подгруппы не различались по возрасту ($p = 0,678$). В группе ВГПТ преобладали девочки ($p = 0,02$). ВГПТ на фоне гиповитаминоза D у юных высококвалифицированных спортсменов был выявлен в 3% случаев и чаще встречался у девочек. Развитие ВГПТ не приводит к изменению показателей фосфорно-кальциевого обмена, однако сопровождается повышением маркеров костной резорбции — β -CrossLaps и общей щелочной фосфатазы. Многие аспекты, связанные с дефицитом витамина D при ВГПТ, в настоящее время не изучены, а клинические рекомендации по заместительной терапии колекальциферолом у юных спортсменов отсутствуют. Необходимо проведение крупных клинических исследований для определения «оптимальных «пороговых» уровней 25(OH)D3 и действенных, эффективных схем лечения у юных спортсменов с ВГПТ на фоне гиповитаминоза D.

Ключевые слова: дети, юные спортсмены, спортивная медицина, вторичный гиперпаратиреоз, дефицит витамина D

Вклад авторов: Е. П. Исаева — разработка протокола исследования, сбор материала, обработка и интерпретация результатов, подготовка рукописи; П. Л. Окоороков — сбор материала, критическая интерпретация результатов, редактирование текста; И. В. Зябкин — утверждение протокола исследования и финального текста рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом при АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Гааза» (протокол № 4 от 04 октября 2021 г.). Родители/опекуны или законные представители спортсменов подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Елена Петровна Исаева
ул. Москворечье, д. 20, 115409, г. Москва, Россия; dora7474@mail.ru

Статья получена: 23.05.2024 **Статья принята к печати:** 15.06.2024 **Опубликована онлайн:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.033

SECONDARY HYPERPARATHYROIDISM ASSOCIATED WITH VITAMIN D DEFICIENCY IN YOUNG HIGHLY TRAINED ATHLETES

Isaeva EP^{1,3,4} ✉, Okorokov PL^{1,2}, Zybkin IV^{1,3}

¹ Federal Research and Clinical Center for Children and Adolescents of the Federal Medial Biological Agency, Moscow, Russia

² National Endocrinology Research Center, Moscow, Russia

³ Medical and Biological University of Innovation and Continuing Education, Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medial Biological Agency, Moscow, Russia

⁴ Russian University of Medicine, Moscow, Russia

Vitamin D deficiency that remains non-compensated for a long time is associated with high risk of rickets in children and osteomalacia in adults, myopathies and low-energy fractures, as well as secondary hyperparathyroidism (SHPT). SHPT represents one of the main mechanisms, through which vitamin D deficiency can contribute to pathogenesis of low-energy fractures. The study was aimed to assess the calcium and phosphorus metabolism state and the bone tissue metabolism markers in highly trained athletes with SHPT, as well as the prevalence of SHPT in elite sports. The study involved 527 young athletes aged 12–18 years (average age 15.2 years) doing 32 sports. The group with SHPT included 16 children (11 girls and 5 boys) with the average age of 15.0 years. The control group with normal levels of parathyroid hormone consisted of 511 children (254 boys and 273 girls) with the average age of 15.2 years. The studied subgroups were matched by age ($p = 0.678$). Girls predominated in the group with SHPT ($p = 0.02$). SHPT associated with vitamin D deficiency was revealed in 3% of young highly trained athletes, it was more prevalent among girls. The SHPT development does not result in alteration of the calcium and phosphorus metabolism indicators, however, it is accompanied by the increase in bone resorption markers, β -CrossLaps and total alkaline phosphatase. Many aspects related to vitamin D deficiency in SHPT are currently poorly understood, and there are no clinical guidelines on the cholecalciferol replacement therapy. Large-scale clinical trials are required to determine the optimal threshold values of 25(OH)D3 and the powerful and effective treatment regimens for young athletes having SHPT associated with vitamin D deficiency.

Keywords: children, young athletes, sports medicine, secondary hyperparathyroidism, vitamin D deficiency

Author contribution: Isaeva EP — developing the research protocol, data acquisition, processing and interpretation of the results, manuscript writing; Okorokov PL — data acquisition, critical interpretation of the results, manuscript writing; Zybkin IV — approving the research protocol and the final version of the manuscript.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Gaaz Moscow Medical and Social Institute (protocol No. 4 dated 04 October 2021). The athletes' parents/caregivers or legal representatives submitted the informed consent to participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena P. Isaeva
Moskvorechye, 20, 115409, Moscow, Russia; dora7474@mail.ru

Received: 23.05.2024 **Accepted:** 15.06.2024 **Published online:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.033

Популяционные исследования свидетельствуют о высокой распространенности низкого статуса витамина D как среди детского населения, так и у юных высококвалифицированных спортсменов [1–3]. Обеспеченность витамином D принципиально важна для поддержания здоровья детей. Это связано с использованием витамина D не только для лечения рахита, но и для поддержания липидного обмена, профилактики ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний, поддержания антиинфекционного иммунитета, а также дефицит витамина D сопряжен с высокими рисками развития вторичного гиперпаратиреоза (ВГПТ). ВГПТ — это один из основных механизмов, посредством которого дефицит витамина D может вносить вклад в патогенез низкоэнергетических переломов [4, 5].

В настоящее время в Российской Федерации отсутствуют достоверные статистические данные о состоянии фосфорно-кальциевого обмена и значения маркеров метаболизма костной ткани у высококвалифицированных юных спортсменов с ВГПТ, и его распространенность на данный момент не изучена.

Цель данного исследования — оценить состояние фосфорно-кальциевого обмена и метаболизма костной ткани при ВГПТ и определить частоту ВГПТ у юных высококвалифицированных спортсменов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное одноцентровое исследование, в котором участвовали юные спортсмены сборных команд Российской Федерации, проходившие углубленное медицинское обследование в ФГБУ «ФНКЦ детей и подростков ФМБА России» в период с марта по июль 2022 г.

Критерии включения в исследование: спортсмены спортивного сборных команд РФ в возрасте 12–18 лет.

Критерии исключения из исследования: наличие перенесенных в течение 30 дней до обследования острых респираторных вирусных инфекций и других заболеваний, повлекших пропуск трех и более тренировочных занятий.

У всех юных спортсменов определяли уровень 25-гидроксикальциферола (25(OH)D₃), паратиреоидного гормона (ПТГ), С-концевого телопептида (β -Cross laps), общей щелочной фосфатазы (ЩФ), общего кальция, фосфора и магния сыворотки крови. Уровень 25(OH)D₃ и ПТГ определяли методом хемилюминесцентного анализа на микрочастицах (СМИА) с использованием специальных наборов (Abbott Laboratories; США). За нормальное содержание принимали концентрацию 25(OH)D₃ \geq 30 нг/мл, недостаточность витамина D диагностировали при концентрации 20–29,9 нг/мл, дефицит — при 10–19,9 нг/мл [6]. Референтные значения ПТГ для детей от 9 до 18 лет составили 2,32–9,28 пмоль/л. Исследование β -Cross laps и общей ЩФ выполнено методом электрохемилюминесценции на анализаторе Cobas e 411 (Roche Diagnostics; Германия). Верхней границей референтного интервала для β -Cross laps в общей популяции принято значение $<$ 0,584 нг/мл. Определение уровней общего кальция, фосфора и магния выполняли на автоматическом анализаторе Indiko Plus (Thermo Fisher Scientific; США). Оценку полового развития проводили по классификации Таннера.

В качестве основных конечных точек исследования были приняты следующие параметры: частота ВГПТ, уровни ПТГ, β -Cross laps, общей ЩФ, 25(OH)D₃ и общего кальция сыворотки крови у юных высококвалифицированных спортсменов.

Всех участников исследования разделили на две подгруппы в зависимости от наличия ВГПТ.

ВГПТ диагностировали при повышении паратиреоидного гормона (ПТГ) $>$ 9,28 пмоль/л в сочетании со снижением уровня 25(OH)D₃.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica version 10.0 (StatSoft Inc.; США).

Так как изучаемые количественные показатели имели ненормальное распределение (согласно критерию Колмогорова–Смирнова), все данные представлены в виде медианы (Me) и 1-го и 3-го квартилей [Q₁; Q₃]. Для оценки статистической значимости различий количественных признаков использовали критерий Манна–Уитни и Краскелла–Уоллиса. Качественные признаки представлены в виде долей (%) с указанием абсолютного значения. Для оценки различий между качественными признаками построены таблицы сопряженности с последующей оценкой по критерию хи-квадрата (χ^2) Пирсона. Статистический уровень значимости различий принимали при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в исследование включено 527 юных спортсменов в возрасте 12–18 лет, занимающихся 32 видами спорта. В группу с ВГПТ вошло 16 детей (11 девочек и 5 мальчиков); средний возраст 15,0 [14,1; 16,2] лет. Группу сравнения с нормальным уровнем ПТГ составили 511 детей (254 мальчика и 273 девочки); средний возраст 15,2 [14,2; 16,5]. Исследуемые подгруппы оказались сопоставимы по возрасту ($p = 0,678$), росту ($p = 0,124$) и весу ($p = 0,632$), однако различались стадиями полового развития. В группе ВГПТ преобладали девочки с незавершенным половым развитием, в то время как в группе сравнения 86% с завершённым пубертатом. Клиническая характеристика исследуемых подгрупп представлена в табл. 1.

Повышение уровня ПТГ выявлено у 16 юных спортсменов, что составило 3% обследованных. ВГПТ у девочек выявляется в два раза чаще по сравнению с мальчиками (11 против 5; $p = 0,034$). Среднее значение ПТГ у спортсменов с ВГПТ — 10,2 пмоль/л с индивидуальными колебаниями от 9,3 до 11,4 пмоль/л. Средние значения уровня ПТГ у спортсменов в отдельных видах спорта оказались сопоставимы ($p = 0,14$; рис. 1)

Повышение ПТГ выявлено у спортсменов в таких видах спорта, как художественная гимнастика (4 человека), бокс (3 человека), спортивная борьба, синхронное плавание, фигурное катание, софтбол (2 человека) и волейбол (1 человек).

В дальнейшем нами проведена оценка показателей, характеризующих состояние фосфорно-кальциевого обмена и метаболизма костной ткани.

Значения уровня общего кальция ($p = 0,351$), фосфора ($p = 0,692$) и магния ($p = 0,751$) сыворотки крови у юных спортсменов с ВГПТ и у сверстников с нормальным уровнем ПТГ оказались сопоставимы (табл. 1).

У юных спортсменов с ВГПТ выявлено статистически значимое снижение уровня 25(OH)D₃ по сравнению с контрольной группой ($p = 0,0002$; табл. 1). Распространенность дефицита витамина D в группе юных спортсменов с ВГПТ оказалась статистически значимо выше по сравнению со сверстниками с нормальным уровнем ПТГ ($p = 0,021$; рис. 2). Нормального уровня витамина D у юных спортсменов с ВГПТ не выявлено.

Таблица 1. Клиническая характеристика исследуемых подгрупп

	Группа ВГПТ	Группа сравнения (с нормальным уровнем ПТГ)	<i>p</i>
Количество, <i>n</i>	16	511	–
Пол: м/д	5/11	254/273	0,021
Возраст	15,0 [14,1;16,2]	15,2 [14,2;16,5]	0,678
Рост, м	1,66 [1,61; 1,7]	1,72 [1,65; 1,79]	0,124
Вес, кг	57 [48,0; 69,0]	52 [45; 65]	0,632
Половое развитие:			
Таннер 1	–	6 (1%)	–
Таннер 2–3	7 (43%)	67 (13)	0,001
Таннер 4–5	9 (57%)	438 (86%)	0,001

Недостаточность витамина D регистрируется в группе ВГПТ и контрольной группах в 19 и 42,2% случаев соответственно ($p = 0,072$).

При оценке маркеров костного метаболизма у спортсменов с ВГПТ выявлено повышение маркеров костной резорбции по сравнению с группой сравнения (табл. 1). Медиана β -CrossLaps у юных спортсменов с ВГПТ составила 1,71 нг/мл, а максимальные значения достигали 2,6 нг/мл. В группе ВГПТ также выявлено повышение активности ЩФ (208,1 против 155,1 Ед./л; $p = 0,037$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Распространенность ВГПТ у юных спортсменов в данном исследовании составила 3%. При этом у 81% юных атлетов с повышенным уровнем ПТГ диагностирован дефицит витамина D. В доступной литературе нами не найдено аналогичных работ по оценке частоты ВГПТ в спорте высших достижений. Однако, учитывая высокую

распространенность гиповитаминоза D у спортсменов в различных видах спорта, продемонстрированную в большом количестве исследований [2–4], можно предположить, что проблема ВГПТ в профессиональном спорте имеет системный характер.

Известно, что развитие ВГПТ является результатом патологической стимуляции избыточной продукции ПТГ оксалоэстроидными железами. Выделяют уреимические и неуреимические этиологические варианты ВГПТ. Под уреимическим ВГПТ подразумевают гиперсекрецию ПТГ, развивающуюся на фоне хронической болезни почек [7]. Данный вариант ВГПТ не характерен для высококвалифицированных спортсменов. К подгруппе неуреимических причин относят прежде всего дефицит витамина D или нарушение его метаболизма (снижение активности кальцийчувствительных (CaSR) и витамин-D-чувствительных (VDR) рецепторов в оксалоэстроидных железах; резистентность костной ткани к кальциемическому эффекту ПТГ или фактору роста фибробластов 23 (FGF-23) [7].

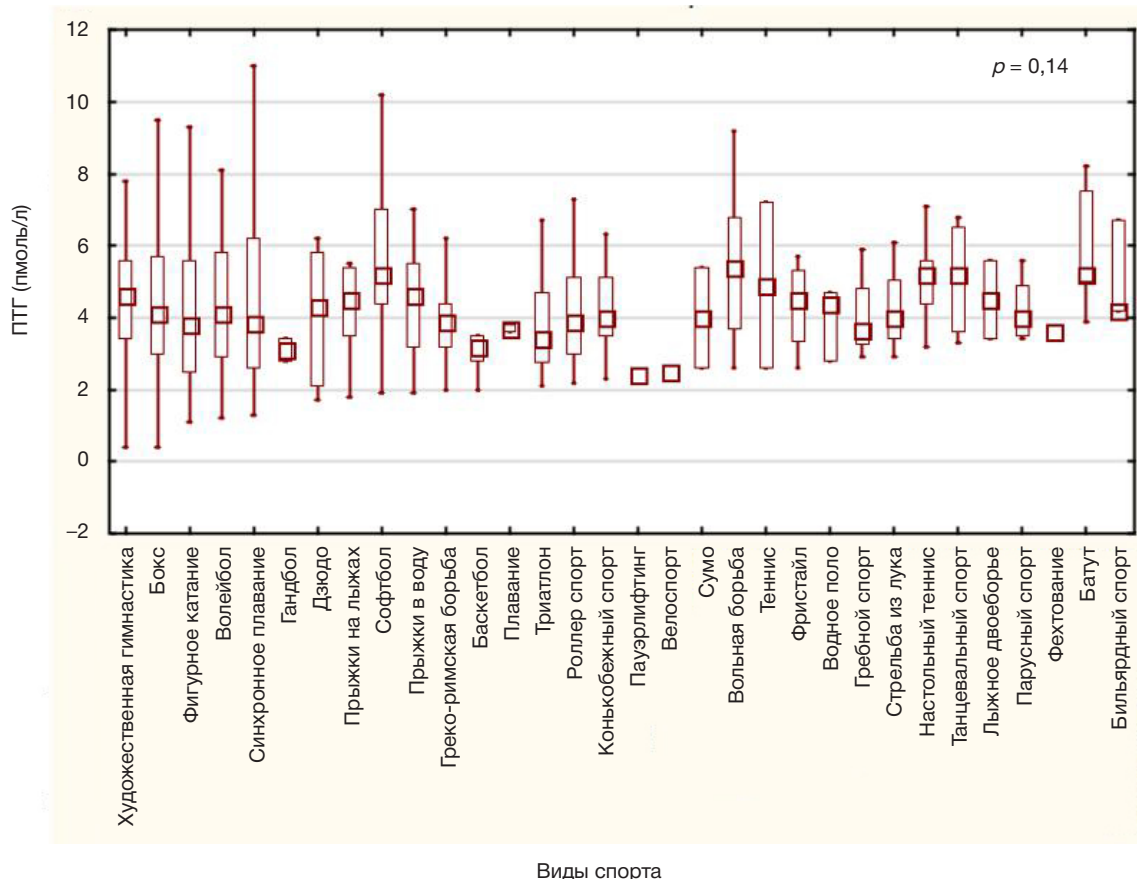


Рис. 1. Уровни паратиреоидного гормона у юных спортсменов в отдельных видах спорта

Таблица 2. Параметры фосфорно-кальциевого обмена и маркеры метаболизма костной ткани у юных высококвалифицированных спортсменов в зависимости от наличия вторичного гиперпаратиреоза

	Группа ВГПТ <i>n</i> = 16	Группа сравнения (с нормальным уровнем ПТГ) <i>n</i> = 511	<i>p</i>
Кальций общий, ммоль/л	2,48 [2,43; 2,58]	2,52 [2,46; 2,58]	0,351
Фосфор, ммоль/л	1,47 [1,45; 1,54]	1,42 [1,28; 1,58]	0,692
Магний, ммоль/л	0,80 [0,77; 0,84]	0,80 [0,77; 0,85]	0,751
Щелочная фосфатаза общая, Ед./л	208,1 [147,0; 270,0]	155,1 [103,4; 227,9]	0,037
β-CrossLaps, нг/мл	1,71 [1,17; 2,36]	1,34 [0,92; 1,99]	0,042
ПТГ, пмоль/л	10,2 [9,3; 11,1]	4,1 [3,2; 5,4]	<0,0001
25(ОН)D3, нг/мл	15,6 [12,3; 19,3]	21,5 [17,0; 26,7]	0,0002

Гиповитаминоз D приводит к уменьшению всасывания кальция в кишечнике и, как следствие, создает условия для развития гипокальциемии. В ответ на это активируются ПТГ-ассоциированные механизмы, направленные на стимуляцию остеокластической резорбции костной ткани с высвобождением кальция и фосфатов, а также увеличивающие реабсорбцию кальция в дистальных канальцах почек [8]. Повышение резорбции костной ткани при ВГПТ опосредовано в том числе действием активного метаболита витамина D — 1,25(ОН)2D3, способного индуцировать экспрессию TNFα-подобного фактора RANKL (рецептор-активатор лиганда NF-κB), активирующего остеокласты, из хондроцитов, остеобластов и остеоцитов. Кроме того, 1,25(ОН)2D3 модулирует экспрессию факторов, регулирующих минерализацию, таких как Spp1 (остеопонтин), MGP (белок матрикса gla), ENPP1 (эктонуклеотид-пирофосфатазная фосфодиэстераза 1) и ENPP2, а также ANK (прогрессирующий анкилозный белок) и ALPL (кишечная ЩФ) [9].

Таким образом, дефицит витамина D приводит к повышению секреции ПТГ для поддержания гомеостаза кальция, что происходит за счет увеличения интенсивности резорбтивных процессов в костной ткани. Вышеописанные механизмы приводят к снижению минеральной плотности костной ткани (МПКТ), в том числе у детей и подростков. По данным группы корейских авторов, проанализировавших состояние костной ткани у 1063 подростков, повышение

уровня 25(ОН)D3 связано с достоверным повышением Z-критерия МПКТ в поясничном отделе позвоночника и головке бедренной кости [10].

Метаанализ, включивший более 7500 детей из 23 исследований, продемонстрировал, что снижение уровня 25(ОН)D3 < 20 нг/мл связано с повышением риска переломов [11].

Именно ВГПТ является одним из основных механизмов, посредством которых дефицит витамина D может вносить вклад в патогенез низкоэнергетических переломов [4, 5].

Однако порог (точка отсечения) для 25(ОН)D3, при котором ПТГ явно начинает повышаться, остается неясным [12]. Отмечается высокая вариабельность уровня 25(ОН)D3, при котором происходит снижение уровня ПТГ [13]. По одним данным, концентрации ПТГ в сыворотке начинают снижаться, когда уровни 25(ОН)D3 повышаются до 15–20 нг/мл и максимально подавляются при значениях 30–40 нг/мл [14, 15]. По другим, пороговое значение уровня 25(ОН)D3 в сыворотке крови, равное 30 нг/мл, необходимо для предотвращения ВГПТ и снижения минеральной плотности костной ткани [16]. Эти данные противоречат результатам, продемонстрировавшим, что уровни ПТГ достигают «плато» при показателе 25(ОН)D3, равном 17 нг/мл [17]. По данным ROC-анализа у взрослых установлено пороговое значение 25(ОН)D3 для сохранения здоровья костной ткани, равное 12 нг/мл [18]. Однако все указанные исследования проводили на взрослой

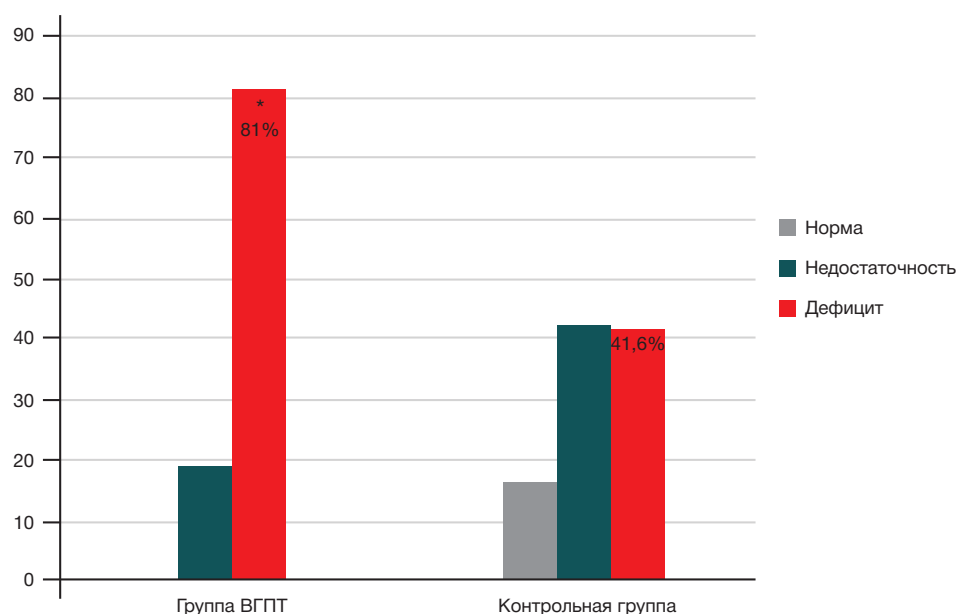


Рис. 2. Обеспеченность витамином D в исследуемых группах. * — *p* = 0,021

популяции с обычным уровнем физической активности, и их нельзя с уверенностью экстраполировать на когорту высококвалифицированных спортсменов.

Данные о референтных уровнях ПТГ у спортсменов противоречивы. Ряд авторов указывают на повышение уровня ПТГ у спортсменов по сравнению со сверстниками с обычным уровнем физической активности. Однако в других исследованиях показано, что концентрация ПТГ не изменяется или увеличивается во время физических нагрузок [19–21].

Для ВГПТ на фоне дефицита витамина D характерны нормальный или низконормальный уровень кальция и снижение уровня фосфора [4]. В нашем исследовании развитие ВГПТ у юных спортсменов также не сопровождалось нарушением фосфорно-кальциевого обмена.

По результатам проведенного исследования у юных спортсменов с ВГПТ выявлено повышение уровня β -CrossLaps и общей ЩФ, что отражает активность процессов костной резорбции. Однако в группе с ВГПТ 43% юных спортсменов имели незавершенное половое развитие, для которого характерен активный метаболизм в костной ткани. Таким образом выявленные различия в течения пубертата могут объяснять увеличение маркеров костного метаболизма в группе юных спортсменов с ВГПТ. При оценке маркеров костного метаболизма у детей и подростков следует учитывать, что в детском возрасте отмечается выраженный дисбаланс между остеорезорбтивными и остеосинтетическими процессами в связи с активными процессами роста костной ткани. Указанные возрастные особенности объясняют более высокие значения маркеров костного метаболизма у детей по сравнению со взрослыми.

При исследовании уровней β -CrossLaps у юных высококвалифицированных спортсменов продемонстрировано повышение данного показателя во всех возрастных группах, особенно у 14–15-летних спортсменов (рис. 1). Средние показатели β -CrossLaps у спортсменов в 2–3 раза превышают нормативные показатели для лиц с повседневным уровнем физической активности [22]. Авторы объясняют повышение данного маркера анаболической направленностью метаболических процессов в организме юных спортсменов. При оценке в зависимости от характера спортивной деятельности в данной работе также было продемонстрировано, что максимальные значения β -CrossLaps выявляются у представителей спортивных единоборств и игровых видов спорта, а средние значения β -CrossLaps у юношей выше, чем у девушек [22].

В клинической практике для диагностики нарушений ремоделирования костной ткани широко используют

показатель ЩФ. Для оценки костного метаболизма целесообразно определять кислую ЩФ, так как только этот изофермент принимает участие в минерализации костного матрикса и отражает метаболическую активность остеобластов. По данным литературы, концентрация костной ЩФ коррелирует с уровнем ионизированного кальция крови, а динамика ее содержания в крови характеризует изменение состояния МПКТ [23, 24]. Повышение общей ЩФ неспецифично и может определяться при различных состояниях, включая некоторые опухоли или заболевания гепато-билиарной системы.

Таким образом, клиническая оценка и интерпретация маркеров костного метаболизма у юных высококвалифицированных спортсменов затруднительны и в настоящее время не позволяют использовать их в качестве надежных биомаркеров нарушений ремоделирования костной ткани.

Важным ограничением данного исследования является время года, когда проводили забор крови на определение 25(OH)D3. Именно весной отмечается наиболее широкое развитие гиповитаминоза D, что могло повлиять на низкую обеспеченность витамином D в исследуемой когорте. Также отсутствуют данные о приеме колекальциферола и других биологически активных добавок юными спортсменами на момент забора крови.

Выявленные изменения маркеров метаболизма костной ткани (β -CrossLaps и общей щелочной фосфатазы) в исследуемых подгруппах могут быть обусловлены процессами роста детей и особенностями физических нагрузок в отдельных видах спорта, что не позволяет объективно оценить вклад ВГПТ в вариабельность данных показателей.

ВЫВОДЫ

ВГПТ на фоне гиповитаминоза D у юных высококвалифицированных спортсменов выявляется в 3% случаев и чаще встречается у девочек, чем у мальчиков. Развитие ВГПТ не приводит к изменению показателей фосфорно-кальциевого обмена, однако сопровождается повышением маркеров костной резорбции — β -CrossLaps и общей ЩФ. Многие аспекты, связанные с дефицитом витамина D при ВГПТ, в настоящее время не изучены, а клинические рекомендации по заместительной терапии колекальциферолом у юных спортсменов отсутствуют. Необходимо проведение крупных клинических исследований для определения оптимальных пороговых уровней 25(OH)D3 и эффективных схем лечения у юных спортсменов с ВГПТ на фоне гиповитаминоза D.

Литература

- Захарова И. Н., Мальцев С. В., Боровик Т. Э., и др. Результаты многоцентрового когортного исследования «РОДНИЧОК» по изучению недостаточности витамина D у детей раннего возраста в России. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2015; 94 (1): 62–67.
- Столярова С. А., Окорочков П. Л., Зябкин И. В., Исаева Е. П. Оценка обеспеченности витамином D юных спортсменов. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2023; 102 (5): 116–21. DOI: 10.24110/0031-403X-2023-102-5-116-121.
- Мельниченко Г. А., Намазова-Баранова Л. С., Громова О. А., и др. Профилактика и лечение дефицита витамина D: выбор оптимального подхода. Вопросы современной педиатрии. 2021; 20 (4): 338–45. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.15690/vsp.v20i4.2246>.
- Древаль А. В. Остеопороз, гиперпаратиреоз и дефицит витамина D. Руководство. «ГЭОТАР-Медиа», 2019; 160 с.
- Owens DJ, Fraser WD, Close GL. Vitamin D and the athlete: emerging insights. Eur J Sport Sci. 2015; 15 (1): 73–84. DOI:

- 10.1080/17461391.2014.944223.
6. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза МЗ РФ. Проблемы эндокринологии. 2018; 63 (6): 392–426. DOI: 10.14341/probl2017636392-426.
 7. Мокрышева Н. Г., Еремкина А. К., Мирная С. С., и др. Трудности дифференциальной диагностики между первичной и вторичной формами гиперпаратиреоза. Ожирение и метаболизм. 2017; 14 (3): 48–53. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.14341/omet2017348-53>.
 8. Qing H, Ardeshirpour L, Pajevic PD, et al. Demonstration of osteocytic perilacunar/canalicular remodeling in mice during lactation. *J Bone Miner Res.* 2012; 27 (5): 1018–29.
 9. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101 (2): 394–415.
 10. Song K, Kwon A, Chae HW, et al. Vitamin D status is associated with bone mineral density in adolescents: Findings from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Nutr Res.* 2021; 87: 13–21. DOI: 10.1016/j.nutres.2020.12.011.
 11. Yang G, Lee WYW, Hung ALH, et al. Association of serum 25(OH) Vit-D levels with risk of pediatric fractures: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2021 ; 32 (7): 1287–300. DOI: 10.1007/s00198-020-05814-1.
 12. Manson JE, Brannon PM, Rosen CJ, Taylor CL. Vitamin D Deficiency — Is There Really a Pandemic? *N Engl J Med.* 2016; 375: 1817–20. Available from: <https://doi.org/10.1056/nejmp1608005>.
 13. Sai AJ, Walters RW, Fang X, Gallagher JC. Relationship between Vitamin D, Parathyroid Hormone, and Bone Health. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96 (3): E436–E446. Available from: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1886>.
 14. Ginde AA, Wolfe P, Camargo CA, Schwartz RS. Defining vitamin D status by secondary hyperparathyroidism in the U.S. population. *J Endocrinol Invest.* 2012; 35: 42–48. Available from: <https://doi.org/10.3275/7742>.
 15. Monk RD, Bushinsky DA. Making Sense of the Latest Advice on Vitamin D Therapy. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22 (6): 994–8. Available from: <https://doi.org/10.1681/ASN.2011030251>.
 16. Olmos JM, Hernández JL, García-Velasco P, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium intake, and bone mineral density in Spanish adults. *Osteoporos Int.* 2016; 27 (1): 105–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3219-6>.
 17. Shen M, Li Z, Lv D, et al. Seasonal variation and correlation analysis of vitamin D and parathyroid hormone in Hangzhou, Southeast China. *J Cell Mol Med.* 2020; 24 (13): 7370–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/jcmm.15330>.
 18. Al Quaiž AM, Mujammami M, Kazi A, et al. Vitamin D cutoff point in relation to parathyroid hormone: a population based study in Riyadh city, Saudi Arabia. *Arch Osteoporos.* 2019; 14 (1): 22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11657-019-0565-6>.
 19. Caroli B, Pasin F, Aloe R, et al. Characterization of skeletal parameters in a cohort of North Italian rugby players. *J Endocrinol Invest.* 2014; 37 (7): 609–17.
 20. Brzeziański M, Migdalska-Sęk M, Stuss M, et al. Effect of physical training on parathyroid hormone and bone turnover marker profile in relation to vitamin D supplementation in soccer players. *Biology of Sport.* 2022; 39 (4): 921–32. DOI: 10.5114/biolsport.2022.109956.
 21. Solarz K, Kopeć A, Pietraszewska J, et al. An evaluation of the levels of 25-hydroxyvitamin D3 and bone turnover markers in professional football players and in physically inactive men. *Physiol Res.* 2014; 63 (2): 237–43.
 22. Ключников С. О., Кравчук Д. А., Оганнисян М. Г. Остеопороз у детей и его актуальность для детской спортивной медицины. *Рос вестн перинатол и педиатр.* 2017; 62 (3): 112–20. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-112-120.
 23. Wyatt PB, Reiter CR, Satalich JR, et al. Effects of Vitamin D Supplementation in Elite Athletes: A Systematic Review. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine.* 2024; 12 (1). DOI: 10.1177/23259671231220371.
 24. Thode J, et al. Comparison of serum total calcium, albumin-corrected total calcium, and ionized calcium in 1213 patients with suspected calcium disorders. *Scand J Clin. Lab Invest England.* 1989; 49 (3): 217–23.

References

1. Zaharova IN, Malcev SV, Borovik TYe, i dr. Rezul'taty mnogocentrovogo kogortnogo issledovanija «RODNICHOK» po izucheniju nedostatocnosti vitamina D u detej rannego vozrasta v Rossii. *Pediatrija. Zhurnal im. G.N. Speranskogo* 2015; 94 (1): 62–67. Russian.
2. Stoljarova SA, Okorokov PL, Zjabkin IV, Isaeva EP. Ocenka obespechennosti vitaminom D junyh sportsmenov. *Pediatrija. Zhurnal im. G.N. Speranskogo* 2023; 102 (5): 116–21. DOI: 10.24110/0031-403X-2023-102-5-116-121. Russian.
3. Melnichenko GA, Namazova-Baranova LS, Gromova OA, i dr. Profilaktika i lechenie deficita vitamina D: vybor optimal'nogo podhoda. *Voprosy sovremennoj pediatrii.* 2021; 20 (4): 338–45. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.15690/vsp.v20i4.2246>. Russian.
4. Dreval AV. Остеопороз, гиперпаратиреоз и дефицит витамина D. *Руководство. «GJeOTAR-Media», 2019; 160 s.* Russian.
5. Owens DJ, Fraser WD, Close GL. Vitamin D and the athlete: emerging insights. *Eur J Sport Sci.* 2015; 15 (1): 73–84. DOI: 10.1080/17461391.2014.944223.
6. Federal'nye klinicheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniju i profilaktike osteoporoz MZ RF. *Problemy jendokrinologii.* 2018; 63 (6): 392–426. DOI: 10.14341/probl2017636392-426. Russian.
7. Mokrysheva NG, Eremkina AK, Mirnaja SS, i dr. Trudnosti differencial'noj diagnostiki mezhdju pervichnoj i vtorichnoj formami giperparatireoz. *Ozhirenie i metabolismm.* 2017; 14 (3): 48–53. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.14341/omet2017348-53>. Russian.
8. Qing H, Ardeshirpour L, Pajevic PD, et al. Demonstration of osteocytic perilacunar/canalicular remodeling in mice during lactation. *J Bone Miner Res.* 2012; 27 (5): 1018–29.
9. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101 (2): 394–415.
10. Song K, Kwon A, Chae HW, et al. Vitamin D status is associated with bone mineral density in adolescents: Findings from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Nutr Res.* 2021; 87: 13–21. DOI: 10.1016/j.nutres.2020.12.011.
11. Yang G, Lee WYW, Hung ALH, et al. Association of serum 25(OH) Vit-D levels with risk of pediatric fractures: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2021 ; 32 (7): 1287–300. DOI: 10.1007/s00198-020-05814-1.
12. Manson JE, Brannon PM, Rosen CJ, Taylor CL. Vitamin D Deficiency — Is There Really a Pandemic? *N Engl J Med.* 2016; 375: 1817–20. Available from: <https://doi.org/10.1056/nejmp1608005>.
13. Sai AJ, Walters RW, Fang X, Gallagher JC. Relationship between Vitamin D, Parathyroid Hormone, and Bone Health. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96 (3): E436–E446. Available from: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1886>.
14. Ginde AA, Wolfe P, Camargo CA, Schwartz RS. Defining vitamin D status by secondary hyperparathyroidism in the U.S. population. *J Endocrinol Invest.* 2012; 35: 42–48. Available from: <https://doi.org/10.3275/7742>.
15. Monk RD, Bushinsky DA. Making Sense of the Latest Advice on Vitamin D Therapy. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22 (6): 994–8. Available from: <https://doi.org/10.1681/ASN.2011030251>.
16. Olmos JM, Hernández JL, García-Velasco P, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium intake, and bone mineral density in Spanish adults. *Osteoporos Int.* 2016; 27 (1): 105–13. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3219-6>.
17. Shen M, Li Z, Lv D, et al. Seasonal variation and correlation analysis of vitamin D and parathyroid hormone in Hangzhou, Southeast China. *J Cell Mol Med.* 2020; 24 (13): 7370–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/jcmm.15330>.

- <https://doi.org/10.1111/jcmm.15330>.
18. Al Quaiz AM, Mujammami M, Kazi A, et al. Vitamin D cutoff point in relation to parathyroid hormone: a population based study in Riyadh city, Saudi Arabia. *Arch Osteoporos*. 2019; 14 (1): 22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11657-019-0565-6>.
 19. Caroli B, Pasin F, Aloe R, et al. Characterization of skeletal parameters in a cohort of North Italian rugby players. *J Endocrinol Invest*. 2014; 37 (7): 609–17.
 20. Brzeziński M, Migdalska-Sęk M, Stuss M, et al. Effect of physical training on parathyroid hormone and bone turnover marker profile in relation to vitamin D supplementation in soccer players. *Biology of Sport*. 2022; 39 (4): 921–32. DOI: 10.5114/biolsport.2022.109956.
 21. Solarz K, Kopeć A, Pietraszewska J, et al. An evaluation of the levels of 25-hydroxyvitamin D3 and bone turnover markers in professional football players and in physically inactive men. *Physiol Res*. 2014; 63 (2): 237–43.
 22. Ključnikov SO, Kravchuk DA, Ogannisjan MG. Osteoporoz u detej i ego aktual'nost' dlja detskoj sportivnoj mediciny. *Ros vestn perinatol i pediatr*. 2017; 62 (3): 112–20. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-112-120. Russian.
 23. Wyatt PB, Reiter CR, Satalich JR, et al. Effects of Vitamin D Supplementation in Elite Athletes: A Systematic Review. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*. 2024; 12 (1). DOI: 10.1177/23259671231220371.
 24. Thode J, et al. Comparison of serum total calcium, albumin-corrected total calcium, and ionized calcium in 1213 patients with suspected calcium disorders. *Scand J Clin. Lab Invest England*. 1989; 49 (3): 217–23.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ В ДЕТСКО-ЮНОШЕСКОМ СПОРТЕ ВЫСШИХ ДОСТИЖЕНИЙ

Е. П. Исаева^{1,3,4}✉, П. Л. Окорочков^{1,2}, И. В. Зябкин^{1,3}

¹ Федеральный научно-клинический центр детей и подростков Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

³ Медико-биологический университет инноваций и непрерывного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России

⁴ ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Россия

Железодефицитная анемия (ЖДА) составляет 90% от всех анемий в детском возрасте. Физиологическая значимость железа для организма человека высока, поэтому нарушения его обмена могут иметь негативные последствия. В настоящее время в Российской Федерации (РФ) отсутствуют достоверные статистические данные о распространенности железодефицитных состояний у элитных юных спортсменов. Целью работы было оценить распространенность ЖДА и латентного дефицита железа (ЛДЖ) у юных элитных спортсменов. Проведен ретроспективный анализ 802 амбулаторных карт членов сборных спортивных команд РФ в возрасте 13–18 лет (средний возраст — 15,4 ± 2,1 лет; 434 (54,1%) девочки, 368 (45,9%) — мальчиков) по 17 видам спорта, прошедших углубленное медицинское обследование, в том числе исследование общеклинического анализа крови и уровня сывороточного железа. ЖДА диагностирована у 43 юных элитных спортсменов, что составило 5,4% обследованных. Частота выявления ЖДА у девушек статистически значительно превышает таковую у юношей (8,9% и 1,1% соответственно; $p = 0,0001$). Распространенность ЖДА в игровых видах спорта статистически значимо выше по сравнению с другими группами спорта. ЛДЖ зафиксирован у 186 спортсменов (23,2%). ЛДЖ реже встречается у представителей циклических видов спорта и не имеет гендерных особенностей. Выводы: у юных элитных спортсменов отмечается умеренная распространенность ЖДА (> 5%). Однако у каждого пятого атлета выявляется ЛДЖ, что ставит вопрос о необходимости тщательного обследования для своевременного скрининга и коррекции железодефицитных состояний в детско-юношеском спорте высших достижений.

Ключевые слова: дети, железодефицитная анемия, латентный дефицит железа, юные спортсмены, спортивная медицина

Вклад авторов: Е. П. Исаева — разработка протокола исследования, сбор материала, обработка и интерпретация результатов, подготовка рукописи; П. Л. Окорочков — сбор материала, интерпретация результатов, редактирование текста; И. В. Зябкин — утверждение протокола исследования, редактирование текста.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом при АНО ДПО «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Гааза» (протокол № 4 от 04 октября 2021 г.). Родители/опекуны или законные представители спортсменов подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Елена Петровна Исаева
ул. Москворечье, д. 20, г. Москва, 115409, Россия; dora7474@mail.ru

Статья получена: 16.04.2024 **Статья принята к печати:** 31.05.2024 **Опубликована онлайн:** 27.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.024

PREVALENCE OF IRON DEFICIENCY IN ADOLESCENT HIGH PERFORMANCE SPORTS

Isaeva EP^{1,3,4}✉, Okorokov PL^{1,2}, Zyabkin IV^{1,3}

¹ Federal Scientific and Clinical Center for Children and Adolescents of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

² The National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow, Russia

³ Medical and Biological University of Innovation and Continuing Education of the Federal Medical Biophysical Center named after A. I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia

⁴ Russian University of Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

In children, 90% of all anemia cases are due to iron deficiency. Iron is an essential element so iron metabolism disorders have negative consequences for health. Currently, there are no reliable statistical data on the prevalence of iron deficiency in elite young athletes in the Russian Federation (RF). The aim of this study was to evaluate the prevalence of iron deficiency anemia (IDA) and latent iron deficiency (LID) in young elite athletes. We retrospectively analyzed 802 outpatient records of members of the Russian national sport teams aged 13–18 (mean age is 15.4 ± 2.1 years; 434 (54.1%) girls, 368 (45.9%) boys) in 17 sports, who underwent in-depth medical examination including clinical blood tests and serum iron level assays. IDA was diagnosed in 43 young elite athletes (5.4% of all examined athletes). The prevalence of IDA in female adolescents was significantly higher than in male adolescents (8.9% and 1.1%, respectively; $p = 0.0001$). The prevalence of LID in game sports was significantly higher compared to the other sports. LID was recorded in 186 athletes (23.2%). LID was less common in cyclic sports and was not gender dependent. It can be concluded that young elite athletes have a moderate prevalence of IDA (> 5%). However, since LID was diagnosed in 20% of the athletes, it may be necessary to perform thorough examination for timely screening and correction of iron deficiency in adolescent high performance sports.

Keywords: children, iron deficiency anemia, latent iron deficiency, young athletes, sports medicine

Author contribution: Isaeva EP — development of the study protocol, collection of data, processing and interpretation of results, manuscript writing; Okorokov PL — collection of data, interpretation of results, manuscript editing; Zyabkin IV — approval of the study protocol, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethical Committee of the Moscow Medico-Social Institute named after F.P. Gaaz (Protocol No. 4 dated October 04, 2021). Parents/guardians or legal representatives of athletes signed a voluntary consent to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena P. Isaeva
Moskvorechye, 20, 115409, Moscow, Russia; dora7474@mail.ru

Received: 16.04.2024 **Accepted:** 31.05.2024 **Published online:** 27.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.024

Дефицит железа остается наиболее часто встречающимся нутриентным дефицитом в мире [1]. Возникновение железодефицита в организме связано с нарушением поступления, усвоения или повышенных потерь данного микроэлемента и характеризуется микроцитозом и развитием гипохромной анемии [2]. Железо участвует в работе ферментативных систем, входит в структуру белков, обеспечивающих аэробный метаболизм, относится к эссенциальным микроэлементам, а также обеспечивает окислительно-восстановительный гомеостаз организма [3]. Учитывая физиологическую значимость железа для организма, нарушения его обмена у спортсменов могут иметь негативные последствия в виде снижения физической работоспособности, ограничения возможностей оперативного восстановления, снижения тонуса скелетной мускулатуры [4, 5]. В настоящее время в Российской Федерации (РФ) отсутствуют достоверные статистические данные о распространенности железодефицитных состояний у юных элитных спортсменов.

Цель данного исследования — оценить распространенность железодефицитной анемии и латентного дефицита железа у юных высококвалифицированных спортсменов в РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное одноцентровое неконтролируемое исследование. В исследование были включены юные спортсмены спортивных сборных команд РФ, проходившие углубленное медицинское обследование в ФГБУ «ФНКЦ детей и подростков ФМБА России» в период с 2019–2022 гг.

Критерии включения в исследование: возраст до 18 лет; отсутствие терапии препаратами железа в течение трех месяцев до проведения исследования.

Критерии исключения: наличие хронических заболеваний крови.

Всем юным спортсменам однократно провели исследование общего анализа крови и определение уровня сывороточного железа. Исследование общеклинического анализа крови выполняли на гематологическом анализаторе Sysmex XN-350 (Sysmex Corporation; Япония) с определением уровня гемоглобина. Биохимическое исследование крови проводилось на автоматическом анализаторе Indiko Plus (Thermo Fisher Scientific; США) и включало определение уровня сывороточного железа. Железодефицитную анемию (ЖДА) диагностировали при снижении уровня гемоглобина до значений <120 г/л для девушек и 130 г/л для юношей в сочетании со снижением уровня сывороточного железа до значений <10,7 мкмоль/л

[6]. Латентный дефицит железа (ЛДЖ) диагностировали при снижении уровня сывороточного железа до значений <10,7 мкмоль/л [6].

Всех участников исследования разделили на шесть подгрупп в зависимости от основных закономерностей соревновательной и тренировочной деятельности: игровые, циклические, сложно-координационные, скоростно-силовые виды спорта, спортивные единоборства и спортивные многоборья.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в исследование включили 802 юных спортсмена (368 мальчиков (45,9%), 434 девочки (54,1%)) в возрасте 13–18 лет (средний возраст $15,4 \pm 2,1$ лет) по 17 видам спорта. ЖДА диагностировали у 43 юных элитных спортсменов, что составило 5,4% обследованных (см. таблицу). Частота выявления ЖДА у девочек оказалась выше, чем у мальчиков (8,9% и 1,1% соответственно; $p = 0,0001$). Распространенность ЖДА в игровых видах спорта статистически была достоверно выше по сравнению с другими группами спорта (таблица).

ЛДЖ диагностировали у 186 спортсменов, что составило 23,1% от всех обследуемых. Реже ЛДЖ встречается у представителей циклических видов спорта. Не выявлено гендерных различий в распространенности ЛДЖ у юных высококвалифицированных спортсменов (20,9% у мальчиков по сравнению с 25,2% у девочек; $p = 0,237$). В ходе проведения исследования нежелательных явлений не зафиксировано.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дефицит железа занимает первое место среди 38 распространенных заболеваний человека [7]. Основными причинами развития железодефицитных состояний у детей являются алиментарный дефицит железа, повышенная потребность организма в данном микроэлементе в связи с прибавкой массы тела и быстрыми темпами роста ребенка, сниженная абсорбция микроэлемента, поражения гельминтозами, потерями железа из организма, превышающими физиологические (кровопотери из-за кровотечений различной локализации и т. д.) [2]. Развитие железодефицитных состояний у спортсменов является результатом интенсивных физических нагрузок, сопровождающихся возрастанием потерь железа с мочой и через желудочно-кишечный тракт, а также особенностями питания (вегетарианские диеты, общее уменьшение

Таблица. Распространенность железодефицитной анемии и латентного дефицита железа у высококвалифицированных спортсменов в зависимости от характера спортивной деятельности

Группа спорта	ЛДЖ	ЖДА
Группа спортивных единоборств ($n = 332$)	22,9% (76)	3,6% (12)
Игровые виды спорта ($n = 183$)	21,9% (40)	8,2% (15)
Спортивные многоборья ($n = 14$)	35,7% (5)	–
Скоростно-силовые виды спорта ($n = 1$)	–	–
Сложно-координационные виды спорта ($n = 237$)	25,3% (60)	5,9%(14)
Циклические виды спорта ($n = 35$)	14,3% (5)	5,7%(2)
p	$p_{1-6} = 0,032$ $p_{2-6} = 0,028$ $p_{3-6} = 0,123$ $p_{5-6} = 0,037$	$p_{1-2} = 0,012$ $p_{5-2} = 0,034$ $p_{6-2} = 0,043$
Всего:	23,1% (186)	5,4% (43)

калорийности рациона с целью снижения веса на фоне расстройств пищевого поведения) [8].

Железо является структурным компонентом белков, участвует в работе ферментативных систем, обеспечивающих клеточный и системный аэробный метаболизм, окислительно-восстановительный гомеостаз организма [4]. С участием железа в организме осуществляется транспорт цитохромов, железосеропротеидов и кислорода, формируются активные центры окислительно-восстановительных ферментов [9]. В организме человека поддержание жизненно важных клеточных функций и устранение возможных повреждений клеток осуществляется за счет регуляции метаболизма железа, который обеспечивает его всасывание, транспорт и депонирование в нетоксичной форме [10]. Являясь катализатором реакций окисгенирования и гидроксилрования, железо участвует в продукции и удалении свободных радикалов, в процессах пролиферации тканей и иммунной защиты, в развитии и нормальных функциях головного мозга. [11]. В составе гемоглобина железо участвует в транспорте кислорода, в составе миоглобина — в переносе и обеспечении кислородных резервов в мышцах, в составе цитохромов дыхательной цепи — в процессах аэробного образования энергии во всех клетках организма. В связи с такой физиологической ролью железа, нарушения его обмена у спортсмена имеют непосредственные негативные последствия в отношении профессиональных возможностей [5].

Развитие дефицита железа в организме человека имеет четкую стадийность. Выделяют последовательно развивающиеся стадии: ЛДЖ, характеризующийся снижением запасов железа в депо и начинающимся железodefицитным эритропозом, и ЖДА, для которой характерно сочетание сидеропенического и анемического синдромов.

В настоящее время в РФ отсутствуют достоверные статистические данные о распространенности железodefицитных состояний у элитных юных спортсменов. По данным зарубежных исследований, распространенность дефицита железа у женщин-спортсменок варьирует от 15 до 35%; у мужчин — от 3 до 11% [4]. По результатам нашей работы показано, что ЖДА у юных

высококвалифицированных спортсменов определяется в 5,4% случаев и у девочек встречается чаще, чем у юношей. Полученные данные соотносятся с общепопуляционными исследованиями, также демонстрирующими гендерные различия в распространенности анемических состояний у детей [6].

ЛДЖ рассматривается как функциональное нарушение и составляет 70% от всех случаев железodefицитных состояний [12]. При анализе эпидемиологических данных выявлено, что распространенность ЛДЖ значительно варьирует и зависит от условий проживания, возраста детей, питания, социально-экономических условий в стране, а также критериев диагностики дефицита железа. По данным эпидемиологических исследований, распространенность ЛДЖ в России достигает 7,9–31% и значительно чаще встречается у девочек, по сравнению с мальчиками. Наиболее значимыми причинами развития ЛДЖ являются нарушения питания и кровотечения различной локализации [13]. Полученные нами результаты показывают, что распространенность ЛДЖ у юных спортсменов соответствует общепопуляционной, однако не имеет гендерных различий. Уменьшение количества железа в организме спортсменов может сопровождаться снижением физической работоспособности, нарушениями адаптации к высоким и интенсивным нагрузкам сердечно-сосудистой, дыхательной и центральной нервной системы, развитием иммунодефицитных состояний [14]. Данный комплекс физиологических изменений резко ограничивает профессиональные возможности спортсменов и снижает возможность достижения ими высоких результатов.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование свидетельствует о высокой распространенности ЛДЖ у юных высококвалифицированных спортсменов независимо от пола. Своевременная коррекция дефицита железа является важнейшим средством профилактики в условиях напряженных тренировочных и соревновательных нагрузок. Необходимы дальнейшие исследования для разработки методов коррекции сидеропенических состояний у юных спортсменов.

Литература

1. UNICEF. Non-communicable diseases. April 2021. In: UNICEF for every child. Available online: <https://data.unicef.org/topic/child-health/noncommunicable-diseases>. Accessed on Marth 30, 2022.
2. Васильева Е. В., Асланян К. С., Пискунова С. Г. Железodefицитная анемия у детей: современный взгляд гематолога. Главный врач Юга России. 2017; 3 (56): 6–10.
3. Мозговая Е. В., Прокопенко В. М., Опарина Т. И., Новикова Т. Д. Оценка клинической эффективности витаминно-минерального комплекса для профилактики осложнений беременности. Акушерство и гинекология. 2011; 4: 89–94.
4. Sim M, Garvican-Lewis LA, Cox GR, Govus A, McKay AKA, Stellingwerff T, et al. Iron considerations for the athlete: a narrative review. *Eur J Appl Physiol*. 2019; 119 (7): 1463–78. DOI: 10.1007/s00421-019-04157-y.
5. Василевский И. В. Латентный дефицит железа как фактор, лимитирующий возможности спортсмена. Материалы 1-й Российской научной конференции. «Образование, физическая культура, спорт и здоровье: анализ проблемы». Смоленск, 2012; с. 62–65.
6. Железodefицитная анемия. Клинические рекомендации. Москва, 2021 г. https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/669_1.
7. United Nations Children's Fund, United Nations University, World Health Organization. Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers 2011: 114.
8. McCormick R, Sim M, Dawson B, Peeling P. Refining Treatment Strategies for Iron Deficient Athletes. *Sports Med*. 2020; 50 (12): 2111–23. DOI: 10.1007/s40279-020-01360-2.
9. Стенникова О. В., Левчук Л. В., Санникова Н. Е. Профилактика дефицитных по витаминам и минеральным веществам состояний у детей. Вопросы современной педиатрии. 2012; 11 (1): 56–60.
10. Mattiello V, Schmutz M, Hengartner H, von der Weid N, Renella R. SPOG Pediatric Hematology Working Group. Diagnosis and management of iron deficiency in children with or without anemia: consensus recommendations of the SPOG Pediatric Hematology Working Group. *Eur J Pediatr*. 2020; 179 (4): 527–45. DOI:

- 10.1007/s00431-020-03597-5.
11. Дурманов Н. Д., Филимонов А. С. Диагностика и коррекция нарушений обмена железа в спорте высших достижений: Методические рекомендации для врачей клубов. Москва, 2010.
 12. Тарасова И. С., Чернов В. М. Латентный дефицит железа у детей и подростков: состояние проблемы и перспективы развития. Педиатрический вестник Южного Урала. 2020; 2: 24–35.
 13. Захарова И. Н., Тарасова И. С., Васильева Т. М., Боровик Т. Э., Звонкова Н. Г., Мачнева Е. Б и др. Латентный дефицит железа у детей и подростков: диагностика и коррекция. Лечение и профилактика. 2018; 8 (1): 69–75.
 14. Burden RJ, Morton K, Richards T, Whyte GP, Pedlar CR. Is iron treatment beneficial in, iron-deficient but non-anaemic (IDNA) endurance athletes? A systematic review and meta-analysis. Br J Sports Med. 2015; 49 (21): 1389–97. DOI: 10.1136/bjsports-2014-093624.

References

1. UNICEF. Non-communicable diseases. April 2021. In: UNICEF for every child. Available online: <https://data.unicef.org/topic/child-health/noncommunicable-diseases>. Accessed on Marth 30, 2022.
2. Vasileva EV, Aslanjan KS, Piskunova SG. Zhelezodeficitnaja anemija u detej: sovremennij vzgljad gematologa. Glavnyj vrach Juga Rossii. 2017; 3 (56): 6–10. Russian.
3. Mozgovaja EV, Prokopenko VM, Oparina TI, Novikova TD. Ocenka klinicheskoj jeffektivnosti vitaminno-mineral'nogo kompleksa dlja profilaktiki oslozhnenij beremennosti. Akusherstvo i ginekologija. 2011; 4: 89–94. Russian.
4. Sim M, Garvican-Lewis LA, Cox GR, Govus A, McKay AKA, Stellingwerff T, et al. Iron considerations for the athlete: a narrative review. Eur J Appl Physiol. 2019; 119 (7): 1463–78. DOI: 10.1007/s00421-019-04157-y.
5. Vasilevskij IV. Latentnyj deficit zheleza kak faktor, limitirujushhij vozmozhnosti sportsmena. Materialy 1-j Rossijskoj nauchnoj konferencii. «Obrazovanie, fizicheskaja kul'tura, sport i zdorov'e: analiz problemy». Smolensk, 2012; s. 62–65. Russian.
6. Zhelezodeficitnaja anemija. Klinicheskie rekomendacii. Moskva, 2021 g. https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/669_1. Russian.
7. United Nations Children's Fund, United Nations University, World Health Organization. Iron deficiency anemia: assessment, prevention and control. A guide for programme managers 2011: 114.
8. McCormick R, Sim M, Dawson B, Peeling P. Refining Treatment Strategies for Iron Deficient Athletes. Sports Med. 2020; 50 (12): 2111–23. DOI: 10.1007/s40279-020-01360-2.
9. Stennikova OV, Levchuk LV, Sannikova NE. Profilaktika deficitnyh po vitaminam i mineral'nym veshhestvam sostojanij u detej. Voprosy sovremennoj pediatrii. 2012; 11 (1): 56–60. Russian.
10. Mattiello V, Schmutge M, Hengartner H, von der Weid N, Renella R. SPOG Pediatric Hematology Working Group. Diagnosis and management of iron deficiency in children with or without anemia: consensus recommendations of the SPOG Pediatric Hematology Working Group. Eur J Pediatr. 2020; 179 (4): 527–45. DOI: 10.1007/s00431-020-03597-5.
11. Durmanov ND, Filimonov AS. Diagnostika i korrekcija narushenij obmena zheleza v sporte vysshih dostizhenij: Metodicheskie rekomendacii dlja vrachej klubov. Moskva, 2010. Russian.
12. Tarasova IS, Chernov VM. Latentnyj deficit zheleza u detej i podrostkov: sostojanie problemy i perspektivy razvitija. Peditricheskij vestnik Juzhnogo Urala. 2020; 2: 24–35. Russian.
13. Zaharova IN, Tarasova IS, Vasileva TM, Borovik TYe, Zvonkova NG, Machneva EB, i dr. Latentnyj deficit zheleza u detej i podrostkov: diagnostika i korrekcija. Lechenie i profilaktika. 2018; 8 (1): 69–75. Russian.
14. Burden RJ, Morton K, Richards T, Whyte GP, Pedlar CR. Is iron treatment beneficial in, iron-deficient but non-anaemic (IDNA) endurance athletes? A systematic review and meta-analysis. Br J Sports Med. 2015; 49 (21): 1389–97. DOI: 10.1136/bjsports-2014-093624.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДОШВЕННОГО ДАВЛЕНИЯ СТОП У СПОРТСМЕНОВ С ПЛАНТАРНЫМ ФАСЦИИТОМ

В. В. Кармазин¹, А. В. Сливин^{1,2}✉, С. А. Парастаев^{1,2}

¹ Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

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

Плантарный фасциит (ПФ) — одна из ведущих причин болевого синдрома в пяточной области среди спортсменов. Поскольку этиология и патогенез заболевания непонятны, определение нарушенных биомеханических паттернов позволит разработать эффективные и безопасные терапевтические стратегии. Целью работы было выявить биомеханические изменения, характерные для спортсменов с ПФ. Проведен анализ результатов бароподометрического обследования 60 спортсменов, проходивших обследование и лечение на базе Федерального научно-клинического центра спортивной медицины и реабилитации ФМБА России по поводу патологии стоп (комбинированного плоскостопия 1–2 степени и ПФ). Спортсмены были разделены на две группы в зависимости от наличия/отсутствия у них верифицированного диагноза «плантарный фасциит». В исследовании приняли участие 24 мужчины (40%) и 36 женщин (60%), медиана возраста спортсменов составила 24 (19; 28) года. В ходе исследования было отмечено наличие тенденции к более частому развитию ПФ у спортсменок ($p = 0,066$). У спортсменов с ПФ часто встречалась молоткообразная деформация пальцев стопы ($p < 0,05$). У спортсменов с комбинированным плоскостопием и ПФ в статических тестах выявлена перегрузка или недостаточная нагрузка на задний отдел пораженной стопы, в зависимости от степени выраженности болевого синдрома ($r = 0,592$, $p = 0,001$). В динамических тестах определялись деформация общего вектора давления и изменения скорости общего центра давления ($p < 0,01$). У спортсменов с ПФ по результатам бароподометрического обследования наблюдались дефицит или избыточное повышение подошвенного давления в пяточной области на пораженной стопе и деформация общего вектора давления.

Ключевые слова: плантарный фасциит, спорт, биомеханика, бароподометрия, боль в пяточной области

Вклад авторов: В. В. Кармазин — концепция и планирование исследования, сбор и анализ данных исследования, редактирование текста статьи; А. В. Сливин — сбор и анализ данных исследования, статистическая обработка данных, написание текста статьи, оформление рукописи; С. А. Парастаев — редактирование, утверждение финальной версии статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 225 от 23 января 2023 г.). Все спортсмены дали согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Антон Вячеславович Сливин
ул. Б. Дорогомиловская, д. 5, г. Москва, 121059, Россия; anton-slivin@mail.ru

Статья получена: 14.03.2024 **Статья принята к печати:** 13.06.2024 **Опубликована онлайн:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.036

PLANTAR PRESSURE DISTRIBUTION FEATURES IN ATHLETES WITH PLANTAR FASCIITIS

Karmazin VV¹, Slivin AV^{1,2}✉, Parastaev SA^{1,2}

¹ Federal Research and Clinical Center of Sports Medicine and Rehabilitation of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Plantar fasciitis (PF) is one of the leading causes of heel pain in athletes. Since the disease etiology and pathogenesis are poorly understood, determination of impaired biomechanical patterns will make it possible to develop effective and safe therapeutic strategies. The study was aimed to reveal biomechanical changes typical for athletes with PF. Analysis of the results of baropodometric examination of 60 athletes, who were assessed and treated at the Federal Research and Clinical Center of Sports Medicine and Rehabilitation of FMBA of Russia due to foot disorders (1–2 degree combined platypodia and PF), was conducted. Athletes were divided into two groups based on the fact of having/not having a verified diagnosis of PF. The study involved 24 males (40%) and 36 females (60%), the athletes' median age was 24 (19; 28) years. During the study we noted a trend towards higher incidence of PF in female athletes ($p = 0.066$). Hammertoe deformity was often found in athletes with PF ($p < 0.05$). Athletes with combined platypodia and PF showed overload or insufficient load in the posterior part of the affected foot, depending on pain severity, in static tests ($r = 0.592$, $p = 0.001$). The dynamic tests revealed deformation of the general pressure vector and changes in the general center of pressure velocity ($p < 0.01$). Baropodometric examination showed that athletes with PF had deficit or excess increase of plantar pressure in the heel of the affected foot, along with deformation of the general pressure vector.

Keywords: plantar fasciitis, sport, biomechanics, baropodometry, heel pain

Author contribution: Karmazin VV — study concept and planning, research data acquisition and analysis, manuscript editing; Slivin AV — research data acquisition and analysis, statistical data processing, manuscript writing, formatting; Parastaev SA — editing, approval of the final version of the article.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol No. 225 dated 23 January 2023). All athletes submitted the consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anton V. Slivin
B. Dorogomilovskaya, 5, Moscow, 121059, Russia; anton-slivin@mail.ru

Received: 14.03.2024 **Accepted:** 13.06.2024 **Published online:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.036

Плантарный фасциит (ПФ) является одной из самых распространенных причин болевого синдрома в области стопы среди взрослого населения. По данным различных авторов, распространенность ПФ среди спортсменов колеблется между 4,5 и 10%, причем мужчины страдают ПФ несколько реже, чем женщины. ПФ чаще всего ассоциирован с беговой нагрузкой [1–3]. Выраженность

болевого синдрома, возникающего при перегрузке подошвенной фасции, часто препятствует и нередко приводит к прерыванию тренировочной и соревновательной деятельности.

В то же время остается неясным, какие факторы лежат в основе развития ПФ и отличаются ли они в популяции спортсменов. В систематическом обзоре [4] авторы

Таблица 1. Последовательность выполняемых тестов с их описанием

Тест	Описание
Статический тест	Стопы расположены параллельно, на ширине остей подвздошных костей таза. Тест проводят в течение 30 с. Во время тестирования спортсмен сохраняет неподвижность
Динамические тесты	
Сагиттальный тест	Стопы расположены параллельно, на ширине остей подвздошных костей таза. Тест проводят в течение 30 с. Спортсмен по команде врача совершает низкоамплитудные движения вперед и назад (только в голеностопных суставах)
Фронтальный тест	Стопы расположены параллельно, на ширине остей подвздошных костей таза. Тест проводят в течение 30 с. Спортсмен по команде врача совершает низкоамплитудные движения вправо и влево (только в голеностопных суставах)
Тест с подъемом на передний отдел стопы	Стопы расположены параллельно, на ширине остей подвздошных костей таза. Тест проводят в течение 20 с. Спортсмен по команде врача поднимается на передний отдел стопы, отрывая пяточную область обеих стоп от платформы на 3–4 см
Прыжковый тест	Стопы расположены параллельно, на ширине остей подвздошных костей таза. Тест проводят в течение 30 с. Спортсмен по команде врача подпрыгивает, синхронно и симметрично отрывая обе стопы от платформы на 3–4 см, стараясь по возможности не сгибать колени при отталкивании и приземлении. Он совершает 4–5 прыжков с интервалами

подчеркивают, что все выделяемые на сегодняшний момент факторы риска ПФ не имеют под собой сильной доказательной базы, а высокий индекс массы тела (ИМТ), обычно анонсируемый как ведущий из них, и вовсе не имеет никакого отношения к прогнозированию риска возникновения воспаления подошвенной фасции среди спортсменов [5].

Все чаще сообщают о важной роли биомеханических нарушений стопы в патогенезе ПФ [4]. Изменения биомеханики стопы при ПФ изучены недостаточно, однако именно их ведущая роль в развитии асептического воспаления подошвенной фасции представляется наиболее логичной, особенно в спортивной популяции [6, 7]. Выявление нарушенных биомеханических паттернов позволит не только лучше понять патогенез ПФ, но и приблизиться к пониманию эффективных методов коррекции патологии.

Целью исследования было определить биомеханические изменения, характерные для спортсменов с ПФ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Выполнен анализ результатов бароподометрического обследования 60 спортсменов, проведенного в период с 2021 по 2023 г. на базе ФГБУ ФНКЦСМ ФМБА России специалистами отделения реабилитационно-восстановительного лечения. Критериями включения в исследование были спортивная квалификация (кандидат в мастера спорта России и выше), возраст спортсменов от 16 до 40 лет, проведение бароподометрического обследования на базе Центра, наличие комбинированного плоскостопия.

В исследование включены 24 мужчины (40%) и 36 женщин (60%). Медиана возраста спортсменов составила 24 (19; 28) года. Спортсменов разделили на две группы в зависимости от наличия у них верифицированного диагноза «плантарный фасцит»: группа 1 — спортсмены с комбинированным плоскостопием 1–2 степени и ПФ ($n = 30$), группа 2 — спортсмены с комбинированным плоскостопием 1–2 степени без ПФ, у которых имела место субъективная симптоматика (боль, дискомфорт в стопе) ($n = 30$). В группу 1 включали только спортсменов с односторонним ПФ, двусторонняя локализация процесса встречалась крайне редко. Предположение о возможном ПФ основывалось на наличии у спортсмена достаточно характерной клинической картины (стартовые боли в

пяточной области), а верификация диагноза — на данных МРТ (гипоинтенсивные очаги плантарной фасции и ее утолщение). Из исследования были исключены пациенты с подтвержденными диагнозами патологии костной ткани стоп. Степень выраженности болевого синдрома оценивали по 10-балльной визуально-аналоговой шкале боли (ВАШ).

Биомеханическое обследование проводили с помощью бароподометрического аппаратно-программного комплекса (АПК) WINTRACK (Medicapture; Франция). Исследование выполняли по алгоритму, включающему в себя проведение последовательности специальных тестов, который был обоснован в отделении реабилитационно-восстановительного лечения ФГБУ ФНКЦСМ ФМБА России. Подробная информация о проводимых тестах представлена в табл. 1. Статический тест преимущественно оценивали по изменениям подошвенного давления переднего и заднего отделов стоп, динамические тесты — по изменениям скорости общего центра давления (ОЦД) по осям X и Y.

Статистический анализ данных выполняли с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23 (IBM; США). С учетом малого объема выборок для анализа данных использовали непараметрические методы статистики. Описательные статистики количественных данных приведены в форме медианы и квартилей, описание качественных признаков — в виде абсолютных и относительных частот. Для сравнительного межгруппового анализа использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, а для внутригруппового — критерий Уилкоксона. Сравнение дискретных величин проводили с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой на непрерывность по Йетсу. Значимыми считались различия при уровне статистической значимости менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика исследуемых групп

В исследование вошли представители различных видов спорта: гандбол, скелетон, футбол, легкая атлетика, фехтование, баскетбол, теннис. Более подробная характеристика исследуемых групп представлена на рис. 1 и в табл. 2.

Несмотря на то что статистическая значимость не была достигнута, можно отметить наличие тенденции к более частому развитию ПФ у спортсменов. У спортсменов

Таблица 2. Характеристика исследуемых групп с описательной статистикой

Характеристика	Группа 1	Группа 2	<i>p</i>
Возраст, лет (Me (Q ₁ ; Q ₃))	24 (19; 30)	24 (20; 27)	0,781
Женский пол (абс. (%))	22 (77,3%)	14 (46,7%)	0,066
ИМТ, кг/м ² (Me (Q ₁ ; Q ₃))	22,69 (21,25; 23,9)	22,72 (20,11; 24,05)	0,843
Молоткообразная деформация пальцев стопы (абс. (%))	9 (30%)	2 (6,7%)	0,046*

Примечание: * — статистически значимые различия (*p* < 0,05).

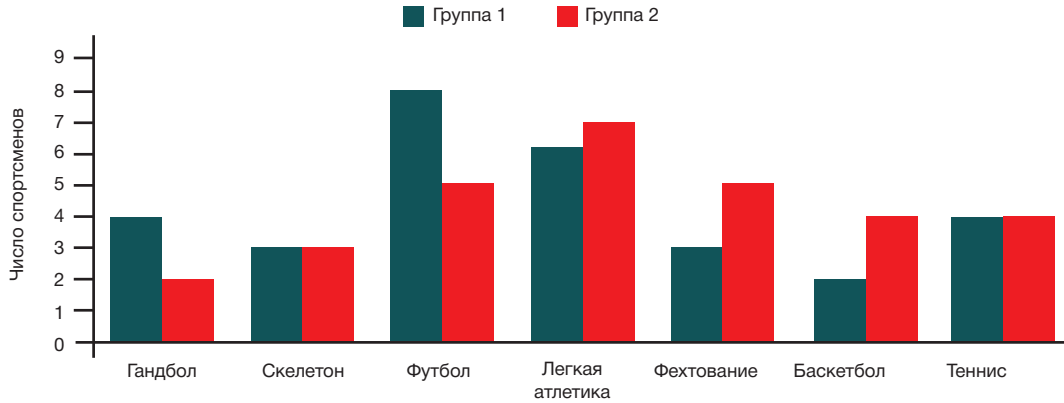


Рис. 1. Распределение спортсменов по видам спорта

с ПФ статистически значимо чаще наблюдалась молоткообразная деформация пальцев стопы (*p* = 0,046). Наиболее часто ПФ встречался у футболистов и легкоатлетов. ИМТ не показал статистической значимости как возможный фактор риска ПФ у спортсменов (*p* > 0,05).

Результаты бароподометрического обследования спортсменов в статическом тесте

Распределение подошвенного давления у спортсменов, полученное по результатам бароподометрического обследования, представлено в табл. 3 и на рис. 2.

Внутригрупповое сравнение не выявило значимых различий в группах 1 и 2 (*p* > 0,05). Однако в ходе анализа результатов была установлена следующая особенность (рис. 2): у спортсменов с ПФ задний отдел пораженной стопы находился либо в состоянии перегрузки (подошвенное давление более 30%) (рис. 3А), либо в состоянии недостаточной нагрузки (подошвенное давление менее 22%) (рис. 3Б).

При межгрупповом сравнении значимых различий между передним (*p* = 0,637) и задним (*p* = 0,229) отделами стопы также выявлено не было.

При оценке взаимосвязи между подошвенным давлением заднего отдела стопы с ПФ и выраженностью

Таблица 3. Характеристика исследуемых групп с описательной статистикой

Отдел стопы	Группа 1			Группа 2		
	Стопа с ПФ Me (Q ₁ ; Q ₃)	Контралатеральная стопа Me (Q ₁ ; Q ₃)	<i>p</i>	Правая стопа Me (Q ₁ ; Q ₃)	Левая стопа Me (Q ₁ ; Q ₃)	<i>p</i>
Передний отдел, %	21 (14; 28)	23 (19; 24)	0,992	22 (21; 24)	21 (19,75; 24)	0,539
Задний отдел, %	26,5 (20; 36)	29,5 (27; 31,25)	0,346	28 (25,75; 30)	27,5 (26,75; 30)	0,81

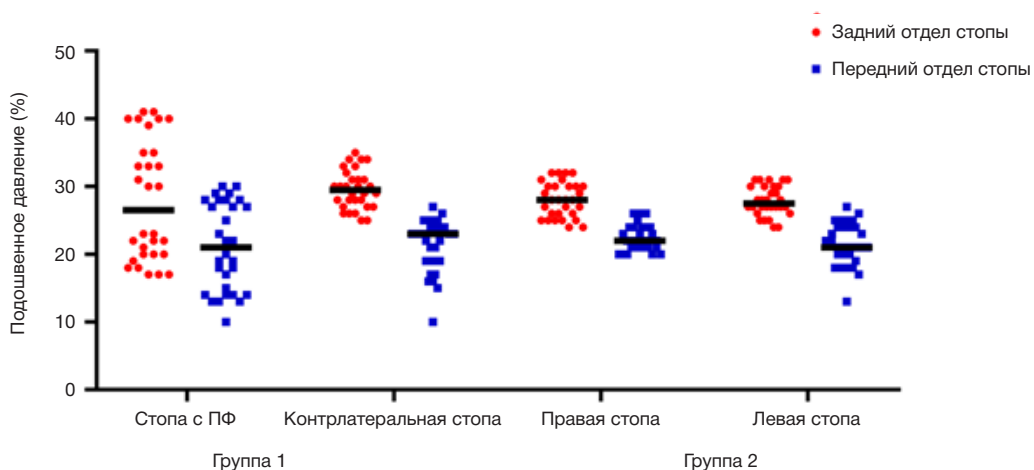


Рис. 2. Распределение подошвенного давления в группах исследования по результатам бароподометрического обследования в статическом тесте

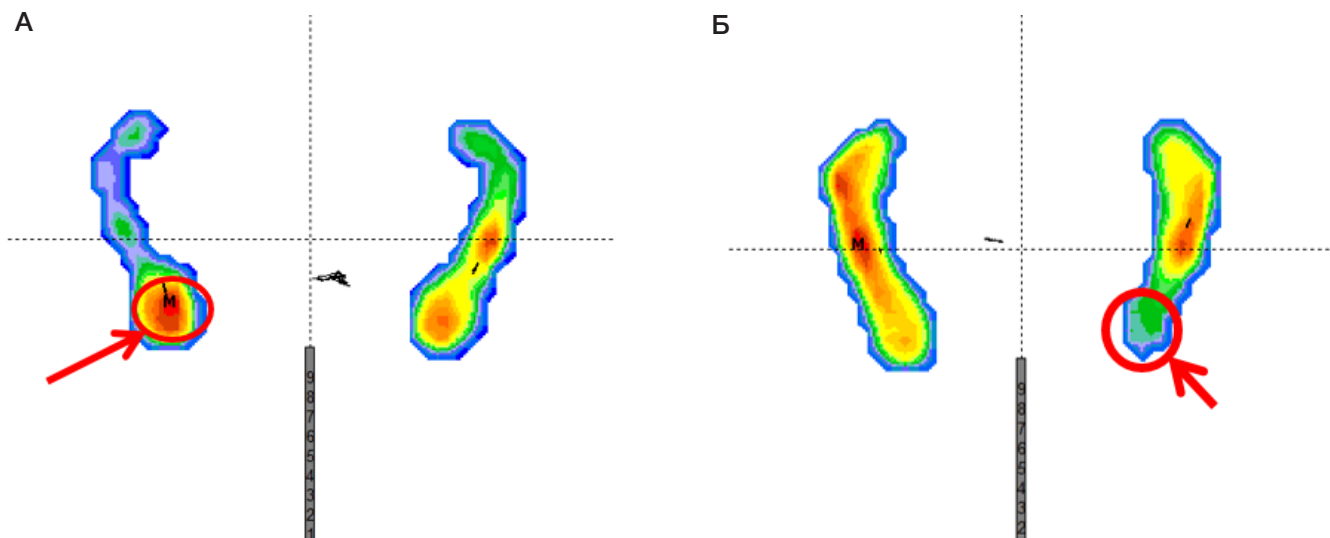


Рис. 3. Распределение подошвенного давления у спортсменов с ПФ в статическом тесте. Красным выделена пяточная область стопы спортсмена с ПФ. **А.** Избыточное подошвенное давление на пораженной стопе. **Б.** Дефицит подошвенного давления

болевого синдрома, оцененного по ВАШ, обнаружено, что степень дефицита опоры на пораженную конечность в статическом тесте при ПФ определяется выраженностью болевого синдрома ($r = 0,592$, $p = 0,001$) (рис. 4).

Результаты бароподометрического обследования спортсменов в динамических тестах

В ходе исследования наиболее яркие изменения общего вектора давления (ОВД) были отмечены в сагиттальном динамическом тесте. На рис. 5 представлены результаты теста спортсменов с ПФ. У спортсмена на рис. 5А — левосторонний процесс, а у спортсмена на рис. 5Б — правосторонний.

Отмечены смещение и деформация ОВД в области локализации болевого синдрома, причем дисбаланс распределения подошвенного давления под пораженной стопой сопровождается снижением подошвенного давления в области переднего отдела стопы.

Изменения ОВД косвенно отражаются в динамике изменений скорости ОЦД. Наиболее значительные изменения скорости ОЦД по оси X отмечены в сагиттальном динамическом тесте, а по оси Y — во фронтальном динамическом тесте. Анализ показал, что изменения скорости ОЦД по оси X и Y в группе 1 были выше, чем в группе 2 ($p < 0,01$) (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе исследования выявлено несколько бароподометрических паттернов, которые четко прослеживаются именно у спортсменов с ПФ. В статических тестах это дефицит опоры или, наоборот, перегрузка болезненной области в зависимости от выраженности болевого синдрома; в динамических тестах это деформация ОВД в проекции наиболее болезненной области со снижением давления в области переднего отдела стопы. Вполне вероятно, что к развитию дегенеративных изменений подошвенного апоневроза приводит повышенная нагрузка на него, которая может быть обусловлена вышележащими нарушениями биомеханики нижней конечности в целом, что проявляется увеличением подошвенного давления в пяточной области. При дальнейшей пролонгации избыточной нагрузки

на плантарную фасцию возникает болевой синдром, который, в зависимости от выраженности, способствует возникновению зоны дефицита подошвенного давления в пяточной области. Выявленные находки в целом согласуются с данными, полученными разными авторами в общей популяции пациентов. Так, группа исследователей обнаружила, что у пациентов с ПФ максимальное давление задней части стопы и площадь его контакта были значительно уменьшены на пораженной стопе по сравнению с контралатеральной стопой [8]. Другие исследователи получили сходные результаты, а также отметили, что у пациентов с ПФ во время проведения динамических тестов было снижено подошвенное давление в медиальной части переднего отдела стопы, что также было отмечено и в нашем исследовании [9]. При успешных терапевтических мероприятиях дефицит подошвенного давления в переднемедиальном отделе стопы нивелировался [9]. В нашем исследовании отдельно показано, что подошвенное давление заднего отдела стопы обратно пропорционально выраженности болевого синдрома, что ранее не было отмечено в литературе. У пациентов с ПФ, принявших участие в нашем исследовании, при проведении динамических тестов обнаружена деформация ОВД в наиболее болезненной области. Это согласуется с данными, в соответствии с которыми у пациентов

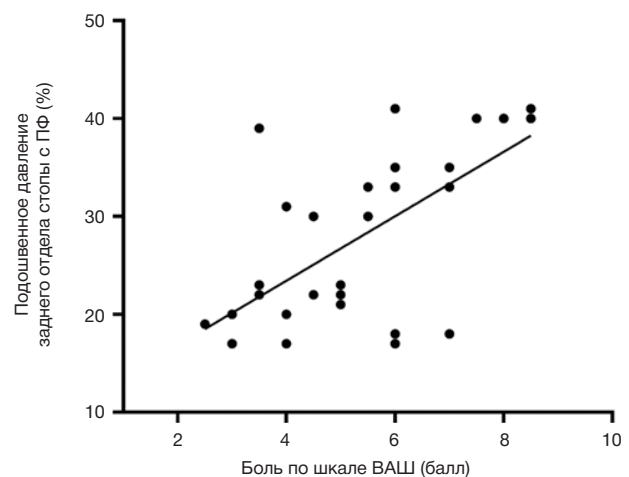


Рис. 4. Взаимосвязь между подошвенным давлением заднего отдела стопы с ПФ и выраженностью болевого синдрома у спортсменов с ПФ

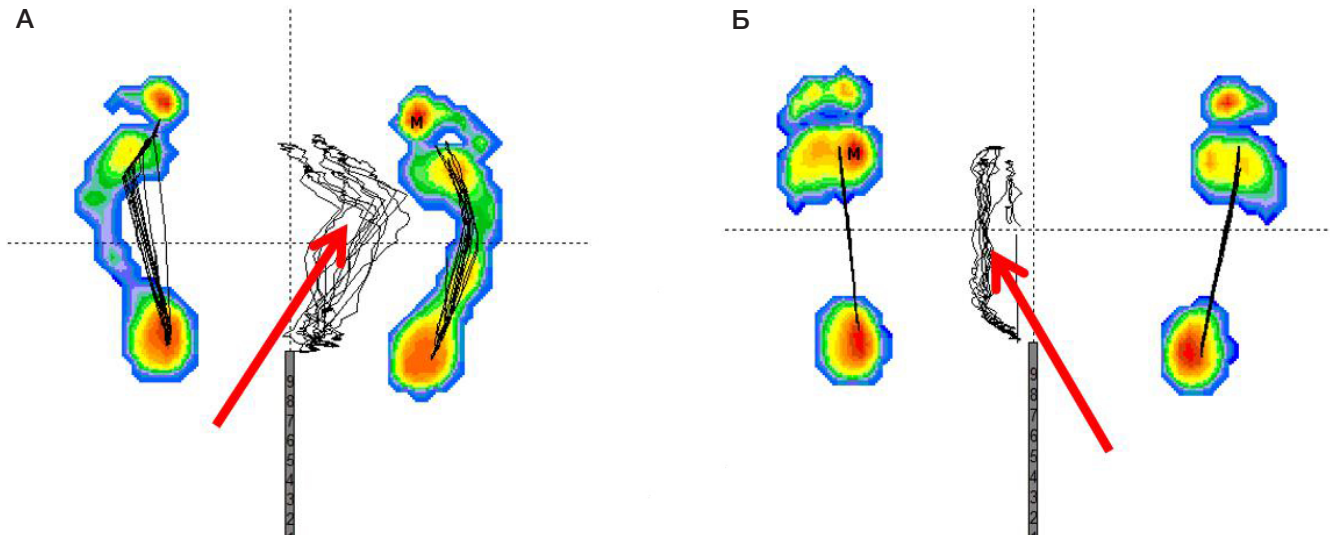


Рис. 5. Распределение подошвенного давления в сагиттальном динамическом тесте у спортсменов с ПФ. Красной стрелкой отмечено смещение ОВД относительно центральной оси в здоровую сторону. **А.** Левосторонний плантарный фасциит. **Б.** Правосторонний процесс

с ПФ имеет место передне медиальный сдвиг нагрузки в подошвенном давлении [10]. Также авторами отмечено, что боль в пятке в 59% случаев возникала в стопе с нормальным сводом [10]. Однако в вышеприведенных исследованиях динамический тест представлял собой оценку подошвенного давления во время шага, в то время как в нашем исследовании использовалась более широкая методология динамических тестов, ранее не описанная в литературе. Более того, описанные в исследовании тесты в большей степени соответствуют сущности медико-биологического обеспечения спорта, поскольку позволяют выявлять даже минимальные функциональные расстройства, препятствующие выполнению интенсивных движений. Сходные результаты были получены исследователями, которые обнаружили дефицит опоры только в фазе начального контакта в динамических текстах, причем указанные изменения обычно были двусторонними [11]. У спортсменов с подтвержденным диагнозом комбинированного плоскостопия без ПФ мы, как правило, не наблюдали дисбаланса распределения давления под стопой с обеих сторон. Кроме того, у спортсменов данной группы не отмечены локальные деформации вектора давления под стопами. Вероятно, имеющиеся у спортсменов с ПФ изменения ОВД могут отчасти объясняться постуральными нарушениями, связанными с функциональной недостаточностью вышележащих мышц (в частности, ягодичных мышц).

Представляется вполне логичной гипотеза, которая объясняет наличие выявленных нами зон избыточного давления в подошве мышечным дисбалансом. Многие исследования показали, что у пациентов с ПФ наблюдается снижение силы и времени реакции подошвенных сгибателей [12–14]. Было выдвинуто предположение, что именно эти мышцы поглощают большую часть нагрузки, и их неправильная работа может приводить к многократному росту нагрузки на подошвенный апоневроз [15–17]. Помимо этого, в 83% случаев ПФ связан с укорочением икроножных мышц [18], что приводит к ограничению дорсифлексии голеностопного сустава, избыточной пронации во время фазы переката и, как следствие, к увеличению расстояния между пяточным бугром и пальцами стопы [16, 19]. Указанная невозможность дорсифлексии голеностопного сустава и вовсе увеличивает риск развития ПФ в 23 раза [20].

Однако остается неясным, являются ли вышеуказанные изменения первичными или вторичными по отношению к другим, возможно вышележащим нарушениям, поэтому требуются дополнительные исследования.

В связи с этим представляется интересным исследование, в котором сообщают о возможной связи слабости мышц, отводящих бедро, с развитием ПФ [21]. Авторы описали клинический случай длительно протекающего ПФ, рефрактерного к большинству терапевтических методов. Именно включение упражнений для мышц, отводящих бедро, позволило достичь клинического улучшения и перераспределения зон давления на стопе по данным бароподометрии [21]. Подобные случаи описаны и другими авторами [17, 22, 23]. Вполне вероятно, что ПФ может быть гораздо более сложной и многофакторной проблемой, чем считалось ранее.

В нашем исследовании ПФ встречался несколько чаще у женщин, чем у мужчин, что в целом согласуется с данными литературы [2, 24]. Как и предполагалось, ИМТ не является фактором риска развития ПФ у спортсменов, о чем уже сообщали ранее [5]. Большая распространенность ПФ среди футболистов и легкоатлетов объясняется высокой беговой нагрузкой в этих видах спорта, и, вероятно, нарушения биомеханики бега являются ключом к пониманию патогенеза ПФ у спортсменов [6, 16]. Кроме того, обнаружена высокая распространенность молоткообразной деформации пальцев стопы у

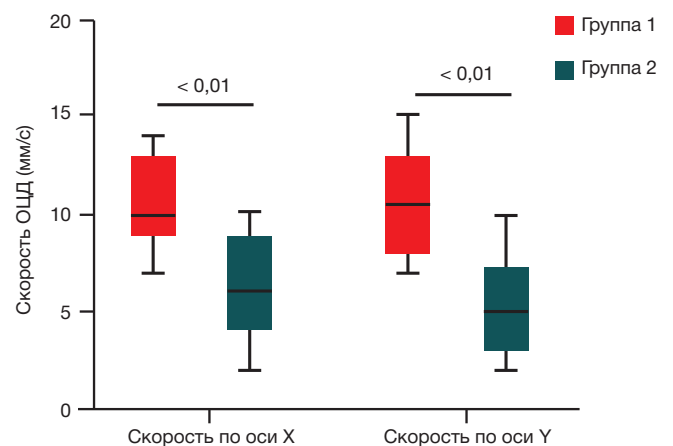


Рис. 6. Сравнение изменений скорости ОЦД в группах 1 и 2

спортсменов с воспалением подошвенного апоневроза. Ряд исследователей сообщает, что наблюдается тесная связь между наличием плоскостопия и развитием ПФ [25]. Ранее отдельно сообщали о возможном вкладе патологии переднего отдела стопы в развитие ПФ [26].

С учетом полученных в ходе нашего исследования результатов и данных литературы представляется целесообразным включить в программы диагностики ПФ методы, которые оценивают распределение давления по поверхности подошвы. Это позволит повысить точность как самих диагностических мероприятий, так и динамического контроля эффективности терапевтических методик при ПФ в случае подозрения на данную патологию и даст возможность приблизиться к пониманию биомеханических проблем, которые лежат в основе развития ПФ, особенно в когорте спортсменов.

ВЫВОДЫ

Плантарный фасциит (ПФ) — это актуальная и распространенная проблема, в том числе и в спорте

высших достижений, в понимании которой остается много неясных моментов. Бароподометрическое обследование спортсменов с ПФ является важным этапом оценки и выявления нарушения распределения давления подошвы, который позволяет определять нарушенные биомеханические паттерны и, соответственно, улучшать результаты лечения. В ходе исследования у спортсменов с ПФ выявлены общие изменения бароподометрической картины. Это дефицит опоры или, наоборот, перегрузка болезненной области в зависимости от выраженности болевого синдрома в статическом тесте, а также деформация общего вектора давления в проекции наиболее болезненной области со снижением давления в области переднего отдела стопы в динамических тестах. Представляется важным учитывать биомеханические изменения, обуславливающие подобную бароподометрическую картину, для более грамотного подбора корректирующих вмешательств и, как следствие, сокращения сроков лечения и реабилитации спортсменов с рассматриваемой патологией.

Литература

- Sobhani S, Dekker R, Postema K, Dijkstra PU. Epidemiology of ankle and foot overuse injuries in sports: A systematic review. *Scand J Med Sci Sports*. 2013; 23 (6): 669–86.
- Taunton JE, Ryan MB, Clement DB, McKenzie DC, Lloyd-Smith DR, Zumbo BD. A retrospective case-control analysis of 2002 running injuries. *Br J Sports Med*. 2002; 36 (2): 95–101.
- Lopes AD, Hespagnol Júnior LC, Yeung SS, Costa LO. What are the main running-related musculoskeletal injuries? A systematic review. *Sports Med*. 2012; 42 (10): 891–905.
- Petraglia F, Ramazzina I, Costantino C. Plantar fasciitis in athletes: diagnostic and treatment strategies. A systematic review. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2017; 7 (1): 107–18.
- Butterworth PA, Landorf KB, Smith SE, Menz HB. The association between body mass index and musculoskeletal foot disorders: a systematic review. *Obes Rev*. 2012; 13 (7): 630–42.
- Murphy K, Curry EJ, Matzkin EG. Barefoot running: does it prevent injuries? *Sports Med*. 2013; 43 (11): 1131–8.
- Ribeiro AP, João SM, Dinato RC, Tessutti VD, Sacco IC. Dynamic patterns of forces and loading rate in runners with unilateral plantar fasciitis: a cross-sectional study. *PLoS One*. 2015; 10 (9): e0136971.
- Baris R, Narin S, Elvan A, Erduran M. FRI0638-HPR Investigating plantar pressure during walking in plantar fasciitis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2016; (75): 1284–5.
- Ulusoy A, Cerrahoğlu H, Örgüç Ş. The assessment of plantar pressure distribution in plantar fasciitis and its relationship with treatment success and fascial thickness. *Kastamonu Med J*. 2023; 3 (3): 139–43.
- Balaji G, Jagadevan M, Mohanakrishnan B, Murugesan S, Palaniappan P. "Antero-medial load shift" in unilateral plantar heel pain — a cross-sectional exploratory study. *J Bodyw Mov Ther*. 2024; (37): 151–5.
- Padrón L, Bayod J, Becerro-de-Bengoa-Vallejo R, Lósa-Iglesias M, López-López D, Casado-Hernández I. Influence of the center of pressure on baropodometric gait pattern variations in the adult population with flatfoot: A case-control study. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023; (11): 1147616.
- Lee JH, Shin KH, Jung TS, Jang WY. Lower extremity muscle performance and foot pressure in patients who have plantar fasciitis with and without flat foot posture. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 20 (1): 87.
- Allen RH, Gross MT. Toe flexors strength and passive extension range of motion of the first metatarsophalangeal joint in individuals with plantar fasciitis. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2003; 33 (8): 468–78.
- McClinton S, Collazo C, Vincent E, Vardaxis V. Impaired foot plantar flexor muscle performance in individuals with plantar heel pain and association with foot orthosis use. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2016; 46 (8): 681–8.
- Pollack Y, Shashua A, Kalichman L. Manual therapy for plantar heel pain. *Foot (Edinb)*. 2018; (34): 11–6.
- Bolgla LA, Malone TR. Plantar fasciitis and the windlass mechanism: a biomechanical link to clinical practice. *J Athl Train*. 2004; 39 (1): 77–82.
- Kirby KA. Longitudinal arch load-sharing system of the foot. *Revista Española de Podología*. 2017; 28 (1): e18–e26.
- Patel A, DiGiovanni B. Association between plantar fasciitis and isolated contracture of the gastrocnemius. *Foot Ankle Int*. 2011; 32 (1): 5–8.
- Guttek N, Schilde S, Delank KS. Pain on the plantar surface of the foot. *Dtsch Arztebl Int*. 2019; 116 (6): 83–8.
- Riddle DL, Pulisic M, Pidcoke P, Johnson RE. Risk factors for plantar fasciitis: a matched case-control study. *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85 (5): 872–7.
- Lee JH, Park JH, Jang WY. The effects of hip strengthening exercises in a patient with plantar fasciitis: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98 (26): e16258.
- Lewis CL, Ferris DP. Walking with increased ankle pushoff decreases hip muscle moments. *J Biomech*. 2008; 41 (10): 2082–9.
- Mueller MJ, Sinacore DR, Hoogstrate S, Daly L. Hip and ankle walking strategies: effect on peak plantar pressures and implications for neuropathic ulceration. *Arch Phys Med Rehabil*. 1994; 75 (11): 1196–200.
- Orchard J. Plantar fasciitis. *BMJ*. 2012; (345): e6603.
- Park SY, Bang HS, Park DJ. Potential for foot dysfunction and plantar fasciitis according to the shape of the foot arch in young adults. *J Exerc Rehabil*. 2018; 14 (3): 497–502.
- Noriega DC, Cristo Á, León A, García-Medrano B, Caballero-García A, Córdova-Martínez A. Plantar fasciitis in soccer players — a systemic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19 (21): 14426.

References

1. Sobhani S, Dekker R, Postema K, Dijkstra PU. Epidemiology of ankle and foot overuse injuries in sports: A systematic review. *Scand J Med Sci Sports*. 2013; 23 (6): 669–86.
2. Taunton JE, Ryan MB, Clement DB, McKenzie DC, Lloyd-Smith DR, Zumbo BD. A retrospective case-control analysis of 2002 running injuries. *Br J Sports Med*. 2002; 36 (2): 95–101.
3. Lopes AD, Hespanhol Júnior LC, Yeung SS, Costa LO. What are the main running-related musculoskeletal injuries? A systematic review. *Sports Med*. 2012; 42 (10): 891–905.
4. Petraglia F, Ramazzina I, Costantino C. Plantar fasciitis in athletes: diagnostic and treatment strategies. A systematic review. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2017; 7 (1): 107–18.
5. Butterworth PA, Landorf KB, Smith SE, Menz HB. The association between body mass index and musculoskeletal foot disorders: a systematic review. *Obes Rev*. 2012; 13 (7): 630–42.
6. Murphy K, Curry EJ, Matzkin EG. Barefoot running: does it prevent injuries? *Sports Med*. 2013; 43 (11): 1131–8.
7. Ribeiro AP, João SM, Dinato RC, Tessutti VD, Sacco IC. Dynamic patterns of forces and loading rate in runners with unilateral plantar fasciitis: a cross-sectional study. *PLoS One*. 2015; 10 (9): e0136971.
8. Baris R, Narin S, Elvan A, Erduran M. FRI0638-HPR Investigating plantar pressure during walking in plantar fasciitis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2016; (75): 1284–5.
9. Ulusoy A, Cerrahoglu H, Örgüç Ş. The assessment of plantar pressure distribution in plantar fasciitis and its relationship with treatment success and fascial thickness. *Kastamonu Med J*. 2023; 3 (3): 139–43.
10. Balaji G, Jagadevan M, Mohanakrishnan B, Murugesan S, Palaniappan P. “Antero-medial load shift” in unilateral plantar heel pain — a cross-sectional exploratory study. *J Bodyw Mov Ther*. 2024; (37): 151–5.
11. Padrón L, Bayod J, Becerro-de-Bengoa-Vallejo R, Losa-Iglesias M, López-López D, Casado-Hernández I. Influence of the center of pressure on baropodometric gait pattern variations in the adult population with flatfoot: A case-control study. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023; (11): 1147616.
12. Lee JH, Shin KH, Jung TS, Jang WY. Lower extremity muscle performance and foot pressure in patients who have plantar fasciitis with and without flat foot posture. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 20 (1): 87.
13. Allen RH, Gross MT. Toe flexors strength and passive extension range of motion of the first metatarsophalangeal joint in individuals with plantar fasciitis. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2003; 33 (8): 468–78.
14. McClinton S, Collazo C, Vincent E, Vardaxis V. Impaired foot plantar flexor muscle performance in individuals with plantar heel pain and association with foot orthosis use. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2016; 46 (8): 681–8.
15. Pollack Y, Shashua A, Kalichman L. Manual therapy for plantar heel pain. *Foot (Edinb)*. 2018; (34): 11–6.
16. Bolgla LA, Malone TR. Plantar fasciitis and the windlass mechanism: a biomechanical link to clinical practice. *J Athl Train*. 2004; 39 (1): 77–82.
17. Kirby KA. Longitudinal arch load-sharing system of the foot. *Revista Española de Podología*. 2017; 28 (1): e18–e26.
18. Patel A, DiGiovanni B. Association between plantar fasciitis and isolated contracture of the gastrocnemius. *Foot Ankle Int*. 2011; 32 (1): 5–8.
19. Gutteck N, Schilde S, Delank KS. Pain on the plantar surface of the foot. *Dtsch Arztebl Int*. 2019; 116 (6): 83–8.
20. Riddle DL, Pulisic M, Pidcoe P, Johnson RE. Risk factors for plantar fasciitis: a matched case-control study. *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85 (5): 872–7.
21. Lee JH, Park JH, Jang WY. The effects of hip strengthening exercises in a patient with plantar fasciitis: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98 (26): e16258.
22. Lewis CL, Ferris DP. Walking with increased ankle pushoff decreases hip muscle moments. *J Biomech*. 2008; 41 (10): 2082–9.
23. Mueller MJ, Sinacore DR, Hoogstrate S, Daly L. Hip and ankle walking strategies: effect on peak plantar pressures and implications for neuropathic ulceration. *Arch Phys Med Rehabil*. 1994; 75 (11): 1196–200.
24. Orchard J. Plantar fasciitis. *BMJ*. 2012; (345): e6603.
25. Park SY, Bang HS, Park DJ. Potential for foot dysfunction and plantar fasciitis according to the shape of the foot arch in young adults. *J Exerc Rehabil*. 2018; 14 (3): 497–502.
26. Noriega DC, Cristo Á, León A, García-Medrano B, Caballero-García A, Córdova-Martinez A. Plantar fasciitis in soccer players — a systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19 (21): 14426.

ВЕГЕТАТИВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КРОВООБРАЩЕНИЯ И БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МИОКАРДЕ ЧЕЛОВЕКА В МОДЕЛИРУЕМЫХ ГИПОМАГНИТНЫХ УСЛОВИЯХ

О. В. Попова [✉], В. Б. Русанов, О. И. Орлов

Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

На сегодняшний день становится актуальной перспектива длительных межпланетных полетов, поэтому необходимо понимание изменений в сердечно-сосудистой системе (ССС), которые будут происходить в гипомангнитных условиях. Целью исследования было провести анализ изменений механизмов ССС, которые представляют собой основу для формирования variability сердечного ритма и биоэлектрических процессов в миокарде, в условиях сниженного в 350, 650 и 1000 раз магнитного поля Земли. В эксперименте (2023 г.) участвовало 6 мужчин-добровольцев в возрасте 26–37 лет, у которых непрерывно в течение 32 ч регистрировали электрокардиограмму. Анализ полученных данных проводили при помощи кластерного и дисперсионного анализа. Было обнаружено, что у мужчин-добровольцев, относящихся к группе с преобладанием парасимпатических влияний, функционального резерва хватает для критических значений (воздействия сниженного магнитного поля до 1000 раз). У добровольцев с преобладанием симпатических моделирующих влияний поддержание приспособительных реакций осуществляется метаболическим регуляторным контуром. В этой группе реакция на воздействие сниженного магнитного поля достаточно выражена при пороге его снижения от 350 раз. Проведенный нами пилотный эксперимент, отражающий влияние сниженного магнитного поля земли на ССС, имеет определяющее значение для разработки концепции последующих экспериментальных воздействий, связанных с редукцией магнитного поля, для интересов космической физиологии и медицины.

Ключевые слова: гипомангнитные условия, сердечно-сосудистая система, биоэлектрические процессы, variability сердечного ритма, дисперсионное картирование

Финансирование: работа была выполнена в рамках базовой тематики РАН FMFR-2024–0042.

Вклад авторов: О. В. Попова — написание статьи, сбор и анализ данных; В. Б. Русанов — написание статьи, анализ данных; О. И. Орлов — научный руководитель эксперимента.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН ГНЦ РФ — ИМБП РАН (Москва) (протокол № 641 от 14 июня 2023 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие на исследование.

✉ **Для корреспонденции:** Ольга Владимировна Попова
Хорошевское шоссе, 76А, г. Москва, 123007, Россия; olya.popovaolga2710@yandex.ru

Статья получена: 22.05.2024 **Статья принята к печати:** 02.06.2024 **Опубликована онлайн:** 21.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.019

VEGETATIVE REGULATION OF BLOOD CIRCULATION AND BIOELECTRIC PROCESSES IN THE HUMAN MYOCARDIUM UNDER SIMULATED HYPOMAGNETIC CONDITIONS

Popova OV [✉], Rusanov VB, Orlov OI

State Scientific Center of the Russian Federation — Institute for Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Today, the prospect of long-term interplanetary missions becomes relevant, that is why it is necessary to understand the changes in the cardiovascular system (CVS) that would occur in hypomagnetic environment. The study was aimed to assess the changes in the CVS mechanisms underlying formation of heart rate variability and bioelectric processes in the myocardium under conditions the 350-, 650-, and 1000-fold reduced Earth's magnetic field. The experiment (2023) involved 6 male volunteers aged 26–37 years, in whom electrocardiography was continuously performed throughout 32 h. The data obtained were assessed by cluster analysis and analysis of variance. It was found that male volunteers, who belonged to the group showing predominance of parasympathetic effects, had enough functional reserve for critical values (exposure to the up to 1000-fold reduced magnetic field). In volunteers showing predominance of sympathetic modulatory effects, the adaptive response maintenance was ensured by the metabolic regulatory circuit. In this group, the response to the reduced magnetic field exposure was quite pronounced at the threshold of its 350-fold reduction. Our pilot experiment reflecting the effect of the reduced Earth's magnetic field on the CVS is crucial for development of the concept of further experimental exposures related to magnetic field reduction benefiting space physiology and medicine.

Keywords: hypomagnetic conditions, cardiovascular system, bioelectric processes, heart rate variability, dispersion mapping

Funding: the study was conducted within the framework of the RAS core themes, FMFR-2024–0042.

Author contribution: Popova OV — manuscript writing, data acquisition and analysis; Rusanov VB — manuscript writing, data analysis; Orlov OI — scientific advisor for the experiment.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the State Scientific Center of the Russian Federation — Institute for Biomedical Problems RAS (Moscow) (protocol No. 641 dated 14 June 2023). All subjects submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Olga V. Popova
Khoroshevskoye shosse, 76A, Moscow, 123007, Russia; olya.popovaolga2710@yandex.ru

Received: 22.05.2024 **Accepted:** 02.06.2024 **Published online:** 21.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.019

Изменения геомагнитных условий (ГМУ), несомненно, влияют на живые организмы [1]. Каждая клетка биологической системы, встроенная в магнитные поля Солнца и Земли, постоянно подвергается воздействию их флуктуаций, охватывающих широкий диапазон частот [2].

В последние годы выполнены исследования, изучающие связь магнитной активности с биологическими

системами различных живых организмов. Они иллюстрируют влияние геомагнитной и Солнечной активности на различные физиологические ритмы, а также возможную синхронизацию между ними, например, воздействие геомагнитных возмущений на функции сердца и вегетативной нервной системы (ВНС) [3]. Подобные эффекты возникают, когда физиологические

системы человека подвергаются различным изменениям в геомагнитной динамике. Резонансы силовых линий геомагнитного поля, а также резонансы Шумана, возникающие в пространстве между поверхностью Земли и ионосферой, создают диапазон резонансных частот, которые непосредственно перекрываются с частотами человеческого мозга, ВНС и сердечно-сосудистой системы. Ритмы, вырабатываемые мозгом и сердцем, сильнее подвержены влиянию изменений геомагнитных условий, чем другие физиологические системы, изученные до сих пор [4].

С помощью искусственного моделирования геомагнитной бури показано, что геомагнитная активность может вызывать значительный сердечно-сосудистый ответ [5]. Более того, имеются данные, позволяющие предположить наличие связи между кратковременными геомагнитными возмущениями и числом смертей от сердечно-сосудистых заболеваний и инфаркта миокарда [6].

Наряду с этим, изменения геомагнитного поля (ГМП) могут модифицировать функциональное состояние сердечно-сосудистой системы (ССС), связанное с физиологическим процессом старения [7].

В ближайшем будущем открывается перспектива полетов в дальний космос, но остается открытым вопрос: как при межпланетном перелете редукция ГМП, которое в космосе в 10^3 – 10^5 раз меньше, чем ГМП Земли, будет влиять на физиологические системы человека? Кроме того, ГМУ станут неотъемлемой частью комплекса факторов, воздействующих на космонавтов в длительных межпланетных миссиях, за пределами магнитного поля Земли, и адаптация организма человека к ним будет затрагивать регуляторные процессы в различных физиологических системах.

Исследования, проведенные на животных, демонстрируют влияния сниженного ГМП на организм млекопитающих. После трехчасового пребывания мышей в ГМУ (коэффициенты ослабления ГМП 80–120, 300 и 1000 раз) были обнаружены нарушения циркуляции лимфы и крови. После шести часов экспозиции в ГМУ наблюдали изменения в структуре кардиомиоцитов. Активировался лизис миофибрилл в саркоплазматическом ретикулуме, саркоплазматического матрикса и матрикса митохондрий. Наблюдали также разрушение крист в митохондриях и увеличение везикул в гладком и шероховатом эндоплазматическом ретикулуме. В ГМУ нарушался или полностью подавлялся процесс биосинтеза белка в кардиомиоцитах. Все вышеописанное указывает на перестройки ультраструктурного уровня, сходные с апоптозом.

В исследованиях с участием человека влияние ГМП на тонус сосудистой стенки неоднократно подтверждали [8–11]. Его изменения, независимо от других геомагнитных климатических факторов, модулируют изменения артериального давления (АД). Было замечено, что геомагнитные бури, создаваемые солнечными вспышками [9], разбалансирующие адаптивные механизмы и вызывающие тяжелые адаптивные стрессовые реакции, влияют на механизмы регуляции ССС. Это проявляется в снижении вариабельности сердечного ритма (BCP) и кровотока, повышении агрегационной активности тромбоцитов, коагуляции и вязкости крови даже у здоровых людей [11, 12].

После изменения магнитной или солнечной активности физиологические процессы происходят с задержкой. Это явление называется «фазой задержки» и длится от нескольких часов до 2–3 дней после изменения ГМП

[10, 12, 13]. Отмечено, что сердечно-сосудистые заболевания значительно снижают чувствительность субъектов к изменениям ГМП, что может привести к критическим нарушениям здоровья [14].

Показано, что ГМУ влияют на капиллярный кровоток, артериальное давление и частоту сердечных сокращений (ЧСС), повышают активность парасимпатического сегмента регуляции сердечного ритма [15].

У восьми здоровых мужчин, находившихся в состоянии покоя, было проведено изучение гемодинамики методом непрерывного мониторинга показателей ССС (ЧСС, артериальное давление (АД), вегетативный индекс Кердо). Эксперимент проводили в течение восьми часов и в двух сериях наблюдений: в ГМУ (снижение индукции магнитного поля Земли в 1000 раз) и в условиях естественного магнитного поля Земли. Было выявлено снижение ЧСС (в среднем на 4 удара в мин) и АД по сравнению с контрольной группой. Причем систолическое АД понизилось в среднем на 16 мм рт. ст., а диастолическое АД уменьшилось на 16 мм рт. ст. Вегетативный индекс Кердо, наоборот, при восьмичасовом пребывании в ГМУ возрастал на 20% [16].

По результатам клинического обследования, у лиц, работавших длительное время в условиях сниженного в 3–10 раз ГМП, было обнаружено развитие в ведущих системах организма функциональных изменений: синдрома вегетативно-сосудистой дистонии, нарушения процесса реполяризации миокарда, гипертонической болезни, дистонии мозговых сосудов с наличием регуляторной межполушарной асимметрии, достоверного увеличения биологического возраста на 4,2 года по сравнению с календарным [17].

В связи с этим целью нашего исследования был анализ системных изменений в ССС, которые обусловлены механизмами, лежащими в основе формирования вариабельности сердечного ритма и отражающими регуляторный компонент этой физиологической системы, а также биоэлектрических процессов в сердечной мышце в условиях снижения МП различной кратности.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования были проведены в 2023 г. на стендовой базе по моделированию магнитных полей «Арфа» ГНЦ РФ — ИМБП РАН, входящей в состав уникальной научной установки «Медико-технический комплекс для отработки инновационных технологий космической биомедицины в интересах обеспечения орбитальных и межпланетных полетов, а также развития практического здравоохранения» (рис. 1).

Конструкция системы моделирования магнитных полей «Арфа» и ее технические характеристики описаны ранее [18].

Циклограмма исследования представляла собой рандомизированное слепое четырехсерийное исследование. Перед началом каждой серии проводили фоновые исследования. Первая сессия — 8-часовое пребывание испытуемого в установке (утро–день), далее 3-часовой контролируемый перерыв. Вторая сессия — испытуемый находился в установке 8 ч (ночное время — сон), далее снова 3-часовой контролируемый перерыв. Третья сессия — испытуемого помещали в установку на 8 ч (дневное время) и далее выполняли исследования в периоде последствия в течение 3 ч (рис. 2).

В ходе экспериментального воздействия были проведены четыре 37-часовых серии, которые включали в себя фоновые исследования, нахождение в условиях ГМУ и

периоды последствия. В ГМУ ГМП снижали в 350, 650 и 1000 раз, а также была серия плацебо. Экспериментальное воздействие и плацебо были рандомизированы. Для адаптации испытуемого к неизвестным ему условиям пребывания в установке «Арфа», гипокинезии, а также методикам экспериментальной программы с каждым из них предварительно проводили 4-часовую тренировочную серию. Доброволец находился в установке «Арфа» в положении сидя с ограничением движений (не наклоняясь, не двигая руками в различных осях, не вставая).

В эксперименте с ГМУ участвовало 6 мужчин-добровольцев в возрасте от 26 до 37 лет, рост — 178 ± 7 см, вес — $76,5 \pm 15,5$ кг, индекс массы тела — $24,77 \pm 2,99$, у которых непрерывно в течение 32 ч регистрировали электрокардиограмму (ЭКГ). Критерии включения: все добровольцы прошли медицинское обследование и были допущены к участию в экспериментальных исследованиях врачебно-экспертной комиссией ГНЦ РФ — ИМБП РАН. Помимо прохождения врачебно-экспертной комиссии, за двое суток до начала АНОГ проводили медицинский осмотр, на основании которого испытуемые были допущены ответственным врачом к участию в экспериментальных исследованиях. Использовали регистратор ЭКГ «Космокард» (ГНЦ РФ — ИМБП РАН; Россия), разработанный для проведения исследований на Международной космической станции. ЭКГ регистрировали с размещенных на груди четырех электродов. Анализировали запись II отведения. Предварительно полученный ЭКГ-сигнал редактировали с использованием визуальных проверок и ручной коррекции отдельных интервалов RR. После этого он был обработан с использованием программного обеспечения «Иским-6» (ООО «Институт внедрения новых медицинских технологий «Рамена»; Россия).

Для анализа регуляторных процессов в ССС определяли и рассчитывали показатели ВСР, связанные с парасимпатическими или симпатическими модулирующими влияниями ВНС на синоатриальный (СА) узел. Оценка состояния механизмов регуляции кровообращения осуществляли на основе рекомендаций, разработанных Европейским кардиологическим и Северо-Американским электрофизиологическими обществами [19]. Для оценки биоэлектрических процессов в миокарде использовали дисперсионное картирование ЭКГ (ДК ЭКГ), основанное на анализе микроколебаний, характеризующих электрофизиологические процессы в миокарде [20].

Статистический анализ массива полученных данных проводили с помощью пакета статистических программ STATISTICA 13.0 (IBM; США) с использованием методов кластерного и дисперсионного анализа [21].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для классификации в соответствии с преобладающим типом вегетативной регуляции активности СА узла был применен метод Варда (рис. 3). Проводили интегральный

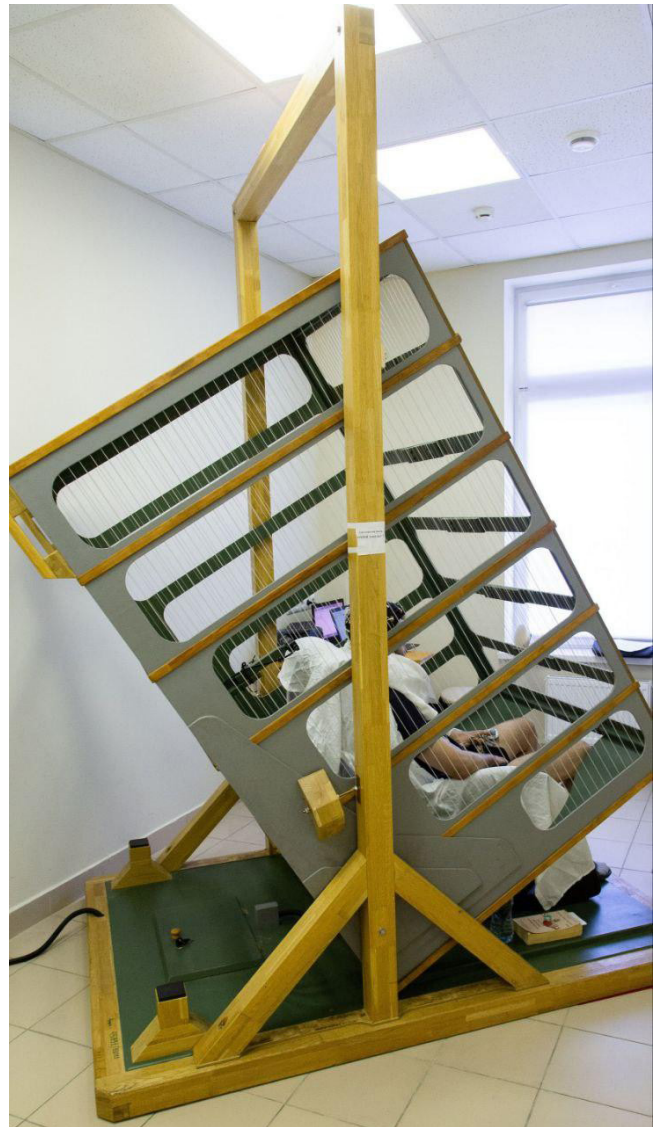


Рис. 1. Система моделирования магнитных полей «Арфа» и проведение исследования

анализ всех зарегистрированных в эксперименте параметров ВСР. В результате были выделены две группы:

- 1) группа 1 — добровольцы, принимавшие участие в эксперименте с преобладанием парасимпатических модулирующих влияний ($n = 4$, добровольцы 1, 2, 4 и 5);
- 2) группа 2 — добровольцы, принимавшие участие в эксперименте с преобладанием симпатических модулирующих влияний ($n = 2$, добровольцы 3, 6).

С помощью кластерного и дискриминантного анализа были определены классификационные функции, в которые вошли наиболее информативные в условиях эксперимента показатели, отражающие баланс вегетативных влияний, в первую очередь, парасимпатическая активность и степень

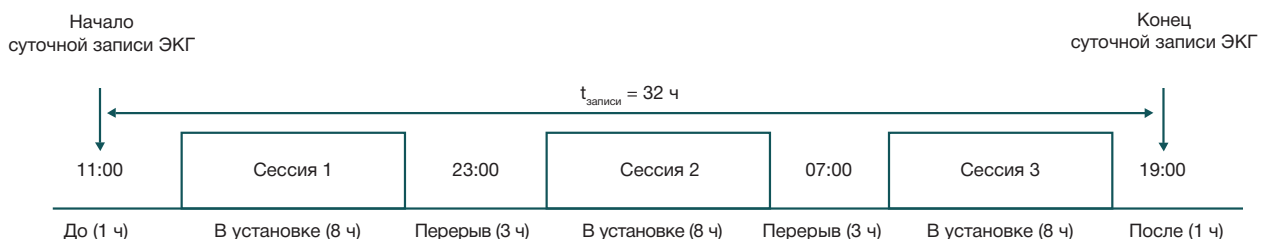


Рис. 2. Циклограмма отдельной серии эксперимента

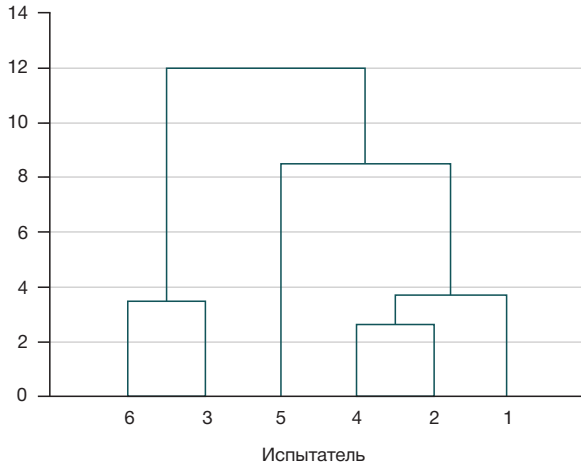


Рис. 3. Деление добровольцев-участников исследования на группы

ее преобладания над симпатическим модулирующими вегетативными влияниями: ЧСС (физиологически отражает системный гомеостаз кровообращения), RMSSD (мс, квадратный корень из суммы разностей последовательного ряда кардиоинтервалов, показатель парасимпатических влияний на ритм сердца), pNN50 (%), число пар кардиоинтервалов с разницей более 50 мс в процентах к общему числу кардиоинтервалов, отражает относительную степень преобладания парасимпатических модулирующих вегетативных влияний в CCC над симпатическими), SDNN (мс, стандартное отклонение полного массива кардиоинтервалов, показатель суммарного эффекта вегетативной регуляции кровообращения), HF

(мс², мощность спектра высокочастотного компонента ВСП от суммарной мощности колебаний, характеризует парасимпатическую активность и степень ее преобладания над симпатической).

Динамика изменения этих показателей на разных этапах эксперимента представлена на рис. 4.

У добровольцев с парасимпатическими модулирующими влияниями параметры RMSSD и HF достоверно снижались по сравнению с серией плацебо во время всех сессий в условиях сниженного МП до 1000 раз, аналогичное снижение было отмечено в условиях до 650 и 350 раз (рис. 4). У добровольцев с симпатическими модулирующими влияниями значения этих показателей повышались после 24-часового пребывания (сессия 3) в условиях сниженного до 650 раз МП. Однако стоит отметить, что в первые восемь часов пребывания в установке при 1000-кратной редукции МП в этой группе было обнаружено достоверное снижение данного показателя по сравнению с плацебо.

Показатели pNN50 и SDNN уменьшились у добровольцев с парасимпатическими влияниями на ритм сердца во 2-й и 3-й сессиях в условиях сниженного поля до 1000 и 650 по сравнению с плацебо, а у пациентов с симпатическими влияниями достоверное снижение значений этих показателей было обнаружено на протяжении всего пребывания в ГМУ, сниженных в 1000, 650 и 350 раз.

Динамика ЧСС (показателя, отражающего стабильность функционирования CCC на системном уровне) в группе добровольцев с парасимпатической модуляцией СА узла увеличивалась на протяжении всего экспериментального воздействия, не выходя за пределы нормальных физиологических значений. В группе с симпатической

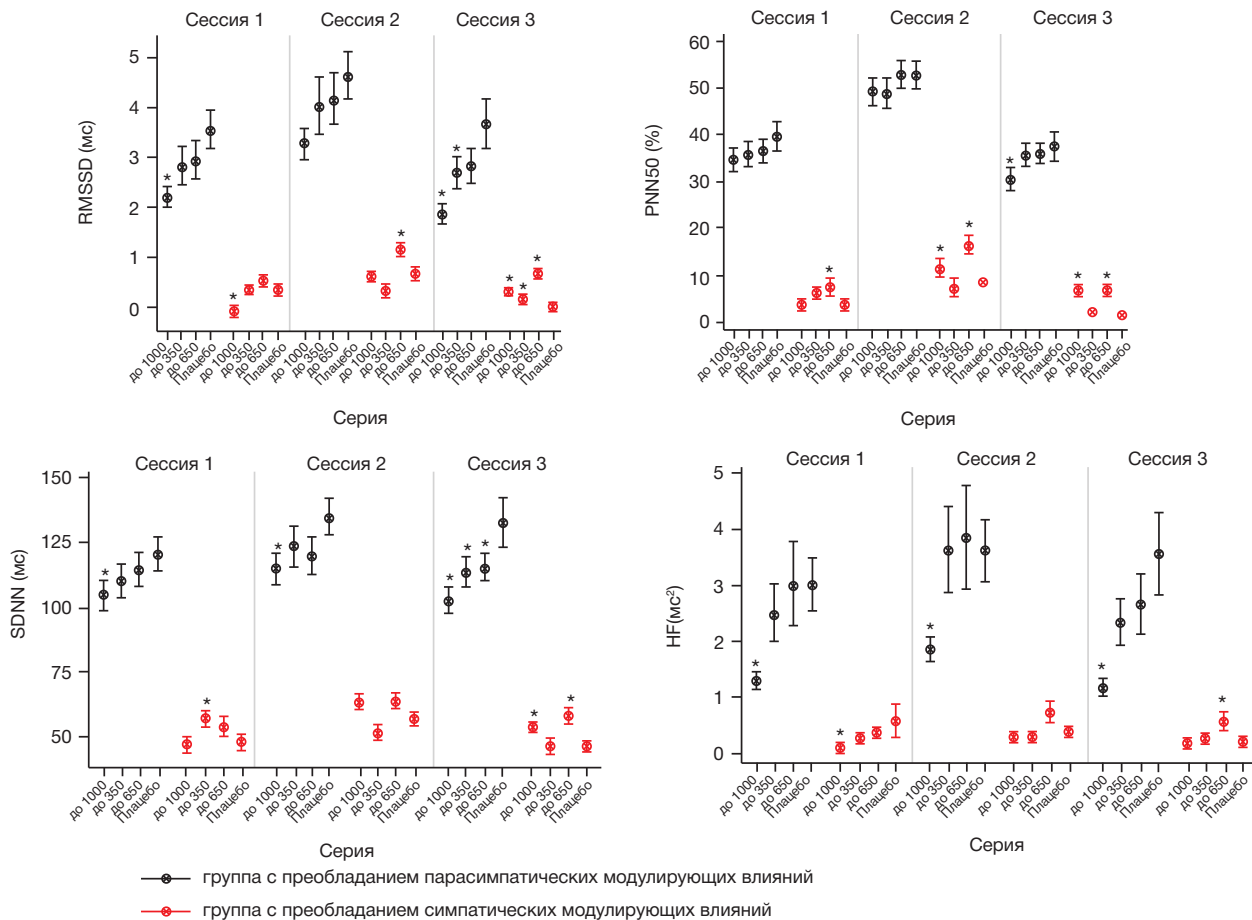


Рис. 4. Наиболее информативные показатели, характеризующие преобладающий тип вегетативной регуляции, и их динамика в ходе эксперимента. * — достоверное различие по сравнению с плацебо

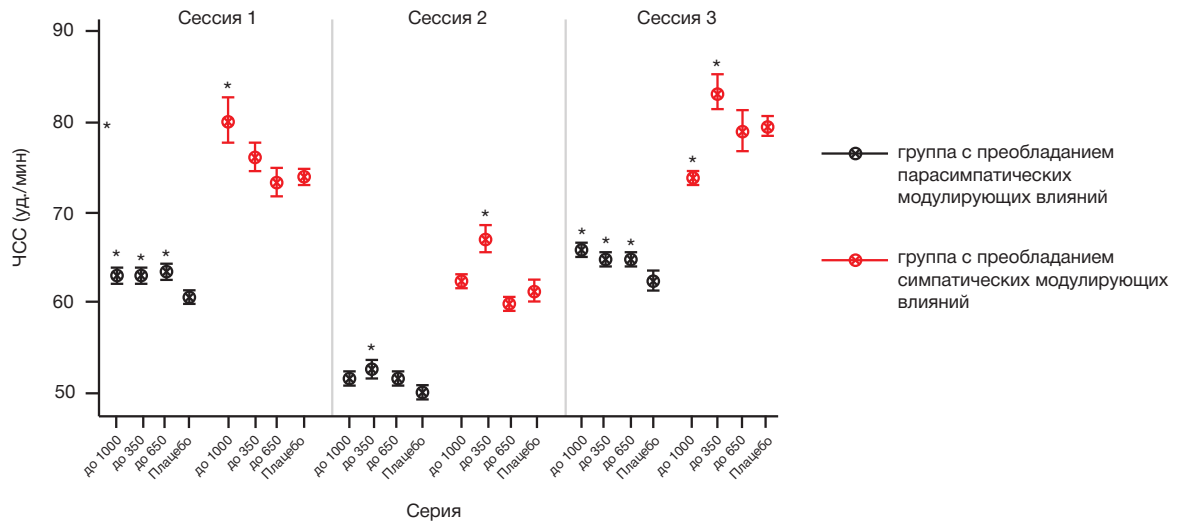


Рис. 5. Динамика показателя ЧСС. * — достоверное различие по сравнению с плацебо

модуляцией было обнаружено достоверное увеличение данного показателя в условиях 1000-кратно и 350-кратно сниженного геомагнитного поля при 8-часовом (сессия 1) и 24-часовом (сессия 3) пребывании соответственно (рис. 5).

При анализе ДК ЭКГ было выявлено, что показатель, отражающий деполаризацию правого желудочка

(G3), достоверно увеличивался на протяжении всей серии 650-кратно сниженного МП у добровольцев с парасимпатическими влияниями (рис. 6). В группе пациентов с симпатическими модуляциями на ритм сердца наблюдали его увеличение в условиях 1000-кратной и 350-кратной редукции МП.

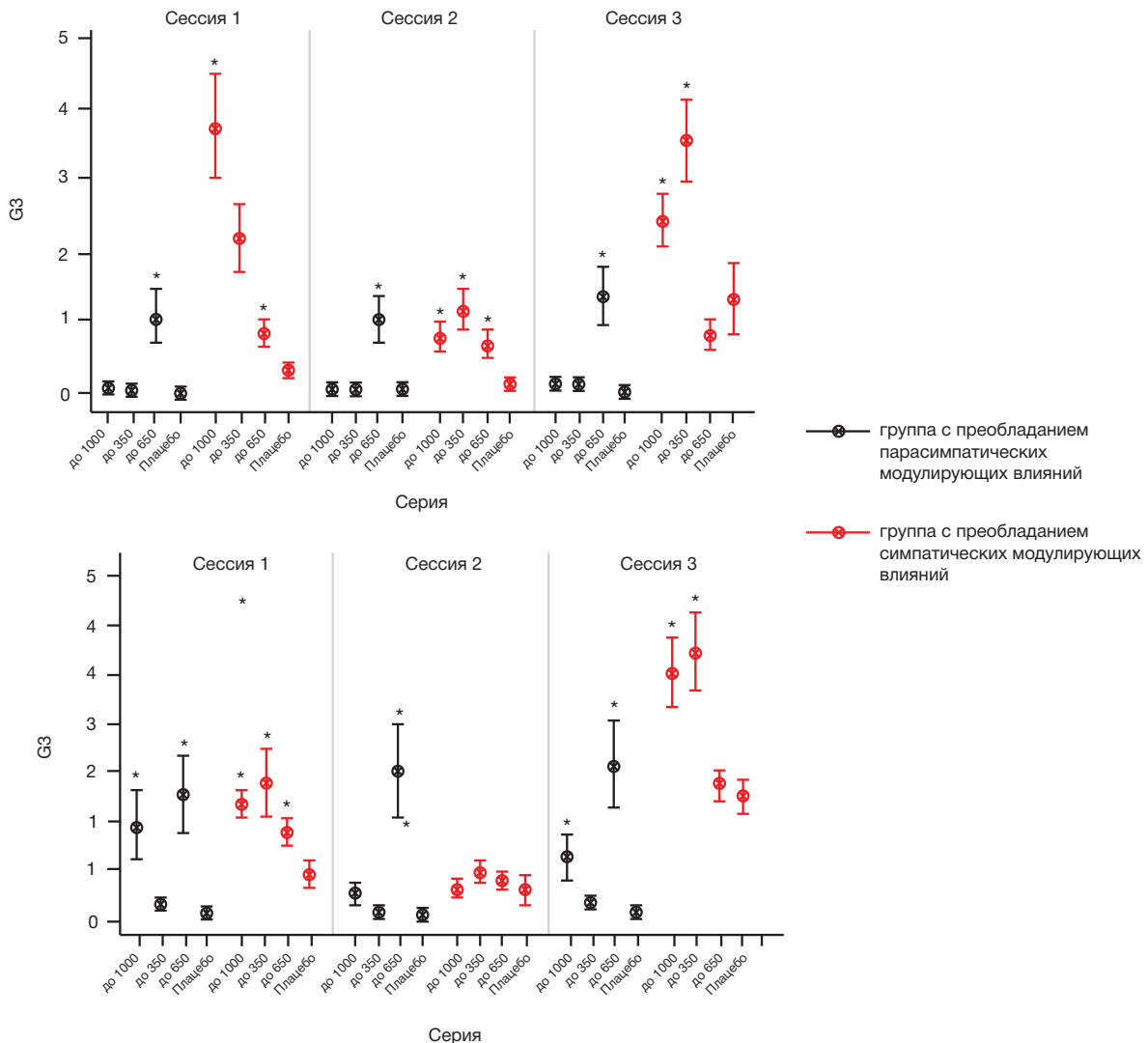


Рис. 6. Динамика показателей ДК ЭКГ. * — достоверное различие по сравнению с плацебо

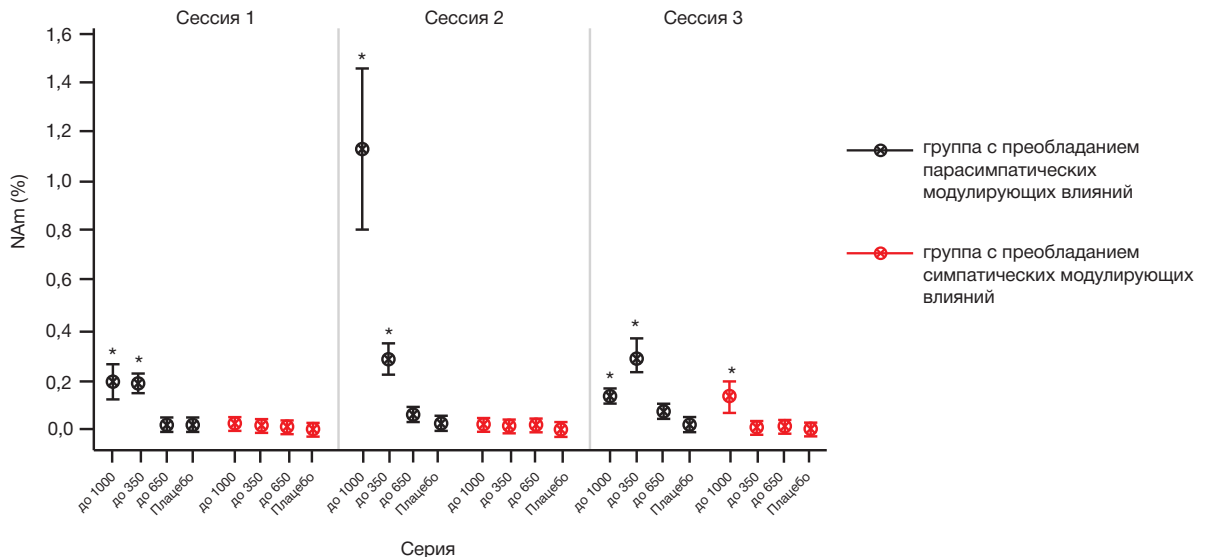


Рис. 7. Динамика NArr. * — достоверное различие по сравнению с плацебо

Показатель G7 (симметрия деполяризации желудочков) у добровольцев с парасимпатическими влияниями достоверно увеличивался в сериях 1000-кратно и 650-кратно сниженного поля, у лиц с симпатическими модуляциями на ритм сердца также наблюдали его увеличение в серию 1000-кратно сниженного МП, однако его значения увеличивались и при 350-кратном снижении МП.

Что касается появления аритмий в ходе эксперимента, то их количество увеличивалось, о чем свидетельствуют значения Narr (%) — количественного показателя, характеризующего общее число аритмий. Его значения повышались в сериях сниженного до 1000 и 350 раз МП у добровольцев с парасимпатическими регуляторными влияниями. В группе пациентов с симпатическими регуляторными влияниями значения Narr увеличивались только к экспериментальной сессии, в которой МП снижалось в 1000 раз (рис. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

VCP характеризует изменение временных интервалов между последовательными сокращениями сердца и служит важным показателем, отражающим динамику активности ВНС и ее влияния на систему кровообращения [22]. Паттерны, наблюдаемые в VCP, показывают функциональное состояние созависимых регуляторных систем, которые работают в разных временных масштабах, чтобы адаптироваться к экологическим и психологическим проблемам. Более низкие степени вариации, скорректированной по возрасту VCP, указывают на хронический стресс, патологию или недостаточное функционирование регуляторных систем в нервной системе и связаны со смертностью от всех причин, в то время как более высокая степень вариации указывает на устойчивость и способность к саморегуляции и адаптации к изменяющимся требованиям [23].

Поскольку у добровольцев с преобладанием парасимпатических влияний поддержание адапционных процессов происходит за счет нервного контура регуляции, функционального резерва хватает для критических значений (воздействия сниженного МП до 1000 раз). У добровольцев с преобладанием симпатических моделирующих влияний поддержание приспособительных реакций осуществляется метаболическим регуляторным

контуром. В этой группе реакция на воздействие сниженного МП достаточно выражена при пороге его снижения от 350 раз.

Достоверно изменяющиеся параметры ДК ЭКГ G3 и G7 входят в суммарный показатель G3+G4+G7, где G4 — показатель, отражающий деполяризацию левого желудочка, что может говорить о наличии ишемических нарушений: вероятности нарушения кровотока и перфузии миокарда [20].

Показатель, характеризующий количество аритмий, увеличивался у группы с преобладанием парасимпатической регуляции в ночную сессию при сниженном в 1000 раз МП, однако он был в пределах нормы (1–2%). Но при просмотре индивидуальных записей было обнаружено наличие желудочковых экстрасистол (ЖЭ) у одного добровольца, в условиях плацебо их не отмечали.

ЖЭ — наиболее распространенная форма желудочковой аритмии [24]. Было отмечено, что у пациентов без структурных заболеваний сердца ЖЭ может представлять собой так называемую «аритмическую» форму начала развития гипертонической болезни, различных клинических вариантов начала ишемической болезни сердца, миокардита, различных форм кардиомиопатии, инсульта и другой цереброваскулярной патологии, а также быть независимым предиктором формирования жизнеугрожающих желудочковых аритмий, фибрилляции предсердий и внезапной смерти [25].

Известно, что регистрация ЖЭ возрастает при органических заболеваниях сердца, сопровождающихся гипоксемией, поражением миокарда и повышением симпатoadреалового звена ВНС. Было отмечено, что в норме число ЖЭ утром выше, чем в ночное время суток. Было показано, что наличие ЖЭ в ночной период времени может быть связано с преимущественно ночным типом циркадианного распределения у больных синдромом сонного апноэ [26].

Колебания силы ГМП, приводящие к снижению VCP и увеличению ЧСС, могут провоцировать сердечные аритмии [27]. Эта тенденция наиболее выражена в группе гипертоников [28]. Недавно было установлено, что повышенная активность ГМП в низкочастотных диапазонах связана с учащением случаев острой фибрилляции и трепетания предсердий [29]. По-видимому, более высокая интенсивность ГМП в низкочастотных диапазонах

связана с возникновением аритмии, а в высокочастотном диапазоне — с ишемическими кардиальными событиями [30].

ВЫВОДЫ

Таким образом, в ходе эксперимента со снижением МП нами были получены уникальные данные о механизмах вегетативной регуляции кровообращения и биоэлектрических процессах в миокарде. Однако важное ограничение исследования — это относительно небольшое

число его участников. Тем не менее один из пилотных экспериментов с влиянием ГМУ на физиологические процессы в организме человека на системном уровне, проведенный нами, имеет определяющее значение для разработки концепции последующих экспериментальных воздействий, связанных с редукцией МП для интересов космической физиологии и медицины. Сложность разработки такой концепции во многом определяется биоэтическими проблемами, связанными с исследованием малоизученных факторов (каким являются ГМУ) на организм человека.

Литература

- Zhang Z, Xue Y, Yang J, Shang P, Yuan X. Biological effects of hypomagnetic field: Ground-based data for space exploration. *Bioelectromagnetics*. 2021; 42 (6): 516–31. DOI: 10.1002/bem.22360.
- Cornélissen G, Halberg F, Schwartzkopff O, Delmore P, Katinas G, Hunter D, et al. Chronomes, time structures, for chronobioengineering for «a full life». *Biomed Instrum Technol*. 1999; 33: 152–87.
- Kuzmenko NV, Shchegolev BF, Pliss MG, Tsyrlin VA. The Influence of Weak Geomagnetic Disturbances on the Rat Cardiovascular System under Natural and Shielded Geomagnetic Field Conditions *Biophysics*. 2019; 64: 109–16.
- Otsuka K, Cornélissen G, Norboo T, Takasugi E, Halberg F. Chronomics and «Glocal» (combined Global and Local) assessment of human life. *Prog Theor Phys Suppl*. 2008; 173: 134–52.
- Pishchalnikov RY, Gurfinkel YI, Sarimov RM, Vasin AL, Sasonko ML, Matveeva TA, et al. Cardiovascular response as a marker of environmental stress caused by variations in geomagnetic field and local weather. *Biomed Signal Process Control*. 2019; 51: 401–10.
- Vieira CLZ, Alvares D, Blomberg A, Schwartz J, Coull B, Huang S, et al. Geomagnetic disturbances driven by solar activity enhance total and cardiovascular mortality risk in 263 US cities. *Environ Health*. 2019; 18: 83.
- Otsuka K, Cornélissen G, Kubo Y, Shibata K, Mizuno K, Ohshima H, et al. Anti-aging effects of long-term space missions, estimated by heart rate variability. *Sci Rep*. 2019; 9: 1–12.
- Ozheredov VA, Chibisov SM, Blagonravov ML, Khodorovich NA, Demurov EA, Goryachev VA, et al. Influence of geomagnetic activity and earth weather changes on heart rate and blood pressure in young and healthy population. *Int J Biometeorol*. 2017; 61: 921–9.
- Gurfinkel YI, Breus TK, Zenchenko TA, Ozheredov VA. Investigation of the effect of ambient temperature and geomagnetic activity on the vascular parameters of healthy volunteers. *Open J Biophys*. 2012; 2: 46–55.
- Zenchenko TA, Skavulyak AN, Khorseva NI, Breus TK. Characteristics of individual reactions of the cardiovascular system of healthy people to changes in meteorological factors in a wide temperature range. *Izvestiya, Atmos Ocean Phys*. 2013; 49: 783–98.
- Breus TK, Baevskii RM, Chernikova AG. Effects of geomagnetic disturbances on humans functional state in space flight. *J Biomed Sci Eng*. 2012; 5: 341–55.
- Vencloviene J, Babarskiene RM, Kizny D. A possible association between space weather conditions and the risk of acute coronary syndrome in patients with diabetes and the metabolic syndrome. *Int J Biometeorol*. 2017; 61: 159.
- Katsavriasis C, Preka-Papadema P, Moussas X, Apostolou T, Theodoropoulou A, Papadima T, et al. Helio-geomagnetic influence in cardiological cases. *Adv Space Res*. 2013; 51: 96–106.
- Alabdulgader A, McCraty R, Aktinson M, Vainoras I, Berškienė K, Mauricienė V, et al. Human heart rhythm sensitivity to earth local magnetic field fluctuations. *JVE International LTD. Journal of Vibroengineering*. 2015; 17 (6): 3271–9.
- Гурфинкель Ю. И., Васин А. Л., Матвеева Т. А., Сасонко М. Л. Оценка влияния гипомангнитных условий на капиллярный кровоток, артериальное давление и частоту сердечных сокращений. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2014; 48 (2): 24–30.
- Демин А. В., Суворов А. В., Орлов О. И. Особенности гемодинамики у здоровых мужчин в гипомангнитных условиях. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2021; 55 (2): 63–8.
- Походзей Л. В. Гипомангнитные условия как неблагоприятный фактор производственной среды [диссертация]. М., 2004.
- Kukanov VYu, Vasin AL, Demin AV, Schastlivtseva DV, Bubeev YuA, Suvorov AV, et al. Effect of Simulated Hypomagnetic Conditions on Some Physiological Parameters under 8-Hour Exposure. *Experiment Arfa-19. Hum Physiol*. 2023; 49: 138–46.
- Not author's list. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of The European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology (Membership of the Task Force listed in the Appendix). *Eur Heart J*. 1996; 93 (5): 1043–65.
- Иванов Г. Г., Сула А. С. Дисперсионное картирование: теоретические основы и клиническая практика. М.: Техносфера, 2009; 192 с.
- Носовский А. М., Попова О. В., Смирнов Ю. И. Современные технологии статистического анализа медицинских данных и способы их графического представления. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2023; 57 (5): 149–54.
- Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol*. 2014; 5: 1040.
- McCraty R, Shaffer F. Heart rate variability: New perspectives on physiological mechanisms, assessment of self-regulatory capacity, and health risk. *Glob Adv Health Med*. 2015; 4: 46–61.
- Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Mann DL, Tomaselli GF. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 11th ed. Elsevier Science, 2018; p. 2128.
- Олесин А. И., Константинова И. В., Зуева Ю. С., Соколова М. Д. Желудочковая экстрасистолия у пациентов без структурных изменений сердца: механизмы формирования, предикторы развития аритмогенной кардиомиопатии и принципы фармакологической и немедикаментозной терапии. *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний*. 2020; 8 (26): 28–38.
- Лышова О. В., Иванникова Л. В., Моргачев В. Е. Желудочковая экстрасистолия на протяжении сна у мужчин с синдромом z. *Вестник аритмологии*. 2008; 53: 33–40.
- Žiubrytė G, Jaruševičius G, Jurjonaitė J, Landauskas M, McCraty R, Vainoras A. Correlations between acute atrial fibrillation and local earth magnetic field strength. *Journal of Complexity of Health Sciences*. 2018; 2 (1): 31–4.
- Liboff AR. A role for the geomagnetic field in cell regulation. *Electromagn Biol Med*. 2010; 29 (3): 105–12.
- Jaruševičius G, Rugelis T, McCraty R, Landauskas M, Berškienė K, Vainoras A. Correlation between changes in local Earth's magnetic

field and cases of acute myocardial infarction. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15 (3): 399.

30. Žiubrytė G, Jaruševičius G, Landauskas M, McCraty R, Vainoras A. The

local earth magnetic field changes impact on weekly hospitalization due to unstable angina pectoris. *Journal of Complexity of Health Sciences*. 2018; 1 (1): 16–25.

References

- Zhang Z, Xue Y, Yang J, Shang P, Yuan X. Biological effects of hypomagnetic field: Ground-based data for space exploration. *Bioelectromagnetics*. 2021; 42(6): 516–31. DOI: 10.1002/bem.22360.
- Cornélissen G, Halberg F, Schwartzkopff O, Delmore P, Katinas G, Hunter D, et al. Chronomes, time structures, for chronobiotechnology for «a full life». *Biomed Instrum Technol*. 1999; 33: 152–87.
- Kuzmenko NV, Shchegolev BF, Pliss MG, Tsyrlin VA. The Influence of Weak Geomagnetic Disturbances on the Rat Cardiovascular System under Natural and Shielded Geomagnetic Field Conditions *Biophysics*. 2019; 64: 109–16.
- Otsuka K, Cornelissen G, Norboo T, Takasugi E, Halberg F. Chronomics and «Glocal» (combined Global and Local) assessment of human life. *Prog Theor Phys Suppl*. 2008; 173: 134–52.
- Pishchalnikov RY, Gurfinkel YI, Sarimov RM, Vasin AL, Sasonko ML, Matveeva TA, et al. Cardiovascular response as a marker of environmental stress caused by variations in geomagnetic field and local weather. *Biomed Signal Process Control*. 2019; 51: 401–10.
- Vieira CLZ, Alvares D, Blomberg A, Schwartz J, Coull B, Huang S, et al. Geomagnetic disturbances driven by solar activity enhance total and cardiovascular mortality risk in 263 US cities. *Environ Health*. 2019; 18: 83.
- Otsuka K, Cornelissen G, Kubo Y, Shibata K, Mizuno K, Ohshima H, et al. Anti-aging effects of long-term space missions, estimated by heart rate variability. *Sci Rep*. 2019; 9: 1–12.
- Ozheredov VA, Chibisov SM, Blagonravov ML, Khodorovich NA, Demurov EA, Goryachev VA, et al. Influence of geomagnetic activity and earth weather changes on heart rate and blood pressure in young and healthy population. *Int J Biometeorol*. 2017; 61: 921–9.
- Gurfinkel YI, Breus TK, Zenchenko TA, Ozheredov VA. Investigation of the effect of ambient temperature and geomagnetic activity on the vascular parameters of healthy volunteers. *Open J Biophys*. 2012; 2: 46–55.
- Zenchenko TA, Skavulyak AN, Khorseva NI, Breus TK. Characteristics of individual reactions of the cardiovascular system of healthy people to changes in meteorological factors in a wide temperature range. *Izvestiya, Atmos Ocean Phys*. 2013; 49: 783–98.
- Breus TK, Baevskii RM, Chernikova AG. Effects of geomagnetic disturbances on humans functional state in space flight. *J Biomed Sci Eng*. 2012; 5: 341–55.
- Vencloviene J, Babarskiene RM, Kiznys D. A possible association between space weather conditions and the risk of acute coronary syndrome in patients with diabetes and the metabolic syndrome. *Int J Biometeorol*. 2017; 61: 159.
- Katsavrias C, Preka-Papadema P, Moussas X, Apostolou T, Theodoropoulou A, Papadima T, et al. Helio-geomagnetic influence in cardiological cases. *Adv Space Res*. 2013; 51: 96–106.
- Alabdulgader A, McCraty R, Atkinson M, Vainoras I, Berškienė K, Mauricienė V, et al. Human heart rhythm sensitivity to earth local magnetic field fluctuations. *JVE International LTD. Journal of Vibroengineering*. 2015; 17 (6): 3271–9.
- Gurfinkel Yul, Vasin AL, Matveeva TA, Sasonko ML. Evaluation of the hypomagnetic environment effects on capillary blood circulation, blood pressure and heart rate. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2014; 48 (2): 24–30. Russian.
- Demin AV, Suvorov AV, Orlov OI. Osobennosti gemodinamiki u zdorovykh muzhchin v gipomagnitnykh usloviyakh. *Aviakosmicheskaya i jekologicheskaya medicina*. 2021; 55 (2): 63–8. Russian.
- Pokhodzey L. V. *Gipomagnitnye usloviya kak neblagopriyatnyy faktor proizvodstvennoy sredy* [dissertation]. M., 2004. Russian.
- Kukanov VYu, Vasin AL, Demin AV, Schastlivtseva DV, Bubeev YuA, Suvorov AV, et al. Effect of Simulated Hypomagnetic Conditions on Some Physiological Parameters under 8-Hour Exposure. *Experiment Arfa-19. Hum Physiol*. 2023; 49: 138–46.
- Not author's list. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of The European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology (Membership of the Task Force listed in the Appendix). *Eur Heart J*. 1996; 93 (5): 1043–65.
- Ivanov GG, Sula AS. *Dispersionnoe kartirovanie: teoreticheskie osnovy i klinicheskaya praktika*. M.: Tekhnosfera, 2009; p. 192. Russian.
- Nosovsky AM, Popova OV, Smirnov Yul. State-of-the art technologies of medical data statistical analysis and methods of graphic presentation. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2023; 57 (5): 149–54. Russian.
- Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol*. 2014; 5: 1040.
- McCraty R, Shaffer F. Heart rate variability: New perspectives on physiological mechanisms, assessment of self-regulatory capacity, and health risk. *Glob Adv Health Med*. 2015; 4: 46–61.
- Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Mann DL, Tomaselli GF. *Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. 11th ed. Elsevier Science, 2018; p. 2128.
- Olesin AI, Konstantinova IV, Zueva YuS, Sokolova MD. Ventricular extrasystoles in patients without cardiac structural changes: mechanisms of development, arrhythmogenic cardiomyopathy predictors, pharmacological and non-pharmacological treatment strategies. *International Heart and Vascular Disease Journal*. 2020; 8 (26): 28–38. Russian.
- Lyshova OV, Ivannikova LV, Morgachev VE. Ventricular premature beats during sleep in male patients with syndrome z. *Journal of Arrhythmology*. 2008; 53: 33–40. Russian.
- Žiubrytė G, Jaruševičius G, Jurjonaitė J, Landauskas M, McCraty R, Vainoras A. Correlations between acute atrial fibrillation and local earth magnetic field strength. *Journal of Complexity of Health Sciences*. 2018; 2 (1): 31–4.
- Liboff AR. A role for the geomagnetic field in cell regulation. *Electromagn Biol Med*. 2010; 29 (3): 105–12.
- Jaruševičius G, Rugelis T, McCraty R, Landauskas M, Berškienė K, Vainoras A. Correlation between changes in local Earth's magnetic field and cases of acute myocardial infarction. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15 (3): 399.
- Žiubrytė G, Jaruševičius G, Landauskas M, McCraty R, Vainoras A. The local earth magnetic field changes impact on weekly hospitalization due to unstable angina pectoris. *Journal of Complexity of Health Sciences*. 2018; 1 (1): 16–25.

ДЕЙСТВИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФЕНТАНИЛА НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ КРЫСЫ

О. В. Нечайкина [✉], Д. С. Лаптев, Д. В. Бобков, С. Г. Петунов, А. С. Радиллов

Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, Ленинградская область, Россия

Синтетические опиоиды короткого действия получили широкое распространение в анестезиологии в качестве обезболивающих средств за счет более выраженного эффекта в сравнении с природными веществами. Однако они обладают рядом побочных эффектов, которые при использовании фентанила в дозах, превышающих терапевтические, могут приводить к смертельным исходам. Целью работы было оценить кардиотропные эффекты высоких доз фентанила на модели изолированного по Лангендорфу сердца крысы. Параметры сократительной активности изолированного сердца крысы регистрировали с помощью системы PowerLab Data acquisition system 8/30 (ADInstruments, USA) с последующей обработкой в программе LabChartProUpgrade 7.0. При действии фентанила в концентрации $3,7 \times 10^{-6}$ М, что соответствует содержанию опиоида в крови при его внутривенном введении в дозе 5 ED₅₀, зарегистрировано увеличение продолжительности QT-интервала на ЭКГ на 22% и рост амплитуды зубца Т на 256% по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При действии фентанила в концентрации $7,4 \times 10^{-6}$ М (10 ED₅₀) зарегистрированы снижение ЧСС на 20,4% ($p < 0,05$) и коронароконстрикторное действие, выражающееся в увеличении давления перфузии на 18,6% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Увеличение концентрации фентанила до $1,5 \times 10^{-5}$ М (20 ED₅₀) сопровождалось ростом конечного диастолического давления на 83,5% ($p < 0,05$). Использование неселективного блокатора опиоидных рецепторов налмефена не приводило к отмене кардиовазотропных эффектов фентанила. Таким образом, фентанил обладает дозозависимым кардиотоксическим влиянием. Несмотря на снижение регистрируемых показателей изолированного сердца, полученные результаты свидетельствуют о сохранении сердечной деятельности миокарда при влиянии высоких доз опиоида.

Ключевые слова: опиоидные анальгетики, изолированное сердце, фентанил**Вклад авторов:** О. В. Нечайкина — концепция и дизайн исследования, сбор информации, обработка данных, написание текста; Д. С. Лаптев — концепция и дизайн исследования, сбор информации, обработка данных, редактирование; Д. В. Бобков — обработка данных, редактирование; С. Г. Петунов — обработка и интерпретация данных, общее руководство; А. Д. Радиллов — обработка и интерпретация данных.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГУП НИИ «ГПЭЧ» ФМБА России (протокол № 3 от 21 июля 2022 г.), выполнено с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Животных содержали в соответствии с ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными» от 2016 г.**✉ Для корреспонденции:** Ольга Валерьевна Нечайкина
ул. Заводская, зд. 6/2, корпус 93, гп Кузьмолловский, Кузьмолловское г.п., Всеволожский м. р-н, Ленинградская область, 188663, olga2278@mail.ru**Статья получена:** 06.03.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 26.06.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.021

THE EFFECT OF HIGH CONCENTRATIONS OF FENTANYL ON AN ISOLATED HEART OF RAT

Nechaykina OV [✉], Laptev DS, Bobkov DV, Petunov SG, Radilov AS

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency, Leningrad region, Russia

Synthetic short-acting opioids are commonly used in anesthesiology as painkillers because their effect is more pronounced compared to that of natural substances. However, they have a number of side effects that, when fentanyl is used in doses larger than therapeutic, can lead to a lethal outcome. This study aimed to assess the cardiotropic effects of high doses of fentanyl using a rat heart isolated in a Langendorff perfusion system. Parameters of the heart's contractile activity were recorded with the help of PowerLab Data acquisition system 8/30 (ADInstruments, USA) and processed in the LabChartProUpgrade 7.0 program. At the concentration of 3.7×10^{-6} M, which corresponds to the opioid content in blood after administration of a 5 ED₅₀ dose, fentanyl caused the QT interval duration to grow by 22%, as registered on an ECG, and a 256% spike of T wave (compared to control; $p < 0.05$). At the concentration of 7.4×10^{-6} M (10 ED₅₀), the drug decreased heart rate by 20.4% ($p < 0.05$) and triggered a coronary constrictor effect that raised the perfusion pressure by 18.6% ($p < 0.05$). Further increase of fentanyl concentration to 1.5×10^{-5} M (20 ED₅₀) was accompanied by an 83.5% growth of the end diastolic pressure ($p < 0.05$). Administration of nalmefene, non-selective opioid receptor blocker, did not cancel the cardiovasotropic action of fentanyl. Thus, fentanyl has a dose-dependent cardiotoxic effect. Despite the drop in the registered values of isolated heart's parameters, the results of this experiment confirm that cardiac activity persists under the influence of high doses of the opioid.

Keywords: opioid analgesics, isolated heart, fentanyl**Author contributions:** Nechaykina OV — study conceptualization and design, data collection, data processing, article authoring; Laptev DS — study conceptualization and design, data collection, data processing, article editing; Bobkov DV — data processing, article editing; Petunov SG — data processing and interpretation, general guidance; Radilov AD — data processing and interpretation.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology (Minutes #3 of July 21, 2022), and executed in compliance with the bioethics rules approved by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. The animals were kept in accordance with GOST 33215-2014 Laboratory Animals Keeping Guidelines (edition of 2016).**✉ Correspondence should be addressed:** Olga V. Nechaykina
Zavodskaya, 6/2, k. 93, gp Kuzmolovskiy, Kuzmolovskoye g. p., Vsevolozhsky r-n, Leningradskaya oblast, 188663, olga2278@mail.ru**Received:** 06.03.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 26.06.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.021

Синтетические опиоиды находят широкое применение в медицине в качестве мощных обезболивающих препаратов (опиоидные анальгетики) или в качестве дополнения к ненаркотическим анестетикам. В то же время серьезной социальной проблемой остается неконтролируемое

потребление наркотических веществ и связанный с этим рост случаев острых отравлений. По данным Государственного антинаркотического комитета, в 2022 г. в России было зарегистрировано 22 000 случаев острых отравлений наркотическими веществами и

психодислептиками, при этом со смертельным исходом — 10 000 случаев. В ряду неконтролируемо потребляемых наркотических веществ значительную долю составляет фентанил, который является агонистом преимущественно μ -опиоидных рецепторов, обнаруженных в центральной нервной системе, а также в клетках сердца, легких, сосудов и кишечника [1]. Основные побочные эффекты опиоидных анальгетиков хорошо известны — это индукция угнетения дыхания и повышенный риск фатального апноэ, гемодинамические изменения, высвобождение гистамина, реакции гиперчувствительности и серотониновый синдром [2]. Среди наиболее значимых причин смерти при передозировке фентанила выделяют угнетение дыхательного центра, отек легких, остановку дыхания, брадикардию и остановку сердца.

Данные литературы о прямом влиянии заведомо больших доз фентанила на миокард в результате передозировки весьма ограничены. Цель данной работы — оценить кардиотропные эффекты фентанила в токсических дозах на модели изолированного по Лангендорфу сердца крысы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения задач по оценке прямого воздействия опиоидов на миокард наиболее адекватна и информативна модель изолированного сердца, так как она позволяет провести исследование в отсутствие системных факторов регуляции, получить максимально объективную информацию о механизмах действия ксенобиотиков на параметры функциональной активности, установить степень нарушения функции под влиянием ксенобиотиков на органном уровне, а также оценить возможности фармакологической коррекции выявленных изменений.

Экспериментальные исследования проводили на модели изолированного сердца самцов белых беспородных крыс массой 300–350 г (филиал НИЦ «Курчатовский институт» — ПИЯФ — «Питомник лабораторных животных «Рапполово»; Ленинградская область).

В помещениях, где содержали животных, поддерживали следующие параметры микроклимата: температура 20 ± 1 °С, относительная влажность воздуха $60 \pm 5\%$, режим освещения — 12 ч день / 12 ч ночь. Доступ животных к воде и корму был свободным.

Выбор концентраций действующего вещества для исследования обоснован данными литературы, согласно которым фентанил при введении в хвостовую вену крысам в дозе $5 ED_{50}$ приводил к развитию поверхностной комы со 100%-й выживаемостью [3, 4]. ED_{50} фентанила для белых крыс по тесту «горячей пластинки» равна 0,01 мг/кг [5].

Для оценки устойчивости миокарда к влиянию высоких концентраций фентанила были выбраны концентрации: $3,7 \times 10^{-6}$ М, $7,4 \times 10^{-6}$ М и $1,5 \times 10^{-5}$ М, что эквивалентно содержанию фентанила в крови при его внутривенном введении в дозах $5 ED_{50}$, $10 ED_{50}$, $20 ED_{50}$.

Эвтаназию экспериментальных животных выполняли путем оглушения с последующим выполнением билатеральной трансабдоминальной торакотомии на предварительно зафиксированном в препаровальной ванночке животном. Выбор метода эвтаназии животных был продиктован необходимостью получения интактного сокращающегося сердца. По этой причине недопустимо использование методов, связанных с наркотизацией экспериментальных животных, или введения их в состояние системной гипоксии. После обнажения сердца

захватывали большим и указательным пальцами левой руки за основание, осторожно подтягивали вентрально и вниз, а ножницами перерезали магистральные сосуды. Сразу после извлечения сердца из грудной полости его помещали в холодный ($+4$ °С) физиологический раствор Кребса–Хензелейта, следующего состава (в мМ): NaCl — 118,99; KCl — 4,69; $NaHCO_3$ — 25; KH_2PO_4 — 1,18; $MgSO_4 \times 7 H_2O$ — 1,17; $CaCl_2 \times 2 H_2O$ — 2,5; EDTA — 0,03; $C_6H_{12}O_6$ — 5,5. Сердце за аорту фиксировали к канюле перфузионной установки Langendorff System (Panlab; Испания) зажимом типа «крокодил», а затем лигатурами. Перфузию сердца осуществляли через канюлю, при этом перфузат ретроградно поступал в левый желудочек. В качестве перфузата использовали подогретый ($+37$ °С) раствор Кребса–Хензелейта. Для приведения его pH к физиологическому уровню (7,39–7,41) и адекватной оксигенации сердца раствор непрерывно аэрировали карбогеном, состоящим из 95% кислорода и 5% углекислого газа. Перфузат подавали с помощью перистальтического насоса в режиме постоянного протока из расчета 10 мл в минуту на один грамм сырого веса сердца. В качестве контроля адекватности перфузии служило давление в контуре «насос – аортальная канюля» (не менее 50 мм рт. ст.). Стабилизация сократительной активности сердца происходила в течение 30 мин после его фиксации в рабочей установке, после чего регистрировали исходный уровень сократимости [6]. Величину давления в левом желудочке определяли катетером с полиэтиленовым баллоном. Параметры сократительной активности сердца регистрировали с помощью системы PowerLab Data acquisition system 8/30 (ADInstruments; США) с последующей обработкой в программе LabChartProUpgrade 7.0. Регистрируемые показатели: давление перфузии (ДП), отражающее коронарный проток; давление в левом желудочке (систолическое, диастолическое); частота сердечных сокращений (ЧСС, уд./мин); конечное диастолическое давление (КДД, мм рт. ст.), характеризующее способность к расслаблению левого желудочка. Параллельно с регистрацией параметров сократительной активности миокарда проводили запись электрической активности сердца (ЭКГ).

По окончании стабилизационного периода в перфузат добавляли фентанил в исследуемой концентрации с целью определения зависимости «доза–эффект». Время экспозиции с каждой концентрацией составляло 10 мин. Для оценки механизма рецепторного действия фентанила использовали неселективный антагонист опиоидных рецепторов налмефен в концентрации 1×10^{-6} М.

После завершения эксперимента проводили расчет пульсового давления (ПД, мм рт. ст.), интегрального показателя сократимости сердца за минуту ($\text{Int}_{1\text{мин}}$, усл. ед.), первой производной давления по времени ($+dP/dt$ и $-dP/dt$, мм рт. ст./с), характеризующей скорость развития сокращения и расслабления левого желудочка.

При анализе результатов оценивали динамику параметров сократительной и электрической активности сердца по сравнению со значениями в контрольной группе. Статистическую обработку результатов исследования проводили в программе GraphPad Prism 5.04 (США). Для выявления значимости различий показателей в динамике применяли Т-критерий Уилкоксона для связанных выборок, для выявления межгрупповых различий применяли U-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Таблица 1. Параметры сократительной активности изолированного сердца белых крыс при действии фентанила. Данные представлены в процентах по отношению к фону в виде $M \pm SE$

Перфузат	n	ДП	Int _{мин}	ЧСС	ПД	+dP/dt	-dP/dt	КДД
Контроль (физиологический раствор)	20	99,3 ± 1,8	99,4 ± 2,2	98,7 ± 4,1	103 ± 4,1	100,9 ± 1,5	101,5 ± 2,9	100,1 ± 3,2
Фентанил $3,7 \times 10^{-6}$ М	6	110,4 ± 7,8	95,1 ± 5,2	100,3 ± 6,0	102,4 ± 7,1	110,6 ± 4,4*	110,2 ± 2,8	78,9 ± 12,3
Фентанил $7,4 \times 10^{-6}$ М	6	118,6 ± 7,1*	93,3 ± 3,4	78,3 ± 5,5*	105,2 ± 2,4	109,3 ± 1,5*	104,8 ± 2,3	90,3 ± 8,3
Фентанил $1,5 \times 10^{-5}$ М	6	146,5 ± 6,1*	93,9 ± 2,2	70,4 ± 7,1*	94,5 ± 2,6	97,0 ± 0,7	94,0 ± 4,5	183,6 ± 18,8*
Фентанил $1,5 \times 10^{-5}$ М + налмефен 1×10^{-6} М	6	125,8 ± 13,6*	81,6 ± 4,7*	68,7 ± 15,2*	91,3 ± 6,9	92,9 ± 3,3	90,6 ± 1,7	195,8 ± 23,5*

Примечание: * — статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$; n — число наблюдений; ДП — давление перфузии; Int_{мин} — интегральный показатель сократимости сердца за минуту; ПД — пульсовое давление; +dP/dt и -dP/dt — первая производная давления по времени; КДД — конечное диастолическое давление.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенного исследования установлено, что на изолированном миокарде фентанил проявляет разнонаправленные эффекты в зависимости от действующей концентрации. Потенцирующее действие фентанила, выражающееся в увеличении скорости сокращения миокарда левого желудочка на 9,7 и 8,4%, выявлено в минимальной и средней концентрациях соответственно (табл. 1).

В средней ($7,4 \times 10^{-6}$ М) и высокой ($1,5 \times 10^{-5}$ М) концентрациях фентанил обладает вазоконстрикторным действием, которое характеризуется увеличением давления перфузии на 18,6 и 46,5% соответственно. Отрицательный лузитропный эффект, т. е. снижение функции диастолического расслабления миокарда, развивался только после применения фентанила в максимальной исследуемой концентрации, о чем также свидетельствует увеличение конечного диастолического давления на 83,5% по сравнению с контролем.

Под влиянием фентанила в средней и высокой концентрации показано статистически значимое снижение ЧСС на 20,4 и 28,3% соответственно по сравнению с контролем. Отрицательное хронотропное действие фентанила приводило к снижению в виде тенденции интегрального показателя сократимости миокарда на фоне сохраняющегося пульсового давления.

Кардиовазотропные эффекты фентанила в концентрации $1,5 \times 10^{-5}$ М сохраняются практически в полном объеме при введении в перфузат неселективного антагониста опиоидных рецепторов налмефена в концентрации 1×10^{-6} М.

В ходе изучения влияния фентанила в концентрациях $3,7 \times 10^{-6}$ М, $7,4 \times 10^{-6}$ М, $1,5 \times 10^{-5}$ М на электрическую активность изолированного сердца показано увеличение

продолжительности интервала QT по сравнению с контролем на 22%, 24% и 53% и рост амплитуды зубца T на 256%, 307% и 245% соответственно (табл. 2).

Увеличение скорости сокращения миокарда (+dP/dt), зарегистрированное при применении фентанила в концентрациях $3,7 \times 10^{-6}$ М и $7,4 \times 10^{-6}$ М, сопровождалось увеличением амплитуды зубца R на ЭКГ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

За продолжительный период изучения влияния фентанила на сердечно-сосудистую систему в целом и на миокард в частности накоплен большой объем фактических данных, полученных с применением моделей, основанных на объектах различного уровня организации. Применение модели изолированного сердца *ex vivo*, в условиях исключения модулирующих влияний центральной нервной системы, позволило получить наиболее полную и объективную характеристику кардиотропного действия фентанила, отдельные показатели которой подтверждаются многочисленными работами отечественных и зарубежных авторов [7–9].

В результате исследования прямого влияния фентанила на изолированное сердце установлено, что опиоид в минимальной исследуемой концентрации ($3,7 \times 10^{-6}$ М) вызывает увеличение скорости сокращения левого желудочка, являющейся чувствительным маркером его систолической функции, и не влияет на ЧСС и ПД. Отмеченные в виде тенденции увеличение скорости расслабления левого желудочка и снижение связанного с ней конечного диастолического давления свидетельствуют о положительном лузитропном действии фентанила на изолированное сердце крысы. Лузитропный эффект фентанила, вероятно, опосредуется

Таблица 2. Параметры ЭКГ изолированного сердца белых крыс при действии фентанила. Данные представлены в абсолютных величинах в виде $M \pm SE$

Группа животных	Интервал RR, с	Интервал PR, с	Продолжительность P, с	Интервал QRS, с	Интервал QT, с	Амплитуда R, мВ	Амплитуда T, мВ
Контроль	0,265 ± 0,020	0,061 ± 0,011	0,032 ± 0,010	0,022 ± 0,001	0,078 ± 0,007	4,016 ± 0,570	0,749 ± 0,152
Фентанил $3,7 \times 10^{-6}$ М	0,309 ± 0,270	0,064 ± 0,003	0,019 ± 0,002	0,024 ± 0,001	0,095 ± 0,004*	11,150 ± 1,852*	2,667 ± 0,942*
Фентанил $7,4 \times 10^{-6}$ М	0,373 ± 0,047	0,064 ± 0,005	0,019 ± 0,002	0,020 ± 0,002	0,097 ± 0,007*	10,790 ± 1,539*	3,047 ± 0,928*
Фентанил $1,5 \times 10^{-5}$ М	0,381 ± 0,063	0,069 ± 0,009	0,023 ± 0,002	0,025 ± 0,001	0,119 ± 0,003*	8,167 ± 0,905*	2,883 ± 0,450*

Примечание: * — статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$.

катехоламины, индуцирующие поглощение кальция в саркоплазматическом ретикулуме, что приводит к быстрой снижению его уровня в цитозоле.

Повышение концентрации фентанила в перфузате до $7,4 \times 10^{-6}$ М приводит к росту давления перфузии, обусловленному вазоконстрикцией коронарного русла сердца и развитию отрицательного хронотропного эффекта, выражающегося снижением ЧСС. Под действием данной концентрации фентанила сохраняется прирост скорости сокращения левого желудочка, в то время как положительный лизитропный эффект нивелируется практически полностью.

Введение в перфузат фентанила до достижения его концентрации $1,5 \times 10^{-5}$ М вызывает угнетение ЧСС и увеличение давления перфузии. В результате существенного уменьшения просвета коронарных сосудов, обеспечивающих поступление кислорода и энергетических субстратов, нарушается активный транспорт ионов кальция из цитозоля во внутриклеточные депо кардиомиоцитов. Все это выражается в значительном росте КДД, который характеризует снижение способности миокарда к расслаблению.

Предварительная обработка препаратов изолированного сердца неселективным антагонистом опиоидных рецепторов налмефеном (1×10^{-6} М) не приводила к отмене кардиовазотропных эффектов фентанила, используемого в концентрации $1,5 \times 10^{-5}$ М. Более того, на фоне налмефена отмечено прогрессирующее угнетение сократительной функции изолированного сердца по всем регистрируемым параметрам, за исключением давления перфузии. Дополнительное снижение функциональной активности миокарда под действием фентанила в условиях блокирования опиоидных рецепторов является возможным свидетельством того, что угнетающие кардиотропные эффекты фентанила реализуются в том числе посредством активации неопиоидных рецепторов [10].

При изучении влияния фентанила на электрическую активность изолированного сердца крысы зарегистрировано дозозависимое удлинение интервала QT, свидетельствующего об увеличении времени проведения возбуждения по желудочкам. Такое изменение может иметь место при нарушениях электролитного баланса, а также при

ишемии миокарда, что является неблагоприятным прогностическим признаком. Данный факт подтверждают результаты экспериментального исследования, в котором зарегистрировано значительное увеличение продолжительности потенциала действия изолированных кардиомиоцитов собаки под влиянием фентанила ($1,9 \times 10^{-7}$ М) [11]. Кроме того, о негативном влиянии исследуемых концентраций фентанила на миокард свидетельствует увеличение амплитуды зубца Т, отражающего процесс реполяризации миокарда желудочков, что может указывать на ишемию миокарда, вызванную повышением тонуса коронарных артерий и снижением притока кислорода.

Выводы

В ходе проведенного исследования проанализировано влияние фентанила на изолированное сердце крысы в концентрациях, существенно превышающих достигаемые при терапевтическом применении препарата. При действии фентанила в минимальной исследуемой концентрации ($3,7 \times 10^{-6}$ М) изменения зафиксированы преимущественно на ЭКГ. Показатели, характеризующие сократительную активность миокарда, практически не изменялись, за исключением роста скорости сокращения левого желудочка, являющейся чувствительным индикатором кардиотропного действия препарата. При увеличении концентрации фентанила в перфузате ($7,4 \times 10^{-6}$ М и $1,5 \times 10^{-5}$ М) сохраняются изменения электрической активности и появляются негативные изменения, выражающиеся в угнетении ЧСС, снижении коронарного протока, обусловленного сужением сосудов сердца, нарушении диастолической функции миокарда, косвенно указывающей на нарушение его энергообеспечения. Таким образом, фентанил обладает дозозависимым кардиотоксическим влиянием. Полученные результаты свидетельствуют о сохранении сердечной деятельности миокарда при влиянии высоких (сублетальных) доз опиоида. Кардиотоксические эффекты фентанила реализуются посредством активации как опиоидных, так и неопиоидных рецепторов, что следует учитывать при фармакологической коррекции его негативного воздействия.

Литература

1. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-Fentanyl. [Updated 2019 Apr 25].
2. Baldo BA. Toxicities of opioid analgesics: respiratory depression, histamine release, hemodynamic changes, hypersensitivity, serotonin toxicity. *Arch Toxicol.* 2021; 95 (8): 2627–42. DOI: 10.1007/s00204-021-03068-2. Epub 2021 May 11. PMID: 33974096.
3. Методические рекомендации. Моделирование интоксикаций депримирующими агентами и оценка выраженности депримирующего эффекта. М.: МР ФМБА России, 2013; 31 с.
4. Горбунов Д. В., Эрдниев Л. П., Нельга И. А., Медвецкий И. В., Микшта А. Ю., Андреева Е. Ю. Экспериментальные исследования биохимических систем организма белых крыс при острой интоксикации фентанилом. *Токсикологический вестник.* 2018; 6 (153): 25–27.
5. Лошадкин Н. А., Курляндский Б. А., Беженарь Г. В., Дарына Л. В. Военная токсикология. М: Медицина, 2006; 207 с.
6. Лаптев Д. С. Петунов С. Г., Бобков Д. В., Радилов А. С. Влияние б-эндорфина на функциональную активность изолированного сердца крысы. Роль дельта-опиоидных рецепторов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2015; 3 (55): 66–71.
7. Hanouz JL, Yvon A, Guesne G, Eustratiades C, Babatasi G, Rouet R, et al. The in vitro effects of remifentanyl, sufentanyl, fentanyl, and alfentanil on isolated human right atria. *Anesth Analg.* 2001; 93 (3): 543–9. DOI: 10.1097/0000539-200109000-00005. PMID: 11524316.
8. Gürkan A, Birgül Y, Ziya K. Direct cardiac effects in isolated perfused rat hearts of fentanyl and remifentanyl. *Ann Card Anaesth.* 2005; 8 (2): 140–4. PMID: 17762064.
9. Chernikov VS. Deĭstvie fentanila na sokratitel'nuiu sposobnost' aërobnogo perfuzirovannogo izolirovannogo serdtsa krysy [Effect of fentanyl on the contractile capacity of the aerobically perfused isolated rat heart]. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 1994; (4): 8–11. Russian.
10. Hatano Y, Toda N. Influence of fentanyl on the chronotropic response of isolated rabbit atria to cholinergic and adrenergic stimulation. *Jpn J Pharmacol.* 1978; 28 (1): 105–14. DOI: 10.1254/jip.28.105. PMID: 651008.
11. Blair JR, Pruet JK, Introna RP, Adams RJ, Balsler JS. Cardiac electrophysiologic effects of fentanyl and sufentanyl in canine cardiac Purkinje fibers. *Anesthesiology.* 1989; 71 (4): 565–70. DOI: 10.1097/0000542-198910000-00015. PMID: 2529795.

References

1. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-Fentanyl. [Updated 2019 Apr 25].
2. Baldo BA. Toxicities of opioid analgesics: respiratory depression, histamine release, hemodynamic changes, hypersensitivity, serotonin toxicity. *Arch Toxicol.* 2021; 95 (8): 2627–42. DOI: 10.1007/s00204-021-03068-2. Epub 2021 May 11. PMID: 33974096.
3. Metodicheskie rekomendacii. Modelirovanie intoksikacij deprimirujushimi agentami i ocenka vyrazhennosti deprimirujushhego jeffekta. M.: MR FMBA Rossii, 2013; 31 s.
4. Gorbunov DV, Jerdniev LP, Nelga IA, Medveckij IV, Mikshta AJu, Andreeva EJu. Jeksperimental'nye issledovanija biohimicheskikh sistem organizma belyh kryss pri ostroj intoksikacii fentanilom. *Toksikologicheskij vestnik.* 2018; 6 (153): 25–27. Russian.
5. Loshadkin NA, Kurljandskij BA, Bezhenar GV, Darina LV. Voennaja toksikologija. M: Medicina, 2006; 207 s. Russian.
6. Laptev DS, Petunov SG, Bobkov DV, Radilov AS. Vlijanie b-jendorfina na funkcional'nuju aktivnost' izolirovannogo serdca krysy. Rol' del'ta-opioidnyh receptorov. *Regionarnoe krovoobrashhenie i mikroциркуляция.* 2015; 3 (55): 66–71. Russian.
7. Hanouz JL, Yvon A, Guesne G, Eustratiades C, Babatasi G, Rouet R, et al. The in vitro effects of remifentanyl, sufentanyl, fentanyl, and alfentanil on isolated human right atria. *Anesth Analg.* 2001; 93 (3): 543–9. DOI: 10.1097/00000539-200109000-00005. PMID: 11524316.
8. Gürkan A, Birgül Y, Ziya K. Direct cardiac effects in isolated perfused rat hearts of fentanyl and remifentanyl. *Ann Card Anaesth.* 2005; 8 (2): 140–4. PMID: 17762064.
9. Chernikov VS. Dejstvie fentanila na sokratitel'nuiu sposobnost' aërobnogo perfuzirovannogo izolirovannogo serdtsa krysy [Effect of fentanyl on the contractile capacity of the aerobically perfused isolated rat heart]. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 1994; (4): 8–11. Russian.
10. Hatano Y, Toda N. Influence of fentanyl on the chronotropic response of isolated rabbit atria to cholinergic and adrenergic stimulation. *Jpn J Pharmacol.* 1978; 28 (1): 105–14. DOI: 10.1254/jip.28.105. PMID: 651008.
11. Blair JR, Pruett JK, Introna RP, Adams RJ, Balsler JS. Cardiac electrophysiologic effects of fentanyl and sufentanyl in canine cardiac Purkinje fibers. *Anesthesiology.* 1989; 71 (4): 565–70. DOI: 10.1097/00000542-198910000-00015. PMID: 2529795.

РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕСТИРОВАНИЯ УРОВНЯ БАЗОВЫХ ЗНАНИЙ ПО ВОПРОСАМ ОКАЗАНИЯ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ У РАЗНЫХ КАТЕГОРИЙ НАСЕЛЕНИЯ

Ю. В. Иванов¹, В. Р. Станкевич¹, О. В. Какурин¹, Е. А. Величко¹✉, А. В. Смирнов¹, С. В. Горнов²

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Медицинский институт непрерывного образования ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Москва, Россия

Своевременное оказание первой помощи (ПП) при острых состояниях позволяет улучшить результаты лечения и иногда спасти человеческую жизнь. Оценка уровня базовых знаний по ПП поможет сформировать рациональную систему обучения и распространения знаний по ПП. Целью исследования было провести количественный и качественный анализ ошибок, допущенных населением Москвы и Московской области при оценке уровня их базовых знаний по вопросам оказания ПП. Разработана анкета, включающая 10 вопросов (четыре варианта ответа, один — правильный). Перед проведением тестирования методом опроса установлено, что все респонденты имели базовые знания по ПП. Общая выборка исследования составила 946 человек (15 лет и старше) и разделена на группы по наличию медицинского образования. Установлен общий низкий уровень базовых знаний по вопросам оказания ПП, преимущественно за счет респондентов, не имеющих медицинского образования. При качественном анализе ответов выявлено большое число грубых ошибок, отражающих высокий риск совершения ошибочных действий, которые приведут к ухудшению состояния пострадавшего, либо оказывающего ПП. Проведенное исследование подтверждает факт недостаточной информированности различных категорий граждан, в том числе медицинских работников, по вопросам оказания ПП, что свидетельствует о необходимости усовершенствования системы обучения и распространения знаний оказания ПП среди населения.

Ключевые слова: первая помощь, пострадавший, жизнеугрожающее состояние, анкета, информированность, знания

Вклад авторов: Ю. В. Иванов, В. Р. Станкевич, О. В. Какурин, Е. А. Величко, А. В. Смирнов, С. В. Горнов — анализ литературы, планирование исследования, сбор и анализ данных, подготовка рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФМБА России (протокол № 5 от 19 декабря 2022 г.); добровольное согласие на участие в исследовании подписано всеми участниками.

✉ **Для корреспонденции:** Евгений Александрович Величко
Боровское шоссе, д. 33, кв. 81., г. Москва, 119633, Россия; velichko_eugen@mail.ru

Статья получена: 23.05.2024 **Статья принята к печати:** 15.06.2024 **Опубликована онлайн:** 27.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.027

RESULTS OF TESTING BASIC KNOWLEDGE ABOUT THE ISSUES OF FIRST AID IN DIFFERENT CATEGORIES OF PEOPLE

Ivanov YuV¹, Stankevich VR¹, Kakurin OV¹, Velichko YeA¹✉, Smirnov AV¹, Gornov SV²

¹ Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

Timely first aid (FA) for acute conditions makes it possible to improve treatment outcomes and sometimes save human life. Assessing the basic knowledge about FA will help develop a rational system for training and dissemination of knowledge about FA. The study was aimed to perform quantitative and qualitative analysis of mistakes made by residents of Moscow and Moscow Region during assessment of their basic knowledge about FA. The questionnaire consisting of 10 questions (four possible answers, among them one correct) was created. Polling conducted before testing showed that all the respondents had basic knowledge about FA. The total study sample was 946 individuals (aged 15 years and older), it was divided into group based on the fact of having/not having medical education. It was found that the basic knowledge about FA was generally low, mainly due to the respondents having no medical education. Qualitative analysis of the answers revealed a large number of gross mistakes reflecting a high risk of wrong actions leading to deterioration of health of a victim or FA provider. The study confirms the fact of insufficient awareness of various categories of citizens, including healthcare professionals, on the issues of FA, which suggests the need to improve the system for training and dissemination of knowledge about FA across the population.

Keywords: first aid, victim, life-threatening condition, questionnaire

Author contribution: Ivanov YuV, Stankevich VR, Kakurin OV, Velichko YeA, Smirnov AV, Gornov SV — literature review, study planning, data acquisition and analysis, manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Federal Scientific and Clinical Center of FMBA of Russia (protocol No. 5 dated 19 December 2022); all subjects submitted the informed consent to participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Yevgeniy A. Velichko
Borovskoe shosse, 33, apt. 81, Moscow, 119633, Russia; velichko_eugen@mail.ru

Received: 23.05.2024 **Accepted:** 15.06.2024 **Published online:** 27.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.027

В связи с увеличением в последнее время числа возникновения чрезвычайных ситуаций с большим числом пострадавших, острых состояний и травм, подготовка различных категорий населения по вопросам оказания первой помощи (ПП) является очень важным вопросом. Статистические исследования, проведенные в России, показывают, что из 70% нуждающихся в ПП при различных состояниях только в 2% случаев она была оказана [1]. Своевременное и правильное действие

очевидцев происшествия по оказанию ПП при состояниях, сопровождающихся ухудшением состояния здоровья человека, позволяет не только улучшить результаты лечения, но и зачастую спасти человеческую жизнь [2].

Готовность людей к оказанию ПП определяется не только степенью теоретической и практической подготовки, но и боязнью юридического преследования при возможном причинении вреда пострадавшему во время или после оказания ПП [1, 4, 5].

В нашей стране с обучением ПП люди впервые сталкиваются в школе на уроках по основам безопасности жизнедеятельности. Международное научное сообщество проводит исследования по обучению детей навыкам оказания ПП. Данные свидетельствуют о том, что после обучения ПП дети могут быть способны правильно оказывать ПП [6]. По нашему мнению, в настоящее время занятия по ПП в некоторых образовательных организациях носят формальный характер: обучение проводят по неутвержденным программам либо устаревшим учебно-методическим пособиям, отсутствуют симуляторы и манекены для отработки практических навыков у обучающихся. При организации практической части обучения алгоритмы оказания ПП должны отрабатываться до автоматизма, с использованием специального оснащения и с учетом категории обучающихся (дискретный подход) [1, 7]. Обучение ПП входит в комплекс мероприятий по формированию культуры безопасного поведения и профилактики различных рисков [3, 12]. Знания и навыки оказания ПП входят в перечень трудовых функций и профессиональных компетенций педагогов, инструкторов и тренеров [8, 9].

Частота случаев внезапной смерти на уроках по физической культуре в России в 2 раза превышает соответствующий показатель других развитых стран и составляет 1,4 случая на 100 тыс. обучающихся или до 200 случаев в год. Случаи травматизма на уроках по физической подготовке составляют 2–5% от общего травматизма [10].

Педагогические работники российской системы образования недостаточно компетентны в вопросах оказания ПП, и их уровень готовности к оказанию ПП в целом низкий [3, 11]. В настоящее время при обучении в автошколах курс по ПП является обязательным элементом программы подготовки водителей, а в некоторых других образовательных учреждениях его вводят по инициативе руководителей, понимающих важность данного предмета для увеличения числа лиц, готовых правильно оказать ПП. Часть заинтересованных работодателей в рамках курса по охране труда проводят занятия по ПП не только 1 раз в три года (согласно нормативным документам), но и дополнительно, так как ценят знания по оказанию ПП, указываящие на уровень компетентности, подготовленности и ответственности [13–15].

Учитывая вышесказанное, видно, что в настоящий момент необходимо широкое распространение знаний в области методик и правил оказания ПП при травмах, острых заболеваниях и других состояниях. Законодательством РФ регламентирована обязательная подготовка по вопросам оказания ПП некоторых категорий граждан (сотрудников органов внутренних дел Российской Федерации, военнослужащих и работников Государственной противопожарной службы, спасателей аварийно-спасательных формирований и аварийно-спасательных служб и др.) [16, 17]. Однако, наряду с этим, до сих пор не существует законодательно закрепленной системы подготовки остальных категорий граждан по оказанию ПП, что тормозит распространение знаний в данной области. Проведение анализа уровня базовых знаний населения по вопросам оказания ПП помогут определить приоритетные направления в развитии системы обучения населения ПП.

Цель исследования — провести количественный и качественный анализ ошибок, допущенных населением Москвы и Московской области при оценке уровня их базовых знаний по вопросам оказания ПП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Перед проведением тестирования методом опроса было установлено, что все респонденты обучались ранее вопросам оказания ПП в рамках предмета «основы безопасности жизнедеятельности» в школе, профессиональных училищах, колледжах, а также в высших учебных заведениях и автошколах, т. е. у всех имелись базовые знания по ПП.

С целью проведения количественного и качественного анализа ошибок, допущенных населением Москвы и Московской области при оценке уровня их базовых знаний по вопросам оказания ПП, нами была разработана специальная анкета, включающая 10 вопросов (четыре варианта ответа, один из которых — правильный). Ответы на вопросы анкеты позволяют выявить возможную опасность для оказывающего ПП при неверных действиях в конкретных ситуациях, возможное ухудшение состояния пациента при неправильных действиях оказывающего помощь, использование лекарственных средств без назначения врача на этапе ПП, знание новых стандартов и технологий в оказании ПП, знание понятия «первая помощь».

Общая выборка при проведении исследования составила 946 человек (15 лет и старше) и разделена на группы по наличию медицинского образования (имеется, отсутствует).

Статистическую обработку полученных результатов проводили по программе Microsoft Excel-XP и STATISTICA 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По уровню образования респонденты разделились следующим образом: не имеют медицинского образования — 741 человек (78,3%); имеют медицинское образование — 205 человек (21,7%).

При анализе ответов на предложенные вопросы теста проведена количественная и качественная оценка типичных ошибок, допущенных испытуемыми, на предмет выявления возможных последствий для пациента и оказывающего помощь, при реализации ошибочного алгоритма.

В вопросе теста «Каковы будут ваши действия, если при входе в помещение вы увидели лежащего на полу пострадавшего, с оборванным электропроводом, торчащим из стены, который находится в его руке (на обращенную речь пострадавший не отвечает)?» предлагалось оказать помощь пострадавшему с электротравмой. Правильный ответ («Отключить рубильник, попытаться одернуть провод изолирующим предметом (например палкой, если не знаете, где расположен рубильник), вызвать скорую медицинскую помощь и приступить к оказанию ПП» [19, 20]) дали 505 (53,4%) человек (126 (61,5%) — медицинских работников и 379 (51,1%) — респондентов без медицинского образования). Неверно ответили 441 (46,6%) человек, из них 79 (38,5%) — медицинские работники и 362 (48,9%) — респонденты без медицинского образования. Готовность респондентов оказать помощь пострадавшему с электротравмой, не обесточив помещение, несомненно, могло бы привести к их поражению электрическим током.

В вопросе «Каковы будут ваши действия, если при входе вы обнаружили взрослого пострадавшего без сознания, без дыхания в закрытом задымленном гараже?» предлагалось оказать помощь пострадавшему с отравлением угарным газом. Правильно ответили на данный

вопрос («Вызвать бригаду скорой медицинской помощи, удалить пострадавшего из гаража и начать проведение сердечно-легочной реанимации» [18, 20]) 760 человек (80,3%), из них 188 — медицинских работники (91,7%) и 572 человека (77,2%) — без медицинского образования. Неверно ответили — 186 (19,7%) респондентов, из них 17 (8,3%) — медицинских работников и 169 (22,8%) — респонденты без медицинского образования, решив, что удаление пострадавшего из задымленного помещения не является первоочередной задачей, тем самым подвергнув себя и пострадавшего вероятной опасности.

На вопрос о действиях при укусе змеи (при наличии следующих вариантов ответа: отсосать яд из раны; сделать глубокий крестообразный разрез в области укуса и выдавить яд с кровью; прижечь место укуса раскаленным металлическим предметом; ничего из вышеперечисленного) — правильный ответ («Ничего из вышеперечисленного», так как необходимо обездвигнуть укушенную конечность и приложить к месту укуса холод) [18, 20]) дали 237 (25,1%) респондентов: 79 (38,5%) — медицинские работники, 158 (21,3%) — без медицинского образования. 709 (74,9%) респондентов (126 (61,5%) — медицинские работники и 583 (78,7%) без медицинского образования) готовы были подвергнуть себя опасности (отсосать яд змеи из раны либо принести больший вред пациенту (прижечь место укуса раскаленным металлическим предметом, либо сделать глубокий крестообразный разрез).

На вопрос, отражающий действия свидетеля эпилептического припадка у мужчины 30–35 лет («Вы явились свидетелем эпилептического припадка у мужчины 30–35 лет. Каковы ваши действия?»), правильный ответ («Подложить под голову пострадавшего мягкий валик и ждать окончания судорог, вызвать бригаду скорой медицинской помощи» [21, 22]) дали 305 (32,2%) респондентов, из них 112 (54,6%) — с медицинским образованием, 193 (26,0%) — без медицинского образования). 641 (67,8%) респондент (из них 93 (45,4%) — медицинские работники и 548 (74,0%) — без медицинского образования) дали неверные ответы (немедленно разжать челюсти пострадавшего для освобождения дыхательных путей (отдельно) либо совместно с правильным ответом, «ничего из вышеперечисленного»). Хотя достоверно известно, что нарушение дыхания во время судорог возникает из-за отсутствия адекватного сокращения дыхательной мускулатуры, а вышеуказанная манипуляция может привести к повреждению зубов/протезов, травматизации слизистой оболочки полости рта, и как следствие вышесказанного — аспирации кровью и/или инородным телом (обломками зубов) [22].

На вопрос «Находясь в школьной лаборатории, вы стали свидетелем попадания раствора соляной кислоты в глаза ребенку. Каковы ваши действия?» правильный ответ («Промыть глаза проточной водой от носа к виску, вызвать бригаду скорой медицинской помощи» [23]) дали 270 (28,5%) респондентов, из них 44 (21,5%) — медицинские работники, а 226 (30,5%) — без медицинского образования. Неверные ответы (срочно промыть глаза слабым раствором щелочи и наложить повязку на глаза, вызвать бригаду скорой медицинской помощи; промыть глаза проточной водой от виска к носу, вызвать «03»; ничего из вышеперечисленного) дали 676 (71,5%) респондентов (161 (78,5%) — медицинских работников и 515 (69,5%) — без медицинского образования), они предлагали промыть глаза слабым раствором щелочи, либо водой от виска к носу, либо не делать ничего из перечисленного. При

ожоге химическими средствами запрещено использовать нейтрализатор (в данном случае щелочь), так как реакция нейтрализации экзотермическая (с выделением тепла), что может усугубить повреждение тканей [24]. Кроме того, промывать глаза необходимо от носа к виску, во избежание попадания химиката в носослезный канал, и ожога слизистой оболочки носовой полости [23].

На вопрос «Каковы ваши действия, если вы явились свидетелем того, как ваш приятель подавился инородным телом (во время еды в столовой), но удалить инородное тело вам не удастся, а ваш знакомый падает, теряет сознание, перестает дышать» правильно ответили («Начинать проводить искусственное дыхание и непрямой массаж сердца» [18]) 189 (20,0%) респондентов, из них 56 (27,3%) — медицинские работники и 133 (17,9%) — без медицинского образования. Неверные ответы (посылать кого-либо за помощью, а самому пытаться, открыв рот пострадавшего, нащупать пальцем инородное тело и удалить его; дожидаться приезда медработников, понимая, что СЛР проводить бесполезно; ничего из вышеперечисленного) дали 757 респондентов (80,0%), из них 149 (72,7%) — медицинские работники и 608 (82,1%) — без медицинского образования. Извлечение инородного тела верхних дыхательных путей вслепую категорически запрещено, тем более это затягивает время начала сердечно-легочной реанимации и увеличивает вероятность продвижения инородного тела глубже в дыхательные пути.

На вопрос «Каковы ваши действия, когда придя в гости, вы стали свидетелем того, как ребенок опрокинул на себя кастрюлю с кипятком, и вы видите, что повреждение обширное, но поверхностное» правильно ответили («Промывать поврежденную поверхность холодной проточной водой в течение 10–15 мин, вызвать бригаду скорой медицинской помощи, наложить сухую стерильную повязку» [18]) 313 (33,1%) респондентов, из них 77 (37,6%) — медицинские работники, 236 (31,8%) — без медицинского образования. Неверные ответы (немедленно обработать пораженную поверхность противоожоговым гелем «Олазол» или «Пантенол», вызвать бригаду скорой медицинской помощи и наложить стерильную повязку; вызвать бригаду скорой медицинской помощи и наложить стерильную повязку; ничего из вышеперечисленного) дали 633 (66,9%) респондента, из них 128 (62,4%) — медицинские работники, 505 (68,2%) — без медицинского образования.

В данных вопросах говорилось о возможном использовании противоожоговых мазей «Олазол», «Пантенол» при ожогах и перекиси водорода для обработки раны. Согласно нормативным документам, применение лекарственных средств на этапе оказания ПП не регламентировано [17]. Указанные лекарственные средства не входят в перечень состава аптечки ПП. В обоих случаях применение этих препаратов было бы неуместно на этапе оказания ПП, независимо от уровня образования опрашиваемых.

В вопросе «Каково соотношение вдохов и компрессий при проведении сердечно-легочной реанимации у взрослого пострадавшего двумя спасателями?» оценивались знания опрашиваемых о соотношении компрессий и искусственного дыхания при проведении СЛР. Правильно ответили («Два вдоха к 30 компрессиям» [18, 20]) 225 (23,8%) респондентов, из них 100 (48,8%) — с медицинским образованием, 125 (16,9%) — без медицинского образования. Неверные ответы (один вдох к пяти компрессиям; два вдоха к 15 компрессиям;

ничего из вышеперечисленного) дали 721 (76,2%) респондент. Такие соотношения компрессий и вдохов, как 15 : 2 и 5 : 1, не соответствуют рекомендованным принципам проведения СЛР.

На вопрос «Как долго вы должны проводить СЛР пострадавшему с отсутствием сознания, дыхания, сердечной деятельности?» правильный ответ («До приезда медицинских работников» [18, 25]) дали 641 (67,8%) респондент, из них 173 (84,4%) — с медицинским образованием, 468 (63,2%) — без медицинского образования. Неверные ответы («5 мин»; «15 мин»; «ничего из вышеперечисленного») дали 305 (32,2%) респондентов, из них 32 (15,6%) — с медицинским образованием, 273 (36,8%) — без медицинского образования.

На вопрос «Как определить наличие сознания?» правильный ответ («Спросить, обратившись к пострадавшему: «Вы меня слышите?», и похлопать его по плечу» [18, 25]) дали 364 (38,5%) респондентов, из них 144 (70,2%) — с медицинским образованием, 220 (29,7%) — без медицинского образования. Неверные ответы («по зрачкам, пульсу на сонных артериях», «по определению рефлексов, зрачкам», «ничего из вышеперечисленного») дали 582 (61,5%) респондента, из них 61 (29,8%) — с медицинским образованием, 521 (70,3%) — без медицинского образования.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Допущенные ошибки в вопросах тестирования отражают действия, которые могут ухудшить состояние пострадавшего, либо принести вред оказывающему ПП,

что приведет к увеличению количества пострадавших на месте происшествия и затруднению оказания помощи квалифицированными специалистами. Полученные данные соотносятся с результатами Клэр Луиза Херд и соавт. (2020 г.) по исследованию знаний общественности о первой помощи, проведенному на основании систематического анализа литературы (40 статей) по оказанию первой помощи и неотложной помощи в чрезвычайных ситуациях из 22 стран (преимущественно из Азии, Австралии, Европы и США) и подтверждают, что у населения имеется общий низкий уровень проверенных знаний по конкретным навыкам оказания первой помощи [26].

ВЫВОДЫ

При количественном и качественном анализе ошибок, допущенных респондентами при оценке базовых знаний по вопросам оказания ПП, установлен общий низкий уровень базовых знаний, отмечается настораживающий уровень грубых ошибок при ответах на вопросы о возможных действиях респондентов при оказании ПП. Все это отражает высокий риск совершения респондентами ошибочных действий, не только значительно ухудшающих состояние пострадавшего, но и причиняющих вред оказывающему помощь. Проведенное исследование подтверждает факт недостаточной информированности различных категорий граждан (в том числе медицинских работников) по вопросам оказания ПП, и необходимость усовершенствования системы распространения знаний оказания ПП среди населения.

Литература

1. Болотова И. А., Задорожная Н. А., Дубкова Н. В., Меркушев И. А., Макоева Ф. К. Нормативно-правовая база обучения преподавателей физической культуры и спорта навыкам оказания первой помощи при неотложных состояниях. Теория и практика физической культуры. 2023; (5): 75–77.
2. Гигаль А. Обучение населения правилам оказания первой помощи и волонтерское движение. В сборнике: Первая помощь 2020: Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции (в соответствии с планом научно-практических мероприятий МЗ РФ); 9–10 октября 2020 г.; Москва: ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России, 2020; с. 54–58.
3. Пискунова В. В. Обучение первой помощи в ВУЗе как компонент педагогики безопасности. Вестник Прикамского социального института. 2023; 3 (96): 90–93.
4. Яковлева Е. В., Фролов А. С. Рассмотрение современных методов обучения оказания первой помощи пострадавшим, на примере использования программного обеспечения — «СПЭК. Первая помощь». Вестник сельского развития и социальной политики. 2020; 3 (27): 38–43.
5. Биркул А. А., Дежурный Л. И. Нормативно-правовое регулирование оказания первой помощи и обучения оказанию первой помощи при внегоспитальной остановке сердца. Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. 2021; 10 (1): 141–52. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2021-10-1-141-152>.
6. Perkins GD, Graesner JT, Semeraro F, et al. European resuscitation council guidelines 2021– executive summary. Resuscitation. 2021; 161 p.
7. Гаязетдинова А. Э., Мелякова О. А. Организация обучения оказания первой помощи. Аграрное образование и наука. 2022; 4: 9–14.
8. Болотова И. А., Задорожная Н. А., Дубкова Н. В. Инновационный подход к изучению дисциплины «Основы медицинских знаний» с отработкой профессиональных компетенций по результатам проведенной военно-патриотической игры «По следам партизанских отрядов». Ученые записки университета им. П. Ф. Лесгафта. 2022; 8 (210): 34–36.
9. Об образовании в Российской Федерации: Федеральный закон Российской Федерации от 29.12.2012 № 273-ФЗ [принят Гос. Думой 21.12.2012] (с изменениями на 6 февраля 2023 года). Электронный фонд «Кодекс». Доступно по ссылке: <https://docs.cntd.ru/document/902389617> (дата обращения: 24.02.2023).
10. Солодовник Е. М. Травматизм на уроках физической культуры: особенность, причины и профилактика. Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2019; 1–2: 165–68.
11. Колодкин А. А., Колодкина В. И., Владимирова О. В., Муравьева А. А. Обучение педагогических работников образовательных учреждений навыкам оказания первой помощи. Медицина катастроф. 2017; 3 (99): 56–59.
12. Дежурный Л. И., Закурдаева А. Ю., Гуменюк С. А., Колодкин А. А. Опыт профильной комиссии Минздрава России по направлению «первая помощь» по совершенствованию перечня мероприятий по оказанию первой помощи: организационно-правовой аспект. Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2024; 1: 667–82. <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2024-1-667-682>.
13. Подберезина С. Г. Новый порядок обучения по охране труда: организация и проведение обучения по оказанию первой помощи пострадавшим. Кадровые решения. 2022; 8: 83–92.
14. Об обучении работников оказанию первой помощи пострадавшим: Письмо Министерства труда и социальной защиты от 11 апреля 2017 года №15-2/В-950. Электронный фонд «Кодекс». Доступно по ссылке: <https://docs.cntd.ru/document/456060729> (дата обращения: 24.02.2023).
15. Дьяков И. И., Романов Д. С. Инновационные подходы к

- обучению старших школьников оказанию первой помощи. Вестник Томского государственного педагогического университета. Томск, 2013; 4 (132): 136–38.
16. Федеральный закон от 14.04.2023 N 135-ФЗ (ред. от 25.12.2023) «О внесении изменений в статью 31 Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
 17. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации: Федеральный закон от 21 ноября 2011 года № 323 [принят Гос. Думой 01.11.2011] (редакция, действующая с 11 января 2023 года). Электронный фонд «Кодекс». Доступно по ссылке: <https://docs.cntd.ru/document/902312609> (дата обращения: 24.02.2023).
 18. Дежурный Л. И., Шойгу Ю. С., Гуменюк С. А., Неудахин Г. В., Закурдаева А. Ю., Колодкин А. А., и др. Первая помощь: учебное пособие для лиц, обязанных и (или) имеющих право оказывать первую помощь. М.: ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России, 2018; 68 с. Доступно по ссылке: <https://allfirstaid.ru/system/files/umk/Ucha-n-L.pdf>;
 19. Тулупов А. Н., Лапшин В. Н., Михайлов Ю. М. Клинические рекомендации (протокол) по оказанию скорой медицинской помощи при поражении электротоком и молнией. 2014; 10 с.
 20. Международное руководство по первой помощи и реанимации. Женева. 2016; 192 с.
 21. International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies. Red Cross Red Crescent Networks. International first aid resuscitation and education guidelines 2020. Available from: https://www.globalfirstaidcentre.org/wp-content/uploads/2021/02/EN_GFARC_GUIDELINES_2020.pdf (дата обращения 27.12.2022).
 22. Биркун А. А., Дежурный Л. И. Оказание первой помощи при генерализованных судорогах: современные подходы и возможности совершенствования. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2023; 15 (2): 115–24. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2023.142>.
 23. Ожогов А. Е. Клинические рекомендации МЗ РФ. 2020; 44 с.
 24. Соболев А. Е., редактор. Учебная книга по химии: пособие для учащихся 8 класса общеобразовательных учреждений. Тверь: СФК-офис, 2021; 368 с.
 25. Дежурный Л. И., Шойгу Ю. С., Гуменюк С. А., Неудахин Г. В., Закурдаева А. Ю., Колодкин А. А., и др. Атлас первой помощи: учебное пособие для сотрудников Госавтоинспекции. Москва: Издательство «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова», 2022; 72 с.
 26. Heard C, Pearce J, Rogers B. Mapping the public first-aid training landscape: a scoping review. Disasters. 2020; 44 (1): 205–28. DOI: 10.1111/disa.12406.

References

1. Bolotova IA, Zadorozhnaja NA, Dubkova NV, Merkushev IA, Makoeva FK. Normativno-pravovaja baza obuchenija prepodavatelej fizicheskoj kul'tury i sporta navykam okazanija pervoj pomoshhi pri neotloznych sostojanijah. Teorija i praktika fizicheskoj kul'tury. 2023; (5): 75–77. Russian.
2. Gigal A. Obuchenie naselenija pravilam okazanija pervoj pomoshhi i volonterskoe dvizhenie. V sbornike: Pervaja pomoshh' 2020: Sbornik tezisov Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii (v sootvetstvii s planom nauchno-prakticheskij meroprijatij MZ RF); 9–10 oktjabrja 2020 g.; Moskva: FGBU «CNIIOIZ» Minzdrava Rossii, 2020; s. 54–58. Russian.
3. Piskunova VV. Obuchenie pervoj pomoshhi v VUZe kak komponent pedagogiki bezopasnosti. Vestnik Prikamskogo social'nogo instituta. 2023; 3 (96): 90–93. Russian.
4. Jakovleva EV, Frolov AS. Rassmotrenie sovremennyh metodov obuchenija okazanija pervoj pomoshhi postradavshim, na primere ispol'zovanija programmnogo obespechenija — «SPJeK. Pervaja pomoshh'». Vestnik sel'skogo razvitija i social'noj politiki. 2020; 3 (27): 38–43. Russian.
5. Birkun AA, Dezhurnyj LI. Normativno-pravovoe regulirovanie okazanija pervoj pomoshhi i obuchenija okazaniju pervoj pomoshhi pri vnegospital'noj ostanovke serdca. Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo Neotloznoj medicinskaja pomoshh'. 2021; 10 (1): 141–52. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2021-10-1-141-152>. Russian.
6. Perkins GD, Graesner JT, Semeraro F, et al. European resuscitation council guidelines 2021 — executive summary. Resuscitation. 2021; 161 r.
7. Gajazetdinova AJe, Meljakova OA. Organizacija obuchenija okazanija pervoj pomoshhi. Agrarnoe obrazovanie i nauka. 2022; 4: 9–14. Russian.
8. Bolotova IA, Zadorozhnaja NA, Dubkova NV. Innovacionnyj podhod k izucheniju discipliny «Osnovy medicinskih znaniy» s otrabotkoj professional'nyh kompetencij po rezul'tatam provedennoj voenno-patrioticheskoj igry «Po sledam partizanskih otrjadov». Uchenye zapiski universiteta im. P. F. Lesgafta. 2022; 8 (210): 34–36. Russian.
9. Ob obrazovanii v Rossijskoj Federacii: Federal'nyj zakon Rossijskoj Federacii ot 29.12.2012 # 273-FZ [prinjat Gos. Dumoj 21.12.2012] (s izmenenijami na 6 fevralja 2023 goda). Jelektronnyj fond «Koдекс». Dostupno po ssylke: <https://docs.cntd.ru/document/902389617> (data obrashhenija: 24.02.2023). Russian.
10. Solodovnik EM. Travmatizm na urokah fizicheskoj kul'tury: osobennost', prichiny i profilaktika. Mezhdunarodnyj zhurnal gumanitarnykh i estestvennykh nauk. 2019; 1–2: 165–68. Russian.
11. Kolodkin AA, Kolodkina VI, Vladimirova OV, Muraveva AA. Obuchenie pedagogicheskijh rabotnikov obrazovatel'nyh uchrezhdenij navykam okazanija pervoj pomoshhi. Medicina katastrof. 2017; 3 (99): 56–59. Russian.
12. Dezhurnyj LI, Zakurdaeva AJu, Gumenjuk SA, Kolodkin AA. Opyt profil'noj komissii Minzdrava Rossii po napravleniju «pervaja pomoshh'» po sovershenstvovaniju perechnja meroprijatij po okazaniju pervoj pomoshhi: organizacionno-pravovoj aspekt. Sovremennye problemy zdorvoohranenija i medicinskoj statistiki. 2024; 1: 667–82. <https://doi.org/10.24412/2312-2935-2024-1-667-682>. Russian.
13. Podberezina SG. Novyj porjadok obuchenija po ohrane truda: organizacija i provedenie obuchenija po okazaniju pervoj pomoshhi postradavshim. Kadrovye reshenija. 2022; 8: 83–92. Russian.
14. Ob obuchenii rabotnikov okazaniju pervoj pomoshhi postradavshim: Pis'mo Ministerstva truda i social'noj zashhity ot 11 aprilja 2017 goda #15-2/V-950. Jelektronnyj fond «Koдекс». Dostupno po ssylke: <https://docs.cntd.ru/document/456060729> (data obrashhenija: 24.02.2023). Russian.
15. Diamant II, Romanov DS. Innovacionnye podhody k obucheniju starshijh shkol'nikov okazaniju pervoj pomoshhi. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Tomsk, 2013; 4 (132): 136–38. Russian.
16. Federal'nyj zakon ot 14.04.2023 N 135-FZ (red. ot 25.12.2023) «O vnesenii izmenenij v stat'ju 31 Federal'nogo zakona «Ob osnovah ohrany zdorov'ja grazhdan v Rossijskoj Federacii». Russian.
17. Ob osnovah ohrany zdorov'ja grazhdan v Rossijskoj Federacii: Federal'nyj zakon ot 21 nojabrja 2011 goda # 323 [prinjat Gos. Dumoj 01.11.2011] (redakcija, dejstvujushaja s 11 janvarja 2023 goda). Jelektronnyj fond «Koдекс». Dostupno po ssylke: <https://docs.cntd.ru/document/902312609> (data obrashhenija: 24.02.2023). Russian.
18. Dezhurnyj LI, Shojgu JuS, Gumenjuk SA, Neudahin GV, Zakurdaeva AJu, Kolodkin AA, i dr. Pervaja pomoshh': uchebnoe posobie dlja lic, objazannyh i (ili) imejushihh pravo okazyvat' pervuju pomoshh'. M.: FGBU «CNIIOIZ» Minzdrava Rossii, 2018; 68 s. Dostupno po ssylke: <https://allfirstaid.ru/system/files/umk/Ucha-n-L.pdf>. Russian.
19. Tulupov AN, Lapshin VN, Mihajlov JuM. Klinicheskie rekomendacii (protokol) po okazaniju skoroj medicinskoj pomoshhi pri porazhenii jelektrotokom i molnjej. 2014; 10 s. Russian.
20. Mezhdunarodnoe rukovodstvo po pervoj pomoshhi i reanimacii. Zheneva, 2016; 192 s. Russian.
21. International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies. Red Cross Red Crescent Networks. International

- first aid resuscitation and education guidelines 2020. Available from: https://www.globalfirstaidcentre.org/wp-content/uploads/2021/02/EN_GFARC_GUIDELINES_2020.pdf (data obrashhenija 27.12.2022).
22. Birkun AA, Dezhurnyj LI. Okazanie pervoj pomoshhi pri generalizovannyh sudorogah: sovremennye podhody i vozmozhnosti sovershenstvovanija. *Jepilepsija i paroksizmal'nye sostojanija*. 2023; 15 (2): 115–24. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2023.142> Russian.
 23. Ozhogi glaz. *Klinicheskie rekomendacii MZ RF*. 2020; 44 s. Russian.
 24. Sobolev AE, redaktor. *Uchebnaja kniga po himii: posobie dlja uchashhihsja 8 klassa obshheobrazovatel'nyh uchrezhdenij. Tver': SFK-ofis*, 2021; 368 s. Russian.
 25. Dezhurnyj LI, Shojgu JuS, Gumenjuk SA, Neudahin GV, Zakurdaeva AJu, Kolodkin AA, i dr. *Atlas pervoj pomoshhi: uchebnoe posobie dlja sotrudnikov Gosavtoinspekcii*. Moskva: Izdatel'stvo «Nacional'nyj mediko-hirurgicheskij Centr im. N.I. Pirogova», 2022; 72 s. Russian.
 26. Heard C, Pearce J, Rogers B. Mapping the public first-aid training landscape: a scoping review. *Disasters*. 2020; 44 (1): 205–28. DOI: 10.1111/disa.12406.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ МИКРОНУТРИЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ВОЕННОСЛУЖАЩИХ, ПРОХОДЯЩИХ СЛУЖБУ В РАЗЛИЧНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОЯСАХ РОССИИ

Д. А. Нарутдинов¹, Р. С. Рахманов², Е. С. Богомолова², С. А. Разгулин², А. В. Истомин³, Д. А. Шуркин¹¹ Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия² Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия³ Федеральный научный центр гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана, Мытищи, Россия

Недостаток витаминов и минералов в организме способствует развитию приобретенных дефицитных состояний. Цель исследования — оценка содержания микронутриентов в организме военнослужащих, проходящих службу в различных климатических поясах России. У военнослужащих в арктическом ($n = 54$), субарктическом ($n = 57$) и умеренном ($n = 58$) поясах в плазме крови определяли витамины (D по 25 ОН витамина D, B₁₂, B₉), минеральные вещества (K, Na, Ca общий и ионизированный, P, Mg, Fe), оценивали условия работ и питания. Значения 25 ОН витамина D составили $24,06 \pm 6,95$, $21,5 \pm 12,1$ ($p_{1-2} = 0,003$) и $27,2 \pm 15,2$ ($p_{1-2} = 0,423$, $p_{1-3} = 0,032$) нг/мл; дефицит и недостаточность выявлены у 82,3, 86,5 и 63,8% военнослужащих. Уровни кобаламина составляли $96,46 \pm 20,6$, $111,7 \pm 59,4$ ($p_{1-2} = 0,046$) и $125,7 \pm 63,2$ ($p_{1-2} = 0,002$, $p_{1-3} = 0,334$) пмоль/л; значения ниже 148 пмоль/л были определены у 100,0, 73,6 и у 67,2% обследованных. Фолаты составляли $3,4 \pm 0,4$, $3,52 \pm 1,54$ ($p_{1-2} = 0,657$) и $6,49 \pm 6,21$ ($p_{1-2} = 0,001$, $p_{1-3} = 0,009$) нг/мл; снижение их уровня имело место у 89,8, 81,3 и 44,8% военнослужащих. Уровень ионизированного кальция был снижен у 29,4, 50,0 и 67,2% обследованных, железа — у 2,0, 1,9 и 3,4%. Повышался уровень уровня калия (у 23,5, 29,6 и 8,6%), натрия (у 32,7 и 27,6% проходящих службу в Субарктике и умеренном поясе) и общего кальция (у 42,6% проходящих службу в Субарктике). В Арктике военнослужащие выполняли работы в помещениях и на открытой территории (тяжелый труд), в Субарктике и умеренном поясе — в помещениях (напряженный труд). В Арктике организовано питание заводскими консервированными продуктами (общевойсковой паек, $4466,7 \pm 230,7$ ккал/сутки), в иных условиях — домашнее с нарушениями режима, недостаточным потреблением свежих овощей и фруктов. Исследование актуализирует направления профилактики нарушений здоровья у военнослужащих, проходящих службу в экстремальных условиях обитания и труда: оценка витаминно-минерального баланса организма; оптимизация питания продуктами белково-растительного происхождения; повышение осведомленности по вопросам индивидуального питания и приема витаминно-минеральных препаратов; разработка рецептур многокомпонентных продуктов питания для коррекции витаминно-минерального баланса организма.

Ключевые слова: Арктика, Субарктика, умеренный климатический пояс, военнослужащие-мужчины, витамины, минеральные вещества**Вклад авторов:** Р. С. Рахманов — разработка дизайна и концепции исследования, написание статьи; Е. С. Богомолова — редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Д. А. Нарутдинов — сбор первичного материала; С. А. Разгулин — подбор литературных данных; А. В. Истомин — статистическая обработка и интерпретация данных; Д. А. Шуркин — статистическая обработка данных.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 4 от 14 марта 2022 г.) и проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации; все военнослужащие подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.✉ **Для корреспонденции:** Рофайль Сальхович Рахманов
пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, г. Нижний Новгород, 603950, Россия; e-mail: raf53@mail.ru**Статья получена:** 23.03.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 28.06.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.031

ASSESSMENT OF MICRONUTRIENT LEVELS IN THE MILITARY PERSONNEL SERVING IN VARIOUS CLIMATIC ZONES OF RUSSIA

Narutdinov DA¹, Rakhmanov RS², Bogomolova ES², Razgulin SA², Istomin AV³, Shurkin DA¹¹ Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia² Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia³ Erisman Federal Scientific Center of Hygiene, Mytishchi, Russia

The lack of vitamins and minerals in the body contributes to the development of acquired deficient conditions. The study was aimed to assess micronutrient levels in the military personnel serving in various climatic zones of Russia. Plasma levels of vitamins (D based on 25(OH)D, B₁₂, B₉) and minerals (K, Na, total and ionized Ca, P, Mg, Fe), working and nutritional conditions were determined in servicemen in the Arctic ($n = 54$), Subarctic ($n = 57$), and temporary climate ($n = 58$) zones. The 25(OH)D levels were 24.06 ± 6.95 , 21.5 ± 12.1 ($p_{1-2} = 0.003$), and 27.2 ± 15.2 ($p_{1-2} = 0.423$, $p_{1-3} = 0.032$) ng/ml; deficiency and insufficiency were revealed in 82.3, 86.5, and 63.8% of military personnel. The cobalamin levels were 96.46 ± 20.6 , 111.7 ± 59.4 ($p_{1-2} = 0.046$), and 125.7 ± 63.2 ($p_{1-2} = 0.002$, $p_{1-3} = 0.334$) pmol/L; the values below 148 pg/mL were reported for 100.0, 73.6, and 67.2% of surveyed individuals. The folate levels were 3.4 ± 0.4 , 3.52 ± 1.54 ($p_{1-2} = 0.657$), and 6.49 ± 6.21 ($p_{1-2} = 0.001$, $p_{1-3} = 0.009$) ng/mL; the decreased levels were reported for 89.8, 81.3, and 44.8% of military personnel. The ionized calcium levels were decreased in 29.4, 50.0, and 67.2% of surveyed individuals, while the iron levels were decreased in 2.0, 1.9, and 3.4%. Elevated potassium (23.5, 29.6, and 8.6%), sodium (32.7 and 27.6% of individuals serving in the Subarctic and temporary climate zones) and total calcium (42.6% of individuals serving in the Subarctic zone) levels were reported. In the Arctic zone, the servicemen worked indoors and outdoors (heavy labour), while in the Subarctic and temporary climate zones they worked indoors (hard labour). In the Arctic zone, meals were organized consisting of the delivered canned foods (general military ration, 4466.7 ± 230.7 kcal/day), while in other zones it was homemade food with the disturbed eating pattern, inadequate consumption of fresh vegetables and fruits. The study updates the directions for prevention of health problems in the military personnel serving in the extreme habitat and working conditions: estimation of body's vitamin and mineral balance; optimization of the diet with the vegetable protein food products; raising awareness about the issues of individual diet and the use of vitamin and mineral supplements; developing formulations of multicomponent food products for adjustment of body's vitamin and mineral balance.

Keywords: Arctic, Subarctic, temperate climate zone, male military personnel, vitamins, minerals**Author contribution:** Rakhmanov RS — developing the study concept and design, manuscript writing; Bogomolova ES — editing, approval of the final version of the article; Narutdinov DA — primary data acquisition; Razgulin SA — literature review; Istomin AV — statistical data processing and data interpretation; Shurkin DA — statistical data processing.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Privolzhsky Research Medical University (protocol № 4 of 14 March 2022), it was carried out in accordance with the ethical principles stipulated in the Declaration of Helsinki of the World Medical Association; all servicemen submitted the informed consent to participation in the study.✉ **Correspondence should be addressed:** Rofail S. Rakhmanov
pl. Minina i Pozharskogo, 10/1, Nizhny Novgorod, 603950, Russia; e-mail: raf53@mail.ru**Received:** 23.03.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 28.06.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.031

Необходимость обеспечения национальной безопасности в Арктической зоне (Арктика и Субарктика) Российской Федерации (РФ) обуславливает постоянное присутствие там военнослужащих в составе стратегических сил сдерживания в целях недопущения агрессии против РФ и ее союзников. Присутствие военнослужащих также связано и ростом конфликтного потенциала в Арктике, необходимостью развития Северного морского пути в качестве национальной транспортной коммуникации, конкурентоспособной на мировом рынке [1, 2]. А Арктическая зона характеризуется экстремальными погодными-климатическими условиями, недостаточным уровнем инфраструктуры — как транспортной, так и социальной [3, 4].

При выполнении работ в таких условиях возрастает потребность организма человека в микронутриентах (витаминах и минеральных веществах) [5–7]. Недостаточное поступление витаминов и минеральных веществ в организм способствует развитию приобретенных дефицитных состояний, таких как V_{12} - и/или фолиеводефицитная, железодефицитная анемии [8–10]. Дефицит витамина D проявляется в отрицательном влиянии на фосфорно-кальциево-магниевый обмен, иммунный статус, психическое здоровье человека [11–14].

Целью исследования было оценить содержание микронутриентов в организме военнослужащих, проходящих службу в различных климатических поясах России.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в трех климатических поясах на территории Красноярского края: арктическом (группа 1), субарктическом (группа 2) и умеренном (континентальный климат) (группа 3). Критерии включения в исследование: наличие добровольного информированного согласия, отсутствие противопоказаний для прохождения службы в регионах Крайнего Севера (для арктического и субарктического поясов), 1-я и 2-я группы здоровья, выполнение одинаковых служебных обязанностей военнослужащими, находящимися во всех климатических поясах. Критерии исключения: наличие острого или обострение хронического заболевания, самостоятельный прием витаминно-минеральных комплексов в течение месяца до включения в исследование и в период проведения наблюдения.

В исследовании приняли участие военнослужащие-мужчины. Объем выборок был большим: 54 (группа 1), 57 (группа 2) и 58 (группа 3) человек. Возраст военнослужащих, проходящих службу в Арктике, составил $35,7 \pm 0,57$ лет, в Субарктике — $34,2 \pm 0,9$ лет ($p_{1-2} = 0,156$), в умеренном климатическом поясе — $35,6 \pm 0,79$ лет ($p_{1-3} = 0,452$, $p_{2-3} = 0,241$).

При проведении плановой диспансеризации в летний период года у военнослужащих определяли уровень витаминов D, V_{12} (кобаламин), V_9 (фолиевая кислота), а также минеральных веществ (калий, натрий, кальций общий и ионизированный, фосфор неорганический, магний, железо) в плазме крови.

Насыщенность организма витамином D характеризовал промежуточный продукт его превращения, 25 ОН витамина D, уровень которого определяли с помощью масс-спектрометра AB SCIEX QTRAP 5500 (SCIEX; Германия). Критерии оценки: < 10 нг/мл — глубокий дефицит, 10–20 нг/мл — дефицит, 20–30 нг/мл — недостаточность, 30–100 нг/мл — оптимальный уровень [15, 16].

Уровень кобаламина определяли с помощью иммунохемилюминесцентной автоматизированной системы ARCHITECT i2000 (Abbott; США). Границы нормы — 25–165 пмоль/л. Вместе с тем, уровень сывороточного общего кобаламина < 148 пмоль/л считали дефицитом витамина V_{12} : при таком значении чувствительность диагностики данного дефицита составила 97% [17].

Уровень фолиевой кислоты определяли методом тандемной масс-спектрометрии на приборе AD SCIEX QTRAP 5500 (SCIEX; Германия). Референтный диапазон — 5,0–9,0 нг/мл [9].

Кальций общий, неорганический фосфор, магний, железо исследовали с помощью анализатора AU 5800 (Beckman Coulter; США). Уровень калия, натрия, ионизированного кальция определяли с помощью анализатора электролитов AVL9180 (Roche; США).

Оценивали режим работ.

В условиях Арктики питание осуществлялось по норме № 1 (общевойсковой паек) с дополнительной выдачей продуктов в районах Крайнего Севера [18]. Продукты завозили в период навигации на целый год. Овощи и фрукты были в консервированном и сушеном видах. Для приготовления пищи использовалась талая вода из снега. В условиях субарктического и умеренного поясов оценивали режим питания и частоту потребления пищевых продуктов (метод анкетирования).

Первичный материал вводили в таблицу MS Excel (Microsoft; США). Электронную таблицу обрабатывали с использованием пакета статистических программ Statistica 6.1 (StatSoft; США). Определяли нормальность распределения выборок, распределение которых по витаминам, калию, ионизированному кальцию и железу отклонялось от нормального, по общему кальцию, фосфору, магнию и натрию соответствовало нормальному. Определяли среднее значение (M) и стандартное отклонение (σ) для параметрических данных, медиану (Me) и межквартильный размах ($Q_{25}-Q_{75}$) для непараметрических данных. Значимость различий между различными группами военнослужащих определяли по критерию Стьюдента для независимых параметрических (нормальное распределение) данных, по критерию Манна–Уитни для непараметрических (не соответствующих нормальному распределению) данных для вероятности $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Средние показатели 25 ОН витамина D были в пределах диапазона, оцениваемого как недостаточная насыщенность организма. При этом наименьшее значение было выявлено у лиц в группе 2: оно было значимо меньше, чем в группах 1 и 3, на 11,9 и 26,5% соответственно. Различия между значениями в группах 1 и 3 не были значимыми.

Средние значения витамина V_{12} были в пределах референтного диапазона. Наименьшее значение, значимо отличающееся от данных, полученных для групп 2 и 3, было зарегистрировано в группе 1: оно было ниже на 15,8 и 30,3% соответственно. Различия в показателях, определенных у лиц, проходящих службу в субарктическом и умеренном климатическом поясах, были незначимыми.

Среднее значение содержания витамина V_9 было в пределах нормы только у лиц, вошедших в группу 3. Этот показатель был статистически значимо больше (на 90,9 и 84,4% соответственно), чем в группах 1 и 2. У лиц из 1-й и 2-й групп средние значения были ниже референтной границы, между ними не было значимых различий. Однако

Таблица 1. Содержание витаминов в плазме крови военнослужащих, проходящих службу в различных климатических поясах ($M \pm \sigma$)

Витамины, референтный диапазон	Группы наблюдения, абс. вел.		
	1	2	3
25 ОН витамина D, 30,0–100 нг/мл	24,06 ± 6,95	21,5 ± 12,1 0,003*	27,2 ± 15,2 0,423**/0,032***
Кобаламин, 25,0–165,0 пмоль/л	96,46 ± 20,6	111,7 ± 59,4 0,046*	125,7 ± 63,2 0,002**/0,334***
Фолиевая кислота, 5,0–9,0 нг/мл	3,4 ± 0,4	3,52 ± 1,54 0,657*	6,49 ± 6,21 0,001**/0,009***

Примечание: * — значимость различий между показателями групп 1–2; ** — значимость различий между показателями групп 1–3; *** — значимость различий между показателями групп 2–3.

верхняя величина интервала отклонения от среднего в группе 1 указывала на отсутствие, а в группе 2 — на наличие лиц с оптимальным уровнем этого витамина (табл. 1).

Содержание калия в плазме крови было в пределах нормы у лиц во всех трех группах. При этом различия между значениями в группах 1 и 3 были статистически незначимыми, а наибольшее значимо отличавшееся (на 6,1 и на 4,3% соответственно) значение было выявлено у лиц из 2-й группы.

Содержание натрия в группе 1 было в пределах референтного диапазона, в группах 2 и 3 значения выходили за верхнюю границу нормы (146,86 и 146,95 ммоль/л). Средние показатели в группах 2 и 3 значимо превышали таковые в группе 1 (на 2,6 и 2,0%).

По отклонению от среднего значения содержание магния только в группе 2 незначительно выходило за верхнюю границу нормы, в остальных группах все значения были в пределах нормы. Среднее значение содержания магния в группе 2 было наибольшим, оно было значимо выше значений в группе 1 (на 9,6%) и группе 2 (на 7,1%). Показатель группы 3 также был на 2,4% выше показателя группы 1.

Значения содержания ионизированного кальция у лиц в группах 2 и 3 были идентичными, однако они значимо отличались от значения группы 1 (были ниже на 2,6%). Интервалы отклонений от средних величин указывали на присутствие в каждой группе лиц со сниженным уровнем ионизированного кальция в организме.

Наименьший уровень общего кальция был выявлен в группе 1: он был значимо ниже, чем в группах 2 и 3 (на 16,8 и на 7,3% соответственно). Показатель группы 3 был выше показателя группы 1, но при этом значимо ниже показателя группы 2. Верхнее значение отклонения от среднего значения в группе 2 указывало на присутствие лиц с превышающим норму уровнем общего кальция в крови.

Средние показатели содержания фосфора неорганического были в пределах нормы во всех наблюдаемых группах. При этом наименьшее значение было выявлено в группе 1, за ней шла группа 3. Показатель группы 2 был выше показателя группы 1 на 45,0% ($p = 0,001$), показателя группы 3 — на 11,5% ($p = 0,001$).

Содержание железа было в пределах границ нормы во всех группах, при этом наименьшее значение было выявлено у лиц в группе 1: статистически значимые отличия от показателей групп 2 и 3 составили 25,7 и 12,0% соответственно. Значение в группе 2 было выше показателя в группе 3 (табл. 2).

Как оказалось, в группах 2 и 3 присутствовали лица, у которых имел место глубокий дефицит витамина D. В целом доли лиц с оптимальным уровнем этого витамина среди проходивших службу в условиях Арктики и Субарктики отличались незначительно, но были в 1,9–2,4 раза меньшими, чем среди проходивших службу в континентальном климате. По содержанию кобаламина и фолиевой кислоты более благополучными выглядели лица из группы 3: доля лиц с уровнем B_{12} ниже 148 пг/мл была меньше (на 32,8 и

Таблица 2. Содержание минеральных веществ в плазме крови военнослужащих, проходящих службу в различных климатических поясах ($M \pm \sigma$ для параметрических и $Me (Q_{25}-Q_{75})$ для непараметрических данных)

Минералы, референтный диапазон	Группы наблюдения, абс. вел.		
	1	2	3
Калий, 3,5–5,1 ммоль/л	4,6 (4,1–5,1)	4,8 (4,55–5,15) 0,015*	4,7 (4,6–4,8) 0,415**/0,023***
Натрий, 136–145 ммоль/л	140,5 ± 2,59	144,1 ± 2,76 0,001*	143,3 ± 3,65 0,001**/0,246***
Магний, 0,66–1,03 ммоль/л	0,83 ± 0,07	0,91 ± 0,13 0,001*	0,85 ± 0,1 0,001**/0,004
Ионизированный кальций, 1,15–1,35 ммоль/л	1,18 (1,14–1,2)	1,16 (1,12–1,2) 0,043*	1,15 ((1,1–1,8) 0,033**/0,339***
Кальций общий, 2,02–2,6 ммоль/л	2,2 ± 0,06	2,57 ± 0,21 0,001*	2,36 ± 0,14 0,001**/0,001
Фосфор неорганический, 0,7–1,8 ммоль/л	0,8 ± 0,04	1,16 ± 0,21 0,001*	1,04 ± 0,17 0,001**/0,01***
Железо, 9,5–30 мкмоль/л	17,4 (14,56–19,26)	20,05 (16,35–25,92) 0,001*	18,4 (13,8–22,7) 0,035**/0,011***

Примечание: * — значимость различий между показателями групп 1–2; ** — значимость различий между показателями групп 1–3; *** — значимость различий между показателями групп 2–3.

Таблица 3. Характеристика отклонений от нормы по содержанию витаминов и минеральных веществ в группах сравнения (%)

Показатели	Группы наблюдения		
	1	2	3
Витамины			
25 ОН витамина D:			
Глубокий дефицит	0	5,8	3,4
Дефицит	29,4	46,1	39,7
Недостаточность	52,9	34,6	24,1
Оптимальный уровень	17,7	13,5	32,8
Кобаламин, < 148 пг/мл	100	73,6	67,2
Фолиевая кислота, ниже нормы	89,8	81,3	44,8
Минеральные вещества			
Калий, выше нормы	23,5	29,6	8,6
Натрий, выше нормы	0	32,7	27,6
Магний	19,6 (ниже нормы)	7,4 (выше нормы)	6,9 (нижняя граница нормы)
Ионизированный кальций, ниже нормы	29,4	50	44,8 и 22,4 (нижняя граница нормы)
Кальций общий	0	42,6% выше нормы	0
Фосфор, ниже нормы	0	0	1,7
Железо, ниже нормы	2	1,9	3,4

6,4% соответственно), а показатель V_9 — на 45,0 и 36,5% меньше, чем в других группах.

В группах 1 и 2 были выявлены лица, у которых уровень калия превышал норму. Что касается превышения нормы по натрию, выделялись группы 2 и 3. Интересными оказались различия в долях лиц с различным уровнем магния. Так, почти у пятой части 1-й группы он был ниже нормы, во 2-й группе выявлены лица с превышением нормы по магнию, а в 3-й — лица, у которых уровень магния был на нижней границе нормы. Существенные различия были выявлены при оценке индивидуальных показателей ионизированного кальция: в субарктическом и умеренном поясах доли лиц с низким уровнем ионизированного кальция были выше таковой в арктическом поясе в 1,7 и 1,5 раза. Если учесть, что у пятой части группы 3 его уровень был на нижней границе нормы (1,15 ммоль/л), то наибольший дисбаланс имел место именно в этой группе. Превышение нормы по общему кальцию было установлено в группе 2; незначительные доли лиц с низким уровнем железа присутствовали в каждой группе, а с низким уровнем фосфора — только в группе 3 (табл. 3).

Режим работ у военнослужащих-мужчин, проходящих службу в арктическом поясе, предполагал суточное дежурство через двое в условиях помещения (напряженный труд). В промежутках между работами в помещении их привлекали для работ на открытой территории в течение 4–5 ч (тяжелый труд). Режим работ в Субарктике и умеренном климатическом поясе представлял собой 5–6-дневную (неофициально) нерегламентированную по времени работу в помещении (напряженный труд), воскресенье было днем отдыха. Время от времени отдых представляли в субботу.

Питание в Арктике было организовано в соответствии с установленной для этих условий нормой [18], дополнительная витаминизация не проводилась. Питание в субарктическом и умеренном климатическом поясах — индивидуальное домашнее и на предприятиях общественного питания (обед у 96,0%). Кратность приема пищи — обед и ужин у 52,7%, завтрак, обед и ужин — у 47,3%. Свежие овощи, зелень, фрукты присутствовали в рационе не чаще трех раз в неделю. Часть опрошенных

отметила, что время от времени принимает витаминные препараты по своему усмотрению, при этом предпочтение отдавалось содержащим витамин D препаратами.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что в условиях Крайнего Севера происходят изменения в составе крови и характеристиках эритроцитов: в ответ на действие холода и гипоксию, которые нарушают легочную вентиляцию, возрастает количество эритроцитов, снижается гемоглобин, развиваются железодефицитные анемии [19, 20]. При этом важную роль в кроветворении отводят витаминам B_{12} и V_9 (они являются взаимосвязанными витаминами), а также железу [21–23]. Следует отметить, что все предыдущие наблюдения проводили в условиях экстремального воздействия холода. Наше исследование было выполнено в летний период, что исключало влияние экстремально низких температур. Кроме того, в доступной литературе отсутствуют данные сравнительного анализа оцененных нами показателей у лиц, осуществляющих деятельность в трех климатических поясах, и у лиц, выполняющих работы на открытой территории и в помещениях, имеющих разный характер питания.

В нашем исследовании уровень кобаламина в плазме крови мужчин из трех групп наблюдения был в пределах референтного диапазона. Вместе с тем, согласно данным литературы, его уровень снижен у значительной доли лиц в каждом климатическом поясе с превалированием в Арктике [17]. Помимо этого у значительной доли лиц выявлен низкий уровень фолиевой кислоты с превалированием в условиях Крайнего Севера.

Полученные данные указывают на роль питания в обеспечении организма указанными витаминами. Так, энергетическая ценность общеевойскового пайка, используемого военнослужащими в Арктике, составляет $4466,7 \pm 230,7$ ккал/сутки. Овощи представлены консервированным картофелем, морковью, капустой (в том числе квашеной), свеклой, луком репчатым, солеными томатами и огурцами. В состав пайка входят плодовые и ягодные соки (яблочный, виноградный, сливовый),

овощные консервы (зеленый горошек, кабачковая икра), сушеные фрукты (яблоки, слива, виноград, абрикосы). Однако, как отмечает ряд авторов, одним из проблемных вопросов продовольственного обеспечения является возможный дефицит витаминов в указанных рационах питания. По данным исследований, даже кратковременные физические нагрузки в сочетании с низкой температурой окружающей среды и субкалорийным питанием могут привести к дефициту витамина С в организме. При низких температурах также могут возникнуть нарушения обмена витамина С и комплекса витамина В и микроэлементов [6, 7]. Наше исследование выявило наличие дефицита витаминов В₉ и В₁₂ у всех групп военнослужащих. Данные о недостаточности витамина В₉ у лиц, проходящих военную службу в условиях Субарктики и континентального пояса, указывают на недостаточное потребление свежей растительной пищи.

Для нормального кроветворения также необходимо железо, содержание которого в плазме крови было в пределах нормы у всех обследованных. Вместе с тем, в каждой группе были выявлены лица с низким уровнем железа, что указывало на повышенную потребность организма в данном минерале.

Таким образом, среди причин нарушения эритропоэза в условиях Крайнего Севера могут быть недостаточность кобаламина и фолиевой кислоты, возможно, повышенная потребность в железе.

Климатические факторы Крайнего Севера характеризуются недостаточностью ультрафиолетовой инсоляции, которая способствует развитию D-витаминной недостаточности организма [24, 25]. В нашем случае дефицит и недостаточность витамина D выявлены у 82,3 и 86,5% проходящих службу в этих условиях соответственно. Интересно, что в Субарктике доля была выше, чем в Арктике. Кроме того, в Субарктике в 1,8 раза была больше доля лиц с глубоким дефицитом и дефицитом витамина. Вероятно, это было связано с условиями труда: в Арктике военнослужащие значительное время находились на открытой территории, а в Субарктике работы выполняли в помещениях.

В условиях умеренного климатического пояса у 67,2% обследованных также был выявлен недостаток витамина D — вероятно, также обусловленный работой в помещениях.

Обращал на себя внимание тот факт, что во всех трех климатических поясах дефицит витамина D был выявлен в летний период года.

Известно, что D-витаминная обеспеченность организма тесно связана с фосфор-кальций-магниевым обменом [26, 27]. Магний способствует активации витамина D, регулирующего гомеостаз кальция и фосфатов. Все ферменты, метаболизирующие витамин D, нуждаются в магнии, который действует как кофактор в ферментативных реакциях в печени и почках [14]. Наши данные указывают на низкий уровень магния у пятой части лиц в Арктике и низкий уровень ионизированного кальция у третьей части; в субарктическом и умеренном климатических поясах у половины обследованных был определен низкий или на

уровне нижней границы нормы уровень ионизированного кальция. Кроме того, дисбаланс содержания в крови калия и натрия выявлен в субарктическом и умеренном климатическом поясах, калия — в Арктике. Вероятно, дефицит магния способствовал дисбалансу калия, а сниженный уровень магния был связан с значительными эмоциональными нагрузками [28]. Среди возможных причин такой недостаточности могло быть использование низкоминерализованной питьевой воды из талого снега. Она содержала необходимые для функционирования человека и участвующие в биологических процессах железо, цинк, медь, молибден в минимальных количествах [29].

Таким образом, наша работа актуализирует направления медицинской профилактики нарушений здоровья у военнослужащих в неблагоприятных условиях труда:

- необходимость оценки витаминно-минерального баланса организма как в экстремальных условиях обитания (Арктика, Субарктика), так и в умеренном климатическом поясе);

- оптимизация питания продуктами белково-растительного/растительного происхождения с повышенным содержанием биологически активных веществ (для организованного питания в Арктике), а также повышение осведомленности военнослужащих по вопросам индивидуального питания (для повышения насыщенности организма витаминами) и приема витаминных препаратов содержащих кобаламин, фолиевую кислоту, витамин D;

- разработка рецептур многокомпонентных продуктов питания для коррекции витаминно-минерального баланса организма в экстремальных условиях обитания.

ВЫВОДЫ

В условиях Арктики и Субарктики у 82,3 и 86,5% военнослужащих-мужчин в летний период года диагностированы дефицит и недостаточность витамина D. Условия работ в помещении обуславливают выраженность D-дефицита как в Субарктике, так и в умеренном климатическом поясе (глубокий дефицит и дефицит витамина D выявлен у 51,9 и у 43,1% против 29,4% среди лиц в Арктике, работающих на открытой территории). В условиях Крайнего Севера повышается потребность организма в витаминах В₉ и В₁₂, на что указывают дефицит кобаламина у 100,0% военнослужащих в Арктике и 73,6% в Субарктике, а также фолиевой кислоты (у 89,8 и 81,3% соответственно против 67,2 и 44,8% в умеренном климатическом поясе), что служит фактором риска нарушения эритропоэза. Дисбаланс минеральных веществ у военнослужащих, проходящих службу в трех исследуемых климатических поясах, характеризуется низким уровнем ионизированного кальция (у 29,4, 50,0 и 67,2% соответственно), снижением уровня железа (у 2,0, 1,9 и 3,4%), повышенным уровнем калия (у 23,5, 29,6 и 8,6%), превышением нормы по натрию в Субарктике и умеренном климатическом поясе, превышением нормы по общему кальцию в Субарктике.

Литература

1. Указ Президента РФ от 27 февраля 2023 г. № 126 «О внесении изменений в Стратегию развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2035 года, утвержденную Указом Президента Российской Федерации от 26 октября 2020 г. № 645».
2. Указ Президента РФ от 31 июля 2022 г. № 512 «Об утверждении Морской доктрины Российской Федерации».

3. Указ Президента РФ от 26 октября 2020 г. № 645 «О Стратегии развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2035 года» (с изменениями и дополнениями).
4. Указ Президента РФ от 5 марта 2020 г. № 164 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в Арктике на период до 2035 года».
5. Методические рекомендации МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации». М., 2021; 72 с.
6. Кривцов А. В., Кириченко Н. Н., Ивченко Е. В., Сметанин А. Л., Андриянов А. И., Сороколетова Е. Ф. и др. Физиолого-гигиеническая характеристика питания и водоснабжения воинского гарнизона в Арктике. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2015; 4 (52): 165–8.
7. Маков В. А. Особенности продовольственного обеспечения военнослужащих, проходящих военную службу в арктической зоне Российской Федерации. Российская Арктика. 2018; (3): 51. DOI: 10.24411/2658-4255-2018-00011.
8. Витамин В12 дефицитная анемия. Клинические рекомендации. Минздрав РФ. 2021-2022-2023. URL: http://disuria.ru/_id/10/1065_kr21D51MZ.pdf?ysclid=lsvh29b7gt686236909.
9. Фолиеводефицитная анемия. Клинические рекомендации. Минздрав РФ. 2021. URL: <https://kr-pf-2021/17023?ysclid=lsvghmqsvx153502174>.
10. Железододефицитная анемия. Клинические рекомендации. Минздрав РФ. 2021. URL: <https://webmed.irkutsk.ru/doc/pdf/kr669.pdf>.
11. Ланец И. Е., Гостиницева Е. В. Современные взгляды на роль витамина D в организме человека. Научное обозрение. Медицинские науки. 2022; (5): 39–45.
12. Костромин А. В., Панова Л. Д., Малиевский В. А., Крывкина Н. Н., Ярукова Е. В., Акульшина А. В. и др. Современные данные о влиянии витамина D на иммунитет и роль в профилактике острых респираторных инфекций. Современные проблемы науки и образования. 2019; (5). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29186>.
13. Kikuta J, Ishii M. The effects of vitamin D on immune system and inflammatory diseases. *Biomolecules*. 2021; 11 (11): 1624. DOI: 10.3390/biom11111624.
14. Uwitonze AM, Razzaque MS. Role of magnesium in vitamin D activation and function. *J Am Osteopath Assoc*. 2018; 118 (3): 181–9. DOI: 10.7556/jaoa.2018.037.
15. Пигарева Е. А., Рожинская Л. Я., Белая Ж. Е., Дзеранова Л. К., Каронова Т. Л., Ильин А. В. и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D взрослых. Проблемы эндокринологии. 2016; (4): 60–84. DOI: 10.14341/probl201662460-84.
16. Маганова И. С., Пигарова Е. А., Шульпекова Н. В., Дзеранова Л. К., Еремкина А. К., Милютин А. П. и др. Оценка фосфорно-кальциевого обмена и метаболизма витамина D у пациентов с первичным гиперпаратиреозом на фоне болюсной терапии колекальциферолом. Проблемы эндокринологии. 2021; 67 (6): 68–79. DOI: 10.14341/probl2851.
17. Красновский А. Л., Григорьев С. П., Алехина Р. М., Ежова И. С., Золкина И. В., Лошкарева Е. О. Современные возможности диагностики и лечения дефицита витамина В12. Клиницист. 2016; 10 (3): 15–25. DOI: 10.17 650/1818-8338-2016-10-3-15-25.
18. Постановление Правительства РФ от 29 декабря 2007 г. № 946 «О продовольственном обеспечении военнослужащих и некоторых других категорий лиц, а также об обеспечении кормами (продуктами) штатных животных воинских частей и организаций в мирное время» (в редакции от 18 сентября 2020 г., № 1484).
19. Balashova SN, Samodova AV, Dobrodeeva LK, Belisheva NK. Hematological reactions in the inhabitants of the Arctic on a polar night and a polar day. *Immun Inflamm Dis*. 2020; 8 (3): 415–22. DOI: 10.1002/iid3.323.
20. Нагибович О. А., Уховский Д. М., Жекалов А. Н., Ткачук Н. А., Аржавкина Л. Г., Богданова Е. Г. и др. Механизмы гипоксии в Арктической зоне Российской Федерации, Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2016; 2 (54): 202–5.
21. Costanzo G, Sambugaro G, Giulia Mandis G, Sofia Vassallo S, Scuteri A. Pancytopenia secondary to vitamin B12 deficiency in older subjects. *J Clin Med*. 2023; 12 (5): 2059. DOI: 10.3390/jcm12052059.
22. Torrez M, Chabot-Richards D, Babu D, Lockhart E, Foucar K. How I investigate acquired megaloblastic anemia. *Int J Lab Hematol*. 2022; 44 (2): 236–47. DOI: 10.1111/ijlh.13789.
23. De Almeida JG, Gudgin E, Besser M, Dunn WG, Cooper J, Haferlach T, et al. Computational analysis of peripheral blood smears detects disease-associated cytomorphologies. *Nat Commun*. 2023; 14 (1): 4378. DOI: 10.1038/s41467-023-39676-y.
24. Кострова Г. Н., Маляевская С. И., Лебедев А. В. Обеспеченность витамином D жителей г. Архангельска в разные сезоны года. Журнал медико-биологических исследований. 2022; 10 (1): 5–14. DOI: 10.37482/2687-1491-Z085.
25. Коробицына Р. Д., Сорокина Т. Ю. Статус витамина D населения России репродуктивного возраста за последние 10 лет. Российская Арктика. 2022; (18): 44–55. DOI: 10.24412/2658-4255-2022-3-44-55.
26. Юрьева Э. А., Османов И. М., Воздвиженская Е. С., Шабельникова Е. И. Обмен кальция и фосфатов в норме и при патологии у детей. Практика педиатра. 2021; (4): 24–30.
27. Берковская М. А., Кушханашова Д. А., Сыч Ю. П., Фадеев В. В. Состояние фосфорно-кальциевого обмена у пациентов после бариатрических операций и роль восполнения дефицита витамина D в профилактике и лечении послеоперационных костно-метаболических нарушений. Ожирение и метаболизм. 2020; 17 (1): 73–81. DOI: 10.14341/omet12306.
28. Скальный А. В. Микроэлементозы: бодрость, здоровье, долголетие. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Перо, 2019; 295 с.
29. Рахманов Р. С., Нарутдинов Д. А., Богомолова Е. С., Разгулин С. А., Аликберов М. Х., Непряхин Д. В. Оценка реакции организма военнослужащих в Арктике по показателям крови в условиях водопользования местными ресурсами. Здоровье населения и среда обитания. 2023; 31 (7): 48–54. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-7-48-54.

References

1. Ukaz Prezidenta RF ot 27 fevralja 2023 g. No. 126 "O vnesenii izmenenij v Strategiju razvitiya Arkticheskoj zony Rossijskoj Federacii i obespechenija nacional'noj bezopasnosti na period do 2035 goda, utverzhdennuju Ukazom Prezidenta Rossijskoj Federacii ot 26 oktjabrja 2020 g. No. 645". Russian.
2. Ukaz Prezidenta RF ot 31 ijulja 2022 g. No. 512 "Ob utverzhdenii Morskoj doktriny Rossijskoj Federacii". Russian.
3. Ukaz Prezidenta RF ot 26 oktjabrja 2020 g. No. 645 "O Strategii razvitiya Arkticheskoj zony Rossijskoj Federacii i obespechenija nacional'noj bezopasnosti na period do 2035 goda" (s izmenenijami i dopolnenijami). Russian.
4. Ukaz Prezidenta RF ot 5 marta 2020 g. No. 164 "Ob Osnovah gosudarstvennoj politiki Rossijskoj Federacii v Arktike na period do 2035 goda".
5. Metodicheskie rekomendacii MP 2.3.1.0253-21 "Normy fiziologicheskijh potrebnostej v jenergii i pishhevyh veshhestvah dlja razlichnyh grupp naselenija Rossijskoj Federacii". М., 2021; 72 p. Russian.
6. Krivcov AV, Kirichenko NN, Ivchenko EV, Smetanin AL, Andriyanov AI, Sorokoletova EF, et al. Fiziologo-gigienicheskaja harakteristika pitaniya i vodosnabzhenija voinskogo garnizona v Arktike. Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii. 2015; 4 (52): 165–8. Russian.
7. Makov VA. Osobennosti prodovol'stvennogo obespechenija voennosluzhashhijh, pro-hodjashhijh voennuju sluzhbu v arkticheskoj zone Rossijskoj Federacii. Rossijskaja Arktika. 2018; (3): 51. DOI: 10.24411/2658-4255-2018-00011. Russian.
8. Vitamin B12 deficitnaja anemija. Klinicheskie rekomendacii. Minzdrav RF. 2021-2022-2023. Available from: http://disuria.ru/_id/10/1065_kr21D51MZ.pdf?ysclid=lsvh29b7gt686236909. Russian.

9. Folievodeficitnaja anemija. Klinicheskie rekomendacii. Minzdrav RF. 2021. Available from: <https://kp-pf-2021/17023?ysclid=lsvgxmqsxv153502174>. Russian.
10. Zhelezodeficitnaja anemija. Klinicheskie rekomendacii. Minzdrav RF. 2021. Available from: <https://webmed.irkutsk.ru/doc/pdf/kr669.pdf>. Russian.
11. Lanec IE, Gostinishheva EV. Sovremennye vzglyady na rol' vitamina D v organizme cheloveka. Nauchnoe obozrenie. Medicinskie nauki. 2022; (5): 39–45. Russian.
12. Kostromin AV, Panova LD, Malievskij VA, Kryvina NN, Jarukova EV, Akulshina AV, et al. Sovremennye dannye o vlijanii vitamina D na immunitet i rol' v profilaktike ostryh respiratornyh infekcij. Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2019; (5). Available from: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29186>. Russian.
13. Kikuta J, Ishii M. The effects of vitamin D on immune system and inflammatory diseases. Biomolecules. 2021; 11 (11): 1624. DOI: 10.3390/biom11111624.
14. Uwitonze AM, Razaque MS. Role of magnesium in vitamin D activation and function. J Am Osteopath Assoc. 2018; 118 (3): 181–9. DOI: 10.7556/jaoa.2018.037.
15. Pigareva EA, Rozhinskaja LJ, Belaja ZhE, Dzeranova LK, Karonova TL, Ilin AV, et al. Klinicheskie rekomendacii Rossijskoj associacii jendokrinologov po diagnostike, lecheniju i profilaktike deficita vitamina D vzroslyh. Problemy jendokrinologii. 2016; (4): 60–84. DOI: 10.14341/probl201662460-84. Russian.
16. Maganeva IS, Pigarova EA, Shulpekova NV, Dzeranova LK, Eremkina AK, Miljutina AP, et al. Ocenka fosforno-kal'cievogo obmena i metabolitov vitamina D u pacientov s pervichnym giperparatireozom na fone boljusnoj terapii kolekal'ciferolom. Problemy jendokrinologii. 2021; 67 (6): 68–79. DOI: 10.14341/probl12851. Russian.
17. Krasnovskij AL, Grigorev SP, Alehina RM, Ezhova IS, Zolkina IV, Loshkareva EO. Sovremennye vozmozhnosti diagnostiki i lechenija deficita vitamina B12. Klinikist. 2016; 10 (3): 15–25. DOI: 10.17650/1818-8338-2016-10-3-15-25. Russian.
18. Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 29 dekabrya 2007 g. No. 946 "O prodovol'stvennom obespechenii voennosluzhashhij i nekotoryh drugih kategorij lic, a takzhe ob obespechenii kormami (produktami) shtatnyh zhivotnyh voinskih chastej i organizacij v mimoe vremja" (v redakcii ot 18 sentjabrya 2020 g., No. 1484). Russian.
19. Balashova SN, Samodova AV, Dobrodeeva LK, Belisheva NK. Hematological reactions in the inhabitants of the Arctic on a polar night and a polar day. Immun Inflamm Dis. 2020; 8 (3): 415–22. DOI: 10.1002/iid3.323.
20. Nagibovich OA, Uhovskij DM, Zhekalov AN, Tkachuk NA, Arzhavkina LG, Bogdanova EG, et al. Mehanizmy gipoksii v Arkticheskoj zone Rossijskoj Federacii, Vestnik Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii. 2016; 2 (54): 202–5. Russian.
21. Costanzo G, Sambugaro G, Giulia Mandis G, Sofia Vassallo S, Scuteri A. Pancytopenia secondary to vitamin B12 deficiency in older subjects. J Clin Med. 2023; 12 (5): 2059. DOI: 10.3390/jcm12052059.
22. Torrez M, Chabot-Richards D, Babu D, Lockhart E, Foucar K. How I investigate acquired megaloblastic anemia. Int J Lab Hematol. 2022; 44 (2): 236–47. DOI: 10.1111/ijlh.13789.
23. De Almeida JG, Gudgin E, Besser M, Dunn WG, Cooper J, Haferlach T, et al. Computational analysis of peripheral blood smears detects disease-associated cytomorphologies. Nat Commun. 2023; 14 (1): 4378. DOI: 10.1038/s41467-023-39676-y.
24. Kostrova GN, Maljavskaja SI, Lebedev AV. Obespechennost' vitaminom D zhitelej g. Arhangel'ska v raznye sezony goda. Zhurnal mediko-biologicheskijh issledovanij. 2022; 10 (1): 5–14. DOI: 10.37482/2687-1491-Z085. Russian.
25. Korobicyna RD, Sorokina TJu. Status vitamina D naselenija Rossii reproduktivnogo vozrasta za poslednie 10 let. Rossijskaja Arktika. 2022; (18): 44–55. DOI: 10.24412/2658-4255-2022-3-44-55. Russian.
26. Jureva JeA, Osmanov IM, Vozdvizhenskaja ES, Shabelnikova EI. Obmen kal'cija i fosfatov v norme i pri patologii u detej. Praktika pediatra. 2021; (4): 24–30. Russian.
27. Berkovskaja MA, Kushhanashhova DA, Sych JuP, Fadeev VV. Sostojanie fosforno-kal'cievogo obmena u pacientov posle bariatricheskijh operacij i rol' vospolnenija deficita vitamina D v profilaktike i lechenii posleoperacionnyh kostno-metabolicheskijh narushenij. Ozhirenie i metabolizm. 2020; 17 (1): 73–81. DOI: 10.14341/omet12306. Russian.
28. Skalnyj AV. Mikroelementozy: bodrost', zdorov'e, dolgoletie. 4-e izd., pererab. i dop. M.: Pero, 2019; 295 p. Russian.
29. Rahmanov RS, Narutdinov DA, Bogomolova ES, Razgulin SA, Alikberov MH, Neprjahin DV. Ocenka reakcii organizma voennosluzhashhijh v Arktike po pokazateljam krovi v uslovijah vodopol'zovanija mestnymi resursami. Zdorov'e naselenija i sreda obitanija. 2023; 31 (7): 48–54. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-7-48-54. Russian.

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ РАСТВОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА КООГУЛЯЦИЮ

В. А. Манувера^{1,2}✉, К. А. Бровина^{1,2}, П. А. Бобровский^{1,2}, Е. Н. Графская¹, Д. Д. Харлампиева¹, В. Н. Лазарев^{1,2}

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

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Долгопрудный, Московская обл., Россия

Поиск новых антикоагулянтов требует простых и недорогих методов первичного определения их активности. Для лабораторной оценки состояния системы гемостаза широко используют клоттинговые тесты, т. е. модельные исследования, оценивающие с клинической точки зрения состояние системы гемостаза по скорости образования фибринового сгустка. Реактивы и приборы для их выполнения производят в России, они имеют низкую себестоимость и просты в применении, однако для исследования активности антикоагулянтов в методике измерения необходимо внести некоторые изменения. Целью работы было показать работоспособность протокола тестирования антикоагуляционной активности растворов с помощью модифицированных стандартных клинических тестов на измерение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ) и тромбинового времени (ТВ). Использовали реактивы для измерения АЧТВ, ТВ и ПВ, а также гепарин отечественного производства и два рекомбинантных белка-антикоагулянта медицинской пиявки, полученные в нашей лаборатории. Проводили клоттинговые тесты с добавлением в реакционную смесь антикоагулянтов, определяли работоспособность и границы применимости использованных методов. При исследовании гирудина, гепарина и цистеин-богатого антикоагулянта медицинской пиявки с помощью измерения АЧТВ, ТВ и ПВ продемонстрировано дозо-зависимое увеличение времени образования сгустков. Определена совместимость методов с использованием некоторых распространенных компонентов буферных растворов, используемых в биохимических исследованиях. Показано, что после небольших модификаций стандартных клоттинговых методов определения параметров гемостаза можно использовать их для тестирования растворов новых потенциальных антикоагулянтов.

Ключевые слова: активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время, тромбиновое время, антикоагулянт, пиявка

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00006, <https://rscf.ru/project/23-25-00006/>.

Вклад авторов: В. А. Манувера — концептуализация, эксперименты, написание текста; К. А. Бровина — эксперименты, редактирование текста; П. А. Бобровский — анализ данных, визуализация, редактирование текста; Е. Н. Графская — эксперименты, редактирование текста; Д. Д. Харлампиева — эксперименты, редактирование текста; В. Н. Лазарев — руководство научной группой, редактирование текста.

✉ **Для корреспонденции:** Валентин Александрович Манувера
ул. Малая Пироговская, д. 1А, г. Москва, 119435, Россия; vmanuvera@yandex.ru

Статья получена: 27.03.2024 **Статья принята к печати:** 15.06.2024 **Опубликована онлайн:** 28.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.026

METHOD TO ASSESS THE EFFECTS OF BIOACTIVE COMPOUNDS SOLUTIONS ON BLOOD CLOTTING

Manuvera VA^{1,2}✉, Brovina KA^{1,2}, Bobrovsky PA^{1,2}, Grafskaja EN¹, Kharlampieva DD¹, Lazarev VN^{1,2}

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

² Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Moscow Region, Russia

The search for new anticoagulants requires simple and affordable methods for primary determination of their activity. Clotting tests are widely used for laboratory evaluation of the hemostatic system. These are model studies that assess the state of the hemostatic system from a clinical point of view based on the fibrin clot formation time. Reagents and instruments for such tests are produced in Russia, they have low manufacturing cost and are easy to use. However, it is necessary to make a few modifications to the measurement methods to assess the anticoagulant activity. The study was aimed to demonstrate performance of the protocol for testing the solution anticoagulant activity using the modified standard clinical tests involving measurement of the activated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time (PT), and thrombin time (TT). Reagents for measurement of aPTT, PT, and TT were used, along with the domestically produced heparin and two recombinant anticoagulant proteins from the medicinal leech obtained in our laboratory. Clotting tests were performed with the addition of anticoagulants to the reaction mixture were performed; performance and applicability limits of the methods used were determined. When studying hirudin, heparin, and cysteine-rich anticoagulant of medical leech using measurement of aPTT, TT, and PT, a dose-dependent increase in clotting time was demonstrated. The methods' compatibility with the use of various common components of buffer solutions used in biochemical tests was determined. It was shown that the slightly modified standard blood clotting tests for determination of hemostatic parameters could be used to test new potential anticoagulants.

Keywords: activated partial thromboplastin time, prothrombin time, thrombin time, anticoagulant, leech

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-25-00006, <https://rscf.ru/project/23-25-00006/>.

Author contribution: Manuvera VA — concept, experiments, manuscript writing; Brovina KA — experiments, manuscript editing; Bobrovsky PA — data analysis, visualization, manuscript editing; Grafskaja EN — experiments, manuscript editing; Kharlampieva DD — experiments, manuscript editing; Lazarev VN — research team management, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Valentin A. Manuvera
Malaya Pirogovskaya, 1A, Moscow, 119435, Russia; vmanuvera@yandex.ru

Received: 27.03.2024 **Accepted:** 15.06.2024 **Published online:** 28.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.026

В клинической диагностике используют простые, дешевые и хорошо освоенные тесты на свертываемость крови — активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ) и тромбиновое время (ТВ) [1–3]. Эти тесты предназначены для определения

эффективности гемостаза в плазме крови пациентов. АЧТВ позволяет оценить работу внутреннего пути активации коагуляции, с помощью измерения ПВ определяют коагуляцию при активации внешнего пути, а ТВ показывает эффективность активации тромбином фибриногена и

полимеризации фибрина. В исследовательской работе по поиску новых антикоагулянтов возникает необходимость быстрого и недорогого тестирования веществ-кандидатов *in vitro*. При этом приходится работать с различными сложными смесями белков, экстрактами и другим подобным материалом. На начальном этапе необходимы простые и дешевые способы первичного скрининга.

В нашей лаборатории была разработана и используется методика для определения влияния на свертываемость крови потенциальных белков-антикоагулянтов медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*). Мы приводим используемые нами протоколы измерений и иллюстрируем их работоспособность на примере трех веществ — цистеин-богатый антикоагулянт медицинской пиявки (CRA) представляет собой недавно обнаруженный нами [4] белок-антикоагулянт, родственник антистазину [5]. Вторым из объектов исследования является рекомбинантный белок гирудин, наиболее известный антикоагулянт медицинской пиявки [6]. Третий использованный антикоагулянт — это гепарин, олигосахарид, очень широко используемый в клинической практике [2, 7].

Целью работы было показать работоспособность протокола тестирования антикоагуляционной активности растворов с помощью модифицированных стандартных клинических тестов на измерение АЧТВ, ПВ и ТВ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование

Анализатор показателей гемостаза АПГ4-03-Пх («ЭМКО»; Россия). Кюветы измерительные одноразовые с шариками для коагулометров («ЭМКО»; Россия). Измерения проводили с использованием оптического канала анализатора (режим «оптика»).

Реактивы

Набор реагентов для определения АЧТВ в плазме крови клоттинговым методом (АЧТВ-тест) ПГ-7/1 (НПО «РЕНАМ»; Россия).

Набор реагентов для определения ТВ «Тромбин-реагент» ПГ-9А (НПО «РЕНАМ»; Россия).

Реактив для определения ПВ «МЛТ-тромбопластин» («ЭМКО»; Россия).

Контрольная плазма (Плазма-Н) КМ-1 (НПО «РЕНАМ»; Россия).

Антикоагулянты

В качестве антикоагулянтов использовали полученные в нашей лаборатории рекомбинантный цистеин-богатый антикоагулянт (CRA) медицинской пиявки [4] и рекомбинантный гирудин (Hir) медицинской пиявки [4], а также раствор среднемолекулярного нефракционированного гепарина натрия (Нер) в ампулах промышленного производства («Синтез»; Россия). Для проведения тестов готовили серию разведений антикоагулянтов. Разведение осуществляли раствором 10 mM TrisCl, pH 7,5.

Клоттинговые тесты

При работе с антикоагулянтами каждый образец измеряли в четырех повторах параллельно, используя

четыре измерительные ячейки коагулометра. Для полученных значений вычисляли среднее арифметическое и стандартное отклонение. На основе полученных значений строили графики времени образования сгустка от концентрации антикоагулянта (рис. 1). При определении влияния различных растворов на результаты измерений каждый образец измеряли в двух повторах параллельно, используя две измерительных ячейки коагулометра одной пары. Для полученных значений вычисляли среднее арифметическое и заносили в таблицу (см. таблицу).

Активированное частичное тромбопластиновое время

Для измерения АЧТВ готовили 2^х АЧТВ-реагент. Для этого во флакон с лиофилизированным АЧТВ-реагентом вносили 2 мл воды, что составляет половину от рекомендованного объема при проведении клинического АЧТВ-теста. Во флакон с лиофилизированной контрольной плазмой крови вносили 1 мл воды, как рекомендовано производителем. Флаконы выдерживали 30 мин при комнатной температуре и периодическом перемешивании для полного растворения осадка. Раствор хлорида кальция помещали в термостатируемую ячейку коагулометра для прогрева до 37 °С. В коагулометрическую кювету вносили 50 мкл контрольной плазмы, 25 мкл исследуемого раствора и 25 мкл 2^х АЧТВ-реагента и перемешивали содержимое кюветы трехкратным пипетированием. В кювету помещали магнитный шарик и переносили в термостатируемую ячейку-таймер коагулометра на 3 мин. После окончания инкубирования перемещали кюветы в измерительные ячейки коагулометра и добавляли 50 мкл прогретого хлорида кальция в режиме «автостарт». Фиксировали время образования сгустка.

Тромбиновое время

Для определения ТВ использовали тромбин-реагент с концентрацией 6 ед./мл. Для его приготовления во флакон с лиофилизированным тромбином вносили 2,7 мл воды и 0,3 мл концентрированного растворителя (буферного раствора из состава набора). Во флакон с лиофилизированной контрольной плазмой крови вносили 1 мл воды, как рекомендовано производителем. Флаконы выдерживали 30 мин при комнатной температуре и периодическом перемешивании для полного растворения осадка. Раствор тромбин-реагента помещали в термостатируемую ячейку коагулометра для прогрева до 37 °С. В коагулометрическую кювету вносили 100 мкл контрольной плазмы и 50 мкл исследуемого раствора, перемешивали содержимое кюветы трехкратным пипетированием. Далее, в кювету помещали магнитный шарик и переносили в термостатируемую ячейку-таймер коагулометра на 3 мин. После окончания инкубирования перемещали кюветы в измерительные ячейки коагулометра и добавляли 50 мкл прогретого тромбин-реагента в режиме «автостарт». Фиксировали время образования сгустка.

Протромбиновое время

Для определения ПВ использовали 2^х раствор тромбопластина. Для его приготовления во флакон с лиофилизированной тромбопластин-кальциевой смесью вносили 3 мл воды, что составляет половину от рекомендованного объема при проведении клинического

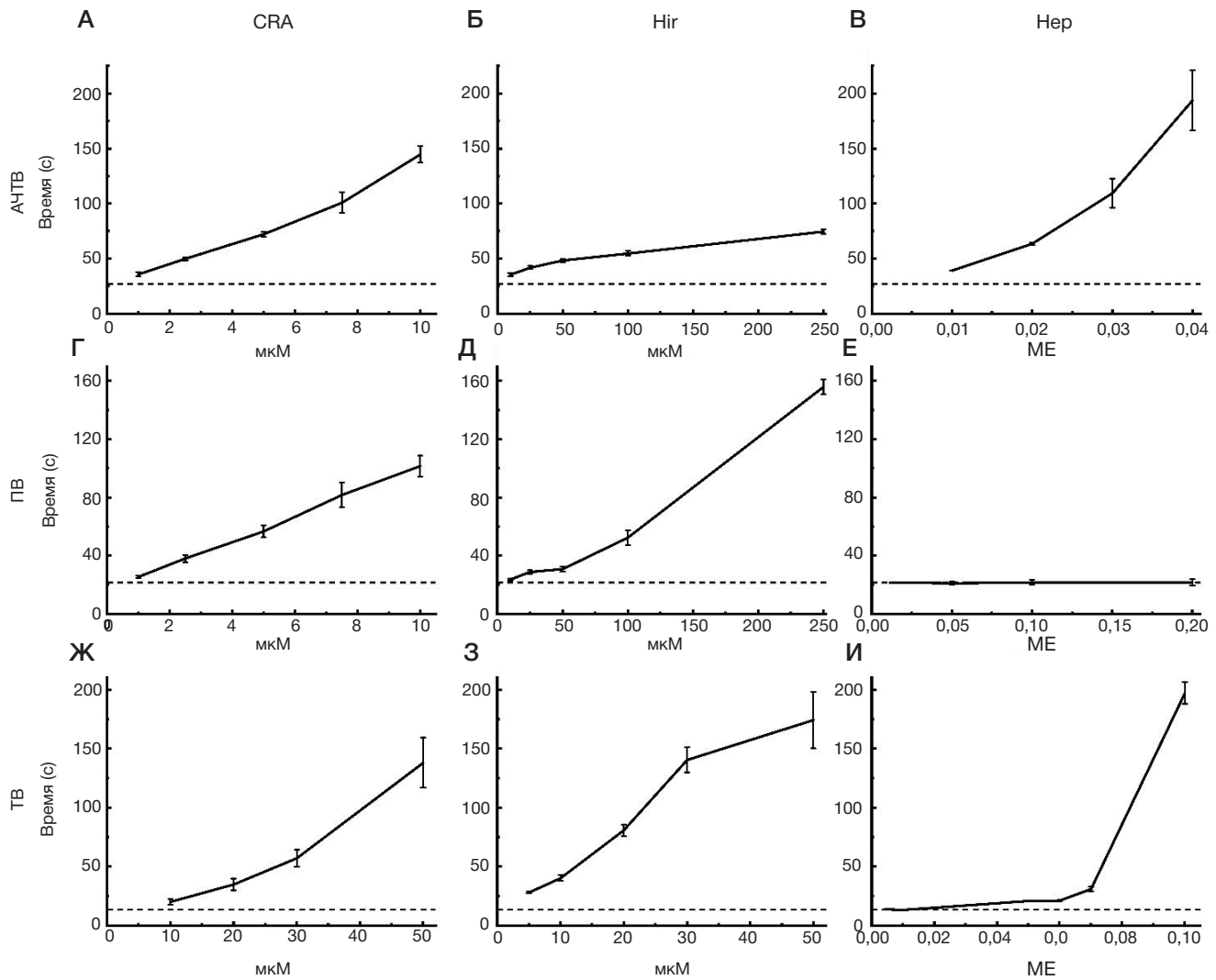


Рис. 1. Результаты измерения АЧТВ, ПВ и ТВ для раствора трех антикоагулянтов — цистеин-богатого антикоагулянта медицинской пиявки (CRA), гирудина (Hir) и гепарина (Hep). Для CRA и Hir концентрации обозначены в мкМ белка в измеряемом растворе, для Hep указано суммарное количество МЕ на реакцию. Пунктирной линией показано среднее время образования сгустка в контрольном образце (10 мМ TrisCl, pH = 7,5). Данные представлены как средние значения времени образования сгустка со стандартными отклонениями. Для каждой точки проводили четыре независимых измерения

ПВ-теста. Во флакон с лиофилизированной контрольной плазмой крови вносили 1 мл воды, как рекомендовано производителем. Флаконы выдерживали 30 мин при комнатной температуре и периодическом перемешивании для полного растворения осадка. Раствор тромбопластина помещали в термостатируемую ячейку коагулометра для прогрева до 37 °С. В коагулометрическую кювету вносили 50 мкл контрольной плазмы и 50 мкл исследуемого раствора, перемешивали содержимое кюветы трехкратным пипетированием. Далее, в кювету помещали магнитный шарик и переносили в термостатируемую ячейку-таймер коагулометра на 3 мин. После окончания инкубирования перемещали кюветы в измерительные ячейки коагулометра и добавляли 50 мкл прогретого раствора тромбопластина в режиме «автостарт». Фиксировали время образования сгустка.

Статистический анализ

Для проведения статистического анализа при сравнении образцов, содержащих исследуемые белки с контрольной плазмой, применяли непараметрический критерий Манна-Уитни с использованием языка программирования Python (версия 3.12) (Python Software Foundation; США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты определения АЧТВ представлены на рис. 1 А–В. Для всех трех антикоагулянтов наблюдается четкое увеличение времени образования сгустка с увеличением концентрации действующего вещества.

Результаты измерения ПВ представлены на рис. 1Г–Е. Как и в случае измерения АЧТВ, для CRA (рис. 1Г) и Hep (рис. 1Д) наблюдается увеличение времени застывания реакционной смеси с увеличением концентрации. Гепарин, имевший высокую активность в тесте АЧТВ, при измерении ТВ активности не проявляет (рис. 1Е).

Результаты измерения ТВ представлены на рис. 1Ж–И. Все три антикоагулянта показывают дозозависимое увеличение времени образования сгустка.

Для определения совместимости описываемых методик с компонентами часто применяемых в биохимических исследованиях буферных растворов было проведено определение их влияния на время формирования сгустка для трех описываемых тестов. Результаты приведены в таблице. В большинстве случаев влияние отсутствовало или было незначительно. Однако 1% β-меркаптоэтанол приводил к отсутствию коагуляции при измерении АЧТВ и ПВ, а раствор 1М NaCl вызывал кратное увеличение значений во всех трех тестах.

Таблица. Влияние различных растворов на определение АЧТВ, ТВ и ПВ

Образец/Тест	АЧТВ	ТВ	ПВ
вода (К)	28,7 ± 1,0	12,8 ± 0,6	15,9 ± 0,5
PBS ¹	29,7 ± 0,6	18,0 ± 0,4	18,6 ± 0,1
Tris-HCl 100 мМ	28,0 ± 1,0	17,4 ± 0,4	17,3 ± 0,3
NaCl 9 г/л	29,1 ± 0,4	17,3 ± 0,3	19,0 ± 1,0
NaCl 1 М	62,0 ± 2,0	114,0 ± 18,0	136,8 ± 0,5
SDS 0,1%	31,0 ± 2,0	13,1 ± 0,7	16,1 ± 0,1
SDS 0,01%	28,5 ± 0,2	12,1 ± 0,8	15,2 ± 0,1
мочевина 1 М	29,0 ± 1,0	33,7 ± 0,1	21,3 ± 0,4
мочевина 0,1 М	28,1 ± 0,7	13,9 ± 0,4	15,7 ± 0,1
β-меркаптоэтанол 1%	н. д. ²	16,0 ± 2,0	н. д. ²
β-меркаптоэтанол 0,1%	33,0 ± 2,0	13,0 ± 2,0	21,8 ± 0,6
Тритон X-100 1%	26,0 ± 1,0	13,0 ± 0,1	н. д. ²
ДТТ 1 мМ	31,0 ± 2,0	14,0 ± 0,4	19,4 ± 0,5

Примечание: указано среднее время образования сгустка в секундах ± стандартное отклонение; ¹ — фосфатный буферный раствор (20 мМ фосфат натрия, 8 г/л хлорид натрия, pH = 7,4); ² — сгусток не сформировался, значение недоступно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для любого метода ключевым параметром являются граничные условия его применимости. В процессе постановки экспериментов, помимо автоматической фиксации времени формирования сгустка прибором, мы проводили визуальное наблюдение состояния реакционной смеси. При больших концентрациях антикоагулянтов в измерительных кюветках наблюдалась явная неравномерность застывания, отдельные комки и жгуты вокруг магнитных шариков, а также подвижность шариков после срабатывания датчика коагулометра. В таких условиях результаты не могут считаться достоверными, поэтому верхний порог измерений следует ограничивать сотней секунд. Таким образом, во всех трех тестах концентрации антикоагулянтов следует подбирать так, чтобы при максимальной исследуемой концентрации время образования сгустка находилось в районе 100 с. Если в процессе измерения образование сгустка не происходит за это время, следует дополнительно разбавить измеряемый образец. Также следует учитывать, что реактивы и контрольная плазма из разных производственных партий дают при измерении АЧТВ, ТВ и ПВ несколько различающиеся результаты. Вследствие этого строго необходимо всю серию измерений каждого образца (или нескольких образцов при их сравнении) и контрольных образцов проводить с использованием реактивов из одной партии.

Для сравнения результатов, полученных в разное время и с использованием разных реактивов, можно применять различные методы нормализации. Например, в случае ПВ при клинической диагностике широко применяют международное нормализованное отношение (МНО, ISI) [1–3]. Для скрининговых тестов нам представляется возможным использование относительной величины (КО), полученной как частное от времени образования сгустка в исследуемом образце (t_o) к времени образования сгустка в контрольном образце (t_k): $КО = t_o/t_k$.

Предлагая проводить для каждого исследуемого образца три разных теста, авторы исходят из того, что будет производиться поиск веществ с неизвестными характеристиками и механизмом действия, обязательной чертой которых является лишь способность ингибировать коагуляцию. В связи с этим мы считаем, что надо

применять все три теста совместно. Естественно, в большинстве случаев определенные предположения о характеристиках искомого компонента имеются. В таком случае исследователи вполне могут предпочесть тот или иной вариант тестирования, исходя из своих соображений. Различия действия трех использованных в этой работе антикоагулянтов проявляются довольно наглядно.

В тесте АЧТВ для всех исследованных веществ наблюдается явный дозозависимый эффект. Однако CRA показывает время (рис. 1А), соизмеримое с Hir (рис. 1Б), при молярных концентрациях, меньших на порядок величины. Например, время образования сгустка примерно в 50 с достигается уже при концентрации CRA в пробе, равной 2,5 мкМ, а гирудина — только при концентрации 50 мкМ. Можно сделать вывод, что CRA значительно эффективнее ингибирует активацию внутреннего пути свертываемости крови по сравнению с Hir. Вполне ожидаемо, что Her также эффективно ингибирует коагуляцию (рис. 1В), однако напрямую сравнить его удельную активность с активностью исследуемых белков невозможно, так как концентрация лекарственной формы Her указана только в международных единицах активности (МЕ).

Несколько иная картина наблюдается при определении ПВ (рис. 1Г–Е). В случае CRA (рис. 1Г) и Her (рис. 1Д) наблюдается увеличение времени застывания реакционной смеси с увеличением концентрации, как и при определении АЧТВ. В то же время гепарин, имевший высокую активность в тесте АЧТВ, при измерении ТВ не вызывает увеличения времени формирования сгустка (рис. 1Е). Это связано с тем, что он ингибирует факторы Ха и IIa, а также факторы внутреннего пути активации не напрямую, а при посредничестве антитромбина [7].

При определении ТВ (рис. 1Ж–И) примечательно то, что в этом случае наблюдается ситуация, обратная по сравнению со случаем измерения АЧТВ: Hir (рис. 1З) проявляет большую активность, чем CRA (рис. 1Ж). Вероятно, это связано с тем, что Hir является специфичным ингибитором тромбина (фактор IIa) [6], а CRA, помимо тромбина, ингибирует и другие протеиназы каскада свертывания крови [4]. В результате, при измерении АЧТВ активность CRA проявляется более явно за счет накопительного эффекта. Рабочий диапазон измерения для Her (рис. 1И) в данном случае сильно сужен. При добавлении в реакцию 0,07 МЕ Her время

застывания составляет $29,3 \pm 2,5$ с, а при добавлении 0,1 МЕ на реакцию полноценное образование сгустка уже не происходит.

При первичном поиске веществ, препятствующих свертыванию крови, исследователи часто имеют лишь общие соображения об их природе и механизме действия, так как для того, чтобы детально исследовать эти аспекты, необходимо сначала действующее вещество обнаружить и получить в относительно чистом виде. Особенно данная проблема проявляется при исследовании сложных смесей природного происхождения — слюны кровососущих животных, секретов, экстрактов и т. д. Исследователи могут видеть проявление биологической активности, но на этом этапе не имеют представления, за счет чего и как она реализуется. Именно поэтому нам кажется обоснованным использовать одновременно три разных теста, нацеленных на три разных части каскада свертывания крови — внутренний путь (АЧТВ), внешний путь (ПВ) и конечную стадию (ТВ). С использованием трех антикоагулянтов разной природы мы показали, что они по-разному проявляют себя в этих тестах.

При исследовании новых потенциальных антикоагулянтов они могут находиться в растворах, содержащих различные низкомолекулярные вещества. Например, при исследовании рекомбинантных белков-антикоагулянтов они после хроматографической очистки или рефолдинга оказываются растворенными в буферных растворах, состав которых зависит от конкретной методики выделения. В каждом конкретном случае строго необходимо выполнять контрольные измерения с

буферным раствором, идентичным тому, в котором растворено исследуемое вещество. Однако некоторые растворы могут быть несовместимы с используемыми методами измерения. Мы проверили влияние на измерение АЧТВ, ТВ и ПВ некоторых распространенных компонентов буферных растворов, используемых в биохимических исследованиях. Результаты представлены в таблице. В большинстве случаев влияние исследуемых растворов на результаты тестов незначительны. Однако прямое использование растворов с высокой ионной силой (1М NaCl) невозможно во всех тестах, а сильных восстановителей (β -меркаптоэтанол) — при определении АЧТВ и ПВ. В то же время растворы, содержащие более слабые восстановители (ДТТ), умеренные количества детергентов (Тритон X-100, додецилсульфат натрия (SDS)) или 0,1 М мочевины, могут быть использованы для проведения измерений.

Выводы

В работе представлены модификации методик определения АЧТВ, ПВ и ТВ с использованием широко распространенных реактивов и коагулометра отечественного производства. Модификации заключаются в изменении объемов реагентов и времени инкубации и не требуют дополнительных реагентов или оборудования для проведения измерений. Описанные методики могут быть полезны при поиске новых антикоагулянтов и исследовании влияния разных веществ на процесс свертывания крови.

Литература

1. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. Москва: ООО "Медико-технологическое предприятие «Ньюдиамед», 2008; 292 с.
2. Winter W, Flax S, Harris N. Coagulation testing in the core laboratory. *Laboratory Medicine*. 2017; 48 (4): 295–313. Available from: <https://doi.org/10.1093/labmed/>.
3. Макаров В. А., Спасов А. А., Плотноков М. Б., Белозерская Г. Г., Васильева Т. М., Дрозд Н. Н., и др. Методические рекомендации по изучению лекарственных средств, влияющих на гемостаз. В книге: Миронов А. Н., Бунятян Н. Д., Васильев А. Н., Верстакова О. Л., Журавлева М. В., Лепяхин В. К., и др, редакторы. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012; с. 453–479.
4. Manuvera VA, Kharlampieva DD, Bobrovsky PA, Grafkaia EN,

5. Brovina KA, Lazarev VN. New anticoagulant protein from medicinal leech. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2024; 696: 149473. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149473>
5. Nutt EM, Jain D, Lenny AB, Schaffer L, Siegl PK, Dunwiddie CT, Purification and characterization of recombinant antistasin: a leech-derived inhibitor of coagulation factor Xa, *Arch Biochem Biophys*. 1991; 285: 37–44. Available from: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90325-D](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90325-D).
6. Müller C, Mescke K, Liebig S, et al. More than just one: multiplicity of Hirudins and Hirudin-like Factors in the Medicinal Leech, *Hirudo medicinalis*. *Mol Genet Genomics*. 2016; 291: 227–240. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00438-015-1100-0>.
7. Onishi A, St Ange K, Dordick JS, Linhardt RJ. Heparin and anticoagulation. *Front Biosci Landmark Ed*. 2016; 21 (7): 1372–92. Available from: <https://doi.org/10.2741/4462>.

References

1. Barkagan ZS. Diagnostika i kontroliruemaja terapija narushenij gemostaza. Moskva: ООО "Mediko-tehnologicheskoe predpriyatje «N'judiamed», 2008; 292 s. Russian.
2. Winter W, Flax S, Harris N. Coagulation testing in the core laboratory. *Laboratory Medicine*. 2017; 48 (4): 295–313. Available from: <https://doi.org/10.1093/labmed/>.
3. Makarov VA, Spasov AA, Plotnikov MB, Belozerskaja GG, Vasileva TM, Drozd NN, i dr. Metodicheskie rekomendacii po izucheniju lekarstvennyh sredstv, vlijajushhih na gemostaz. V knige: Mironov AN, Bunjatjan ND, Vasil'ev AN, Verstakova OL, Zhuravleva MV, Lepahin VK, i dr, redaktory. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaja. M.: Grif i K, 2012; s. 453–479. Russian.
4. Manuvera VA, Kharlampieva DD, Bobrovsky PA, Grafkaia EN, Brovina KA, Lazarev VN. New anticoagulant protein from medicinal

5. leech. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2024; 696: 149473. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149473>
5. Nutt EM, Jain D, Lenny AB, Schaffer L, Siegl PK, Dunwiddie CT, Purification and characterization of recombinant antistasin: a leech-derived inhibitor of coagulation factor Xa, *Arch Biochem Biophys*. 1991; 285: 37–44. Available from: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90325-D](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90325-D).
6. Müller C, Mescke K, Liebig S, et al. More than just one: multiplicity of Hirudins and Hirudin-like Factors in the Medicinal Leech, *Hirudo medicinalis*. *Mol Genet Genomics*. 2016; 291: 227–240. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00438-015-1100-0>.
7. Onishi A, St Ange K, Dordick JS, Linhardt RJ. Heparin and anticoagulation. *Front Biosci Landmark Ed*. 2016; 21 (7): 1372–92. Available from: <https://doi.org/10.2741/4462>.

ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19: ОБЩИЕ ТЕНДЕНЦИИ И ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Т. В. Глазанова [✉], Е. Р. Шилова, Ю. С. Ефремова, Ж. В. Чубукина, С. С. Бессмельцев

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Особенности индивидуальных иммунных реакций после перенесенного COVID-19 недостаточно изучены. Целью работы было охарактеризовать изменения показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета после перенесенного COVID-19 с оценкой общих тенденций и индивидуальных особенностей. У 125 невакцинированных пациентов, перенесших COVID-19 (29 мужчин и 96 женщин, Me возраста — 53 года), через 1–4 месяца после выздоровления методом проточной цитометрии определяли относительное содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), клеток с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺). Исследовали уровень циркулирующих иммунных комплексов — среднемолекулярных (ЦИКср) и низкомолекулярных (ЦИКн) и содержание антител к SARS-CoV-2 методом ИФА. Достоверные отличия от нормы ($p < 0,001$) выявлены для Т-клеток — повышение ($74,4 \pm 1,2\%$ против $68,6 \pm 1,1\%$) и В-клеток — снижение ($10,2 \pm 0,7\%$ против $13,9 \pm 0,9\%$) в группе с легким течением. В группах со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 повышен уровень CD3⁺HLA-DR⁺ лимфоцитов ($7,7 \pm 0,4\%$ и $15,7 \pm 2,5\%$ соответственно, против $3,9 \pm 0,8\%$ в контроле; $p < 0,01$). У всех обследованных повышен уровень ЦИКн (в 2,6–2,9 раз) и ЦИКср (в 1,6–1,8 раз). Защитный уровень антител к SARS-CoV-2 выше 150 ВАУ/мл отмечен примерно у 50% обследованных с легкой формой инфекции, у 75% — со среднетяжелой формой и у 100% — с тяжелой. Связи между иммунными нарушениями и клиническими особенностями течения COVID-19 и постковидного периода не обнаружено, кроме наличия абдоминального синдрома в остром периоде болезни. Описан клинический случай выявления в раннем постковидном периоде патологического клона, характерного для В-клеточного хронического лимфолейкоза с последующим его исчезновением и нормализацией иммунофенотипа при повторном обследовании через 1,5 года. Сохраняющиеся иммунологические сдвиги необходимо учитывать для оценки рисков повторного заражения и развития возможных осложнений.

Ключевые слова: COVID-19, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы, индивидуальные особенности

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено Комитетом по этике (ЛЭК) ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (протокол № 31 от 20.07.2023 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Валентиновна Глазанова
ул. 2-я Советская, д. 16, г. Санкт-Петербург, 191023, Россия; tatyana-glazanova@yandex.ru

Статья получена: 02.04.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.028

CHANGES IN SOME IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AFTER COVID-19: GENERAL TRENDS AND INDIVIDUAL CHARACTERISTICS

Glazanova TV [✉], Shilova ER, Efremova YS, Chubukina JV, Bessmeltsev SS

Russian Hematology and Transfusiology Research Institute of the Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russia

The specifics of individual immune reactions after COVID-19 have not been studied sufficiently. This study aimed to describe the changes in indicators of cellular and humoral levels of immunity after COVID-19, and gage general trends and individual characteristics. We sampled blood of 125 unvaccinated COVID-19 patients (29 men and 96 women, median age 53 years) 1 to 4 months after recovery, and determined the relative content of T-lymphocytes (CD3⁺), B-lymphocytes (CD19⁺), and cells with late activation markers (CD3⁺HLA-DR⁺) in them using flow cytometry. With the help of ELISA, we have registered the level of circulating immune complexes, which can be medium molecular weight (CICmed) and low molecular weight (CIClow), and the content of antibodies to SARS-CoV-2. In the mild course group, significant differences from the normal values ($p < 0.001$) were found for T cells (growth, $74.4 \pm 1.2\%$ vs. $68.6 \pm 1.1\%$) and B cells (decline, $10.2 \pm 0.7\%$ vs. $13.9 \pm 0.9\%$). In the moderately severe course and severe course groups, the level of CD3⁺HLA-DR⁺ lymphocytes was increased ($7.7 \pm 0.4\%$ and $15.7 \pm 2.5\%$, respectively, versus $3.9 \pm 0.8\%$ in the control group; $p < 0.01$). All the examined patients had high levels of CIClow (2.6-2.9-fold increase) and CICmed (1.6–1.8-fold increase). The protective level of antibodies to SARS-CoV-2 above 150 BAU/ml was registered in about 50% of the mild group participants, 75% of the moderately severe group members, and 100% of patients who had the disease in a severe form. We detected no connections between immune disorders and clinical features of the course of the disease and the period thereafter, with the exception of abdominal syndrome peculiar to the acute stage of the disease. The article also describes a clinical case of detection in the early post-COVID-19 period of a pathological clone characteristic of B cell chronic lymphocytic leukemia, and its subsequent disappearance and normalization of the immunophenotype as registered during a follow-up 1.5 years after recovery. The persistent immunological shifts should be taken into account when assessing the risks of reinfection and possible complications.

Keywords: COVID-19, T-lymphocytes, B-lymphocytes, circulating immune complexes, individual characteristics

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Russian Hematology and Transfusiology Research Institute of the FMBA of Russia (Minutes #31 of July 20, 2023). All participants have voluntarily signed informed consent forms.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatyana Valentinovna Glazanova
2-ya Sovetskaya, 16, St. Petersburg, 191023, Russia; tatyana-glazanova@yandex.ru

Received: 02.04.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 30.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.028

С момента появления новой коронавирусной инфекции COVID-19 накоплен значительный материал, касающийся факторов риска тяжелого течения заболевания, особенностей постковидного периода. Достаточно подробно исследованы механизмы повреждения клеток и тканей

под воздействием вируса SARS-CoV-2 и формирования иммунной защиты. В то же время результаты различных исследований свидетельствуют о наличии индивидуальной реакции системы иммунитета на заболевание, не связанной с возрастом или полом. Остаются открытыми

вопросы, касающиеся как роли отдельных факторов иммунитета при инфекции COVID-19, так и особенностей индивидуальных реакций в различных группах пациентов, в том числе в постковидном периоде, особенно в связи с тем, что эффективность защиты от повторного заражения во многом зависит от возможности сохранения иммунной памяти после встречи с вирусом. При этом, если особенностям гуморального ответа посвящено достаточно много публикаций последних лет, то состоянию Т-клеточного иммунитета уделяется значительно меньше внимания, хотя данное звено играет важную роль в формировании адаптивного иммунитета и синтез специфических иммуноглобулинов еще не свидетельствует о наличии протективного иммунного ответа [1–4]. Более того, имеются сообщения, свидетельствующие о том, что титр защитных антител к SARS-CoV-2 не оказывает существенного влияния на риск развития постковидного синдрома [5].

Термин «длительный COVID» или «Long-COVID», который начали широко использовать с 2020 г., подразумевает различные симптомы, сохраняющиеся либо проявляющиеся через несколько недель или месяцев после заражения SARS-CoV-2, а в Международную классификацию болезней МКБ-10 с шифром U09.9 включен самостоятельный диагноз — состояние после COVID-19 (Post-COVID-19 condition). Проявления постковидного синдрома могут сохраняться на протяжении трех и более месяцев после острой стадии COVID-19 [6, 7]. В то же время длительное сохранение иммунного дисбаланса может выявляться и без явных клинических проявлений постковидного синдрома. Наличие маркеров эффективной противoinфекционной защиты в течение 4–6 и более месяцев после вакцинации или ранее перенесенного заболевания не всегда предотвращает повторные заражения, тем более что даже такой значимый показатель, как количество специфических антител, не является единственным фактором, определяющим нейтрализующую активность [8]. Кроме того, нарушение регуляции иммунного ответа может быть предрасполагающим фактором в отношении вторичных бактериальных и грибковых инфекций у перенесших COVID-19 [9].

В публикациях, освещающих данные проблемы, имеются указания на ряд общих тенденций. Отмечалось изменение состава циркулирующих иммунных клеток: повышение числа активированных Т-лимфоцитов, короткоживущих высокодифференцированных CD8⁺-Т-лимфоцитов, провоспалительных Т-хелперов. Это сопровождалось изменением доли противовоспалительных Т-регуляторных клеток и нарушением их функции, наряду с увеличением содержания НК-клеток (CD16⁺/CD56⁺) [10–13]. Характерно длительное повышение уровня плазменного IgA и количества циркулирующих иммунных комплексов [2]. В то же время особенностью иммунного ответа на SARS-CoV-2, отмечаемой многими исследователями, является его значительная вариабельность [2, 12, 13], а попытки выявить четкие закономерности такого ответа и формирования иммунной памяти при новой коронавирусной инфекции до настоящего времени остаются малоуспешными.

Все это диктует необходимость дальнейшего изучения состояния системы иммунитета после контакта с вирусом SARS-CoV-2.

Цель данного исследования — характеристика изменений некоторых показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета после перенесенного COVID-19 с оценкой общих тенденций и индивидуальных особенностей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Критерии включения в исследование: перенесенная инфекция COVID-19 с выздоровлением в период от 1 до 4 месяцев до начала исследования. Критерии исключения: наличие хронической соматической патологии (в том числе заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем, сахарного диабета, подтвержденного иммунодефицита и др.); положительный результат анализа на коронавирусную инфекцию SARS-CoV-2, полученный методом ПЦР. В исследование вошло 125 пациентов, не прошедших вакцинацию и перенесших инфекцию COVID-19 в период 2020–2021 гг. Среди них 29 мужчин и 96 женщин в возрасте 25–83 лет (медиана — 53 года), средний срок после перенесенного COVID-19 — 2,6 месяцев (медиана — 2 месяца). Дополнительно была повторно обследована группа из 14 пациентов в срок 6–8 месяцев после выздоровления, из них 2 мужчин и 12 женщин. По степени тяжести перенесенной COVID-19-инфекции: легкая форма заболевания отмечена у 61 человека, среднетяжелая — у 55 и тяжелая — у 9. Степень тяжести в период заболевания определяли на основании критериев, установленных текущей версией Методических рекомендаций по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции COVID-19, с учетом лихорадки, выраженности одышки, сатурации крови, уровня С-реактивного белка в сыворотке крови и данных КТ-исследований. Данные были получены из представленной обследованными лицами медицинской документации. Перед взятием образца крови на исследование проводили опрос, касающийся таких клинических симптомов, встречающихся в постковидном периоде, как наличие нарушений обоняния и вкуса, абдоминального синдрома, кожного синдрома (сухость и шелушение кожи).

Для определения субпопуляций лимфоцитов при помощи лазерного проточного цитофлуориметра «Navios» (Beckman Coulter; США) использовали следующую панель моноклональных антител (Beckman Coulter; США): CD3-FITC, CD8-PE, CD19-ECD, CD16-PC5.5, CD56-PC7, CD4-APC, CD25-A700, HLA-DR-PB, CD45-KO. Выделяли лимфоцитарный регион по параметрам прямого и бокового светорассеяния с гейтированием по CD45. Уровень общих сывороточных иммуноглобулинов классов G, A и M определяли методом турбидиметрии на автоматическом биохимическом анализаторе «Vitalon 400» (набор реагентов «Human»; Германия). Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) низкой (ЦИК_н) и средней (ЦИК_{ср}) молекулярной массы определяли методом измерения оптической плотности после осаждения полиэтиленгликолем в различной концентрации, сравнивая с контрольными образцами, не содержащими исследуемых сывороток. Результаты выражали в условных единицах (усл. ед.) [14]. Содержание антител класса G к SARS-CoV-2 определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем «SARS-CoV-2-IgG количественный ИФА-БЕСТ» («ВЕКТОР-БЕСТ»; Россия), выражая результаты в международных единицах BAU (от англ. binding antibody units — единица связывания антител) в 1 мл. Пороговым значением, установленным для полноценной противовирусной защиты от COVID-19, считают уровень антител 150 BAU/мл, при котором все образцы в проведенных лабораторных исследованиях обладали вируснейтрализующим эффектом [15].

Группой контроля, в качестве условно здоровых лиц, послужили 35 доноров крови, без инфекции COVID-19

Таблица 1. Показатели клеточного иммунитета у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

Показатель / Группа	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (%)	CD19 ⁺ (%)
Легкая форма n = 61 (I)	74,4 ± 1,2	45,4 ± 1,2	26,3 ± 1,1	4,2 ± 0,2	12,5 ± 0,8	10,2 ± 0,7
Среднетяжелая форма n = 55 (II)	69,7 ± 1,7	45,7 ± 1,6	23,1 ± 1,4	7,7 ± 0,4	12,9 ± 1,0	13,3 ± 1,2
Тяжелая форма n = 9 (III)	69,5 ± 4,5	43,8 ± 4,0	23,6 ± 3,9	15,7 ± 2,5	13,3 ± 1,6	13,3 ± 2,8
Контроль n = 35 (IV)	68,6 ± 1,1	42,6 ± 1,1	24,0 ± 0,9	3,9 ± 0,8	12,4 ± 1,0	13,9 ± 0,9
p_{I-IV}	< 0,001	–	–	–	–	< 0,001
p_{II-IV}	–	–	–	< 0,01	–	–
p_{III-IV}	–	–	–	< 0,01	–	–

в анамнезе. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc.; США). Группы сравнивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У всех обследованных лиц после перенесенной инфекции COVID-19 отмечались отклонения отдельных показателей клеточного звена иммунитета, уровня иммуноглобулинов класса А и ЦИК от показателей контрольной группы, свидетельствующие о наличии дисбаланса иммунной системы.

При оценке отдельных субпопуляций лимфоцитов у лиц, перенесших COVID-19, оказалось, что в целом достоверные отличия от нормальных значений средних иммунологических показателей в группах, поделенных по степени тяжести, наблюдались для Т-лимфоцитов (CD3⁺) и В-лимфоцитов (CD19⁺) только в группе с легким течением: соответственно повышение и снижение относительного содержания (табл. 1). В группах же со среднетяжелым и тяжелым течением COVID-19 достоверных различий этих показателей от группы контроля не отмечалось, однако наблюдалось повышение относительного содержания Т-лимфоцитов с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺).

При наблюдавшемся значительном колебании значений в группе с легкой формой заболевания уровень CD3⁺-лимфоцитов был повышен примерно в 4 раза чаще, чем снижен, тогда как для уровня CD19⁺-лимфоцитов, напротив, снижение наблюдалось в 12 раз чаще, чем повышение (табл. 2). Схожие закономерности наблюдались и у лиц со среднетяжелой формой: повышенный уровень CD3⁺-лимфоцитов отмечен в 1,9 раза чаще, чем сниженный, а уровень CD19⁺-лимфоцитов был в 2,2 раза чаще снижен, чем повышен. При тяжелом течении заболевания, напротив, снижение уровня CD3⁺-лимфоцитов наблюдалось в 2 раза чаще, чем повышение, а повышение уровня CD19⁺ — в 2,2 раза чаще, чем снижение.

Таблица 2. Частота встречаемости отклонений в показателях CD3⁺ и CD19⁺ клеток периферической крови лиц, перенесших COVID-19 (% из числа обследованных)

Показатель / Группа	Уровень CD3 ⁺			Уровень CD19 ⁺		
	Повышен	Снижен	В норме	Повышен	Снижен	В норме
Легкая форма	50%	12%	38%	6%	74%	20%
Среднетяжелая форма	38%	20%	42%	22%	49%	29%
Тяжелая форма	22%	44%	34%	56%	22%	22%

Достоверных различий по уровню иммуноглобулинов G и M в обследованных группах не отмечено. Во всех группах наблюдалось снижение концентрации в сыворотке иммуноглобулина А, статистически значимое у перенесших легкую и тяжелую форму COVID-19 относительно нормальных значений: соответственно $2,3 \pm 0,1$ г/л ($p < 0,01$), и $2,0 \pm 0,4$ г/л ($p < 0,05$) против $2,8 \pm 0,1$ г/л в контрольной группе.

Кроме того, обращал на себя внимание повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов во всех обследованных группах пациентов, перенесших COVID-19 (табл. 3).

Особенно значительное повышение уровня ЦИКн (свыше 400 усл. ед.) было отмечено у 39 человек (30,5% от общей группы, 30,3% от числа обследованных лиц женского пола и 31% в группе обследованных мужчин). Среди них преобладали лица, перенесшие инфекцию COVID-19 в среднетяжелой форме (23 человека), что составило 40,4% всех обследованных, перенесших COVID-19 средней степени тяжести. Существенных различий по возрастному составу в подгруппе с наиболее высокими значениями ЦИКн не было: медиана возраста 56 лет (от 29 до 83 лет) против 53 лет в общей группе.

Определение уровня антител класса G к SARS-CoV-2 показало, что их защитный уровень выше порогового значения в 150 ВАУ/мл отмечен в группе с легкой формой перенесенной инфекции у 51,5% обследованных, в группе со среднетяжелой формой — у 75,8%, и в группе с тяжелой формой — у 100% обследованных лиц.

В группе из 14 человек, повторно обследованных в более поздние сроки (6–8 месяцев после выздоровления), было отмечено сохранение выраженных отклонений у восьми человек (57%). Наиболее часто определялось сохранение значительно повышенного (>300 усл. ед.) уровня ЦИКн, выявленное у семи человек, причем пять из них перенесли инфекцию в легкой форме и два — средней тяжести. У двоих обследованных оставалось повышенным (>7% против $3,9 \pm 0,8\%$ в норме) содержание Т-клеток с маркерами поздней активации (CD3⁺HLA-DR⁺).

Таблица 3. Содержание ЦИК у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, в зависимости от степени тяжести заболевания

	ЦИКср (усл. ед.)	ЦИКн (усл. ед.)
Легкая форма n = 61 (I)	53,9 ± 3,1	331,1 ± 12,7
Среднетяжелая форма n = 55 (II)	61,8 ± 3,8	362,8 ± 18,0
Тяжелая форма n = 9 (III)	63,6 ± 7,0	325,4 ± 22,5
Контроль n = 35 (IV)	34,1 ± 3,6	122,5 ± 11,9
p_{I-IV}	$p < 0,001$	$p < 0,001$
p_{II-IV}	$p < 0,001$	$p < 0,001$
p_{III-IV}	$p < 0,001$	$p < 0,001$

У 2 обследованных отмечено значительное нарушение соотношения CD4⁺/CD8⁺ с повышением содержания CD4⁺-клеток (Т-хелперов). У одной пациентки определялся повышенный до 4 г/л уровень сывороточного IgA при норме 2,8 ± 0,1 г/л.

Таким образом, наряду с изменениями, соответствующими характеру нарушений показателей иммунитета у большинства переболевших инфекцией SARS-CoV-2, можно отметить, что у некоторых из обследованных лиц наблюдались отклонения, не характерные для общей группы в целом.

По клиническим данным примерно у половины пациентов во время болезни и в постковидном периоде отмечались такие проявления, как значительные нарушения обоняния и вкуса (46,9%), у четвертой части — абдоминальные симптомы в виде болей в животе и диспептических явлений (26,6%), а также сухость и шелушение кожи у значительной части обследованных (39,8%). У большей части опрошенных лиц перечисленные симптомы встречались в сочетании. Убедительных различий по данным симптомам у перенесших COVID-19 в группе с повышением ЦИКн менее и более 400 усл. ед. не выявлено (табл. 4), за исключением сопровождавшего острый период болезни абдоминального синдрома, который в группе со значительным превышением ЦИК встречался в 2 раза чаще.

Что касается изменений в показателях клеточного звена иммунитета, то четких закономерностей и ассоциаций с клиническими данными отметить не удалось. Тем не менее, обращали на себя внимание некоторые особенности после перенесенного COVID-19 у отдельных больных. Так при сочетании сниженного относительного содержания CD3⁺-лимфоцитов с повышенным содержанием CD19⁺-лимфоцитов (наблюдалось у четверых больных) трое из них (в возрасте 62–65 лет) предъявляли жалобы на выраженную сухость и шелушение кожи, и у двоих отмечалась выраженная алопеция. Среди лиц более молодого возраста один из обследованных, мужчина 44 лет, у которого значительное (до 49,1%) снижение содержания CD3⁺-лимфоцитов сочеталось со значительным повышением уровней ЦИКср и ЦИКн (102 усл. ед. и 520 усл. ед. соответственно), длительное время отмечал наряду с выраженной слабостью и когнитивными нарушениями также онемение пальцев рук и ног, головные боли, что можно расценить как постковидные

неврологические нарушения. У одной из пациенток 40 лет, особенностью которой было лишь снижение уровня CD3⁺-лимфоцитов, течение COVID-19 сопровождалось выраженными абдоминальными болями и длительными диспептическими явлениями в постковидном периоде. Однако последнее можно также связать с проведенной терапией антибиотиками и дисбиозом.

Приводим также случай выявления патологического клона в постковидном периоде.

Пациентка А., 64 лет. В анамнезе проявления дискинезии желчевыводящих путей и начальные проявления артериальной гипертензии. Перенесла COVID-19 средней степени тяжести в августе 2021 г. Обследована впервые через месяц после перенесенной инфекции. Среди особенностей постковидного периода можно отметить длительно сохранявшуюся общую слабость, выраженную алопецию и умеренно выраженные нарушения вкусовых ощущений. Основные показатели гемограммы на момент обследования — в пределах нормы. Число лейкоцитов — $5,5 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное число лимфоцитов — у нижней границы нормы ($1,3 \times 10^9/\text{л}$). По данным проточной цитометрии при первичном обследовании отмечен ряд отклонений по сравнению с показателями здоровых лиц. Выявлено нарушение субпопуляционного состава лимфоцитов за счет повышенного относительного содержания В-клеток (CD19⁺) до 57,3%. При этом иммунофенотип В-клеток патологический и соответствует В-хроническому лимфолифферативному заболеванию — хроническому лимфолейкозу (ХЛЛ): CD19⁺CD20^{low}CD22^{low}CD5⁺CD23⁺CD43⁺CD200⁺ (см. рисунок).

Изменения в показателях гуморального звена иммунитета соответствовали изменениям в общей группе, обращал на себя внимание лишь более высокий (но в пределах нормальных значений), чем у большинства обследованных, уровень IgA.

Наличие патологического клона, характерного для В-ХЛЛ, подтверждено повторно проведенным анализом из свежего образца периферической крови. При этом признаков наличия лимфаденопатии, морфологически измененных лимфоцитов в клинических анализах крови не наблюдалось. Тем не менее, не исключалась случайно выявленная начальная стадия хронического лимфолейкоза (ХЛЛ-стадия 0). Планировалось наблюдение в динамике с дообследованием на клональность.

Таблица 4. Частота встречаемости отдельных клинических проявлений у лиц, перенесших COVID-19, в зависимости от уровня ЦИКн

Группы с показателем ЦИКн	Абдоминальный синдром	Нарушение вкуса и обоняния	Кожные проявления
< 400 усл. ед. (n = 89)	20,20%	46,10%	39,30%
> 400 усл. ед. (n = 39)	41%	48,70%	41%

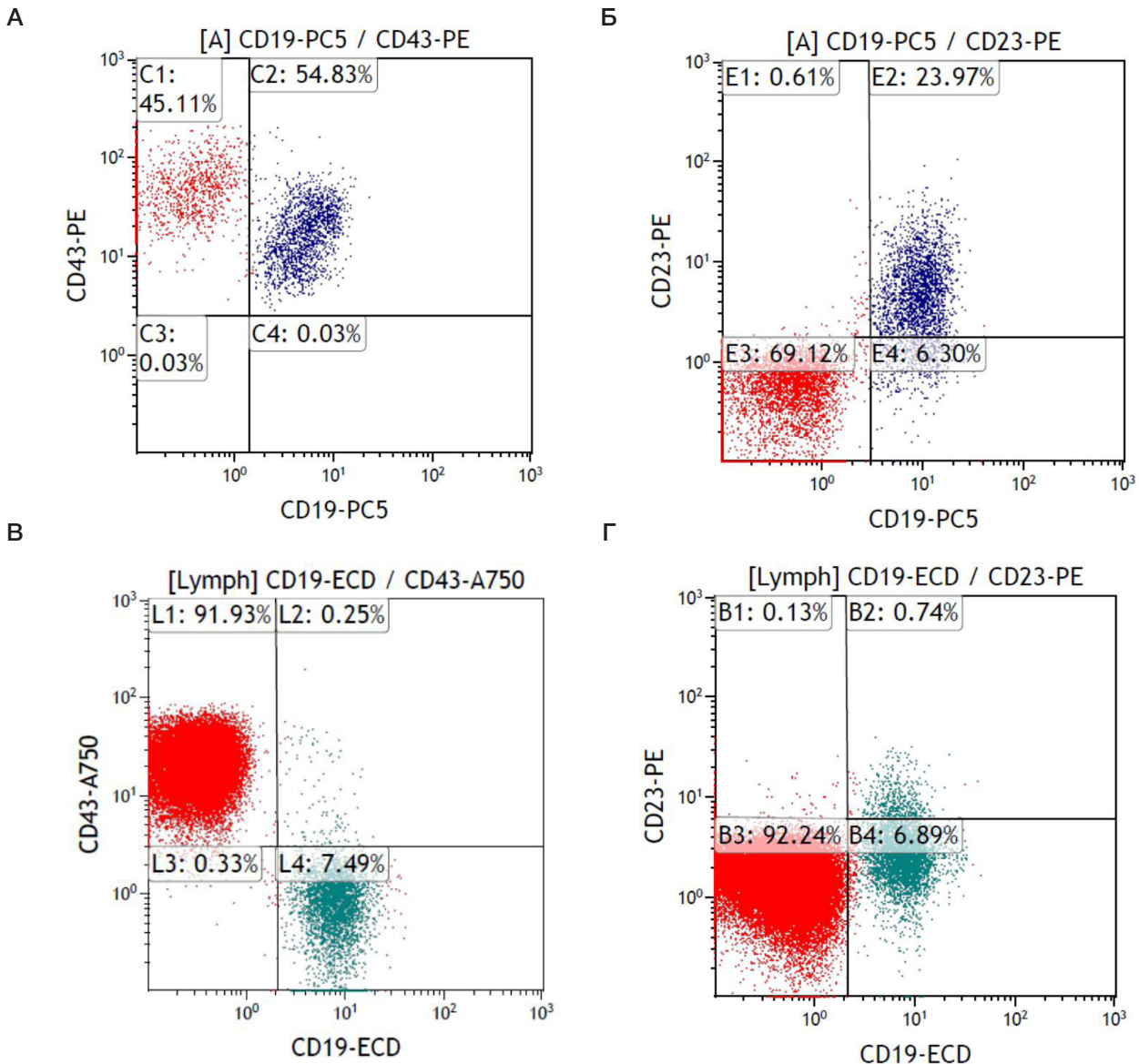


Рис. Результаты иммунофенотипического исследования пациентки **А**. Исследование выполнено на 10-цветном проточном цитофлуориметре «Navios» (Beckman Coulter; США). Лимфоцитарный пул выделяли по параметрам прямого и бокового светорассеяния с гейтированием по CD45. **А, Б**. Результаты исследования в августе 2021 г. Для представленных гистограмм использовали пятицветную панель: 1) CD20-FITC+CD23-PE+CD45-ECD+CD19-Pc5+CD5-Pc7 и 2) CD22-FITC+CD43-PE+CD19-Pc5+CD45-Pc7. **В, Г**. Результаты исследования в апреле 2023 г. Для представленных гистограмм использовали 10-цветную панель FMC7-FITC+CD23-PE+CD19-ECD+CD79b-Pc5.5+CD200-Pc7+CD43-A750+CD38-A700+IgM-PB+CD45-KO. По горизонтальной оси: CD19+ (%), по вертикальной: **А и В** — CD43+ (%), **Б и Г** — CD23+ (%). Правые верхние квадранты всех представленных гистограмм (C2 (**А**), E2 (**Б**), L2 (**В**) и B2 (**Г**)) показывают регион, где должен располагаться клон патологических клеток, характерных для В-ХЛЛ

Общее самочувствие пациентки нормализовалось по истечении года после перенесенной инфекции COVID-19. За медицинской помощью не обращалась, никаких медицинских мероприятий не проводилось, за исключением 1,5-месячного курса поливитаминов. Повторное обследование было проведено в апреле 2023 г. и показало следующее: относительное содержание зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), NK-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) — в пределах нормальных значений. Имеется дисбаланс содержания основных субпопуляций эффекторных клеток за счет повышенного содержания Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺). Зрелые В-клетки поликлональны, имеют нормальный фенотип CD19⁺ CD20⁺ CD22⁺ CD79b⁺ IgM⁺ и составляют около 8,0% среди общего пула лимфоцитов (CD45⁺). Патологический клон В-лимфоцитов с фенотипом В-ХЛЛ не выявлен. До настоящего времени (апрель 2024 г.) состояние пациентки остается удовлетворительным, патологических симптомов не отмечается.

Результаты исследования отдельных субпопуляций лимфоцитов представлены на рисунке.

Таким образом, при обследовании пациентки в динамике не получено данных, свидетельствующих о хроническом лимфопролиферативном заболевании. Нарушения субпопуляционного состава лимфоцитов расценены как изменения реактивного характера на фоне активации В-клеточного звена под влиянием инфекции COVID-19.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

За время, прошедшее с появления новой коронавирусной инфекции, накоплен значительный материал, касающийся особенностей формирования иммунного ответа на попадание вируса SARS-CoV-2 в организм человека. И по мере накопления данных было отмечено, что имеются как общие тенденции, так и индивидуальные особенности

иммунной реакции у различных пациентов, а у некоторых возникает дисфункциональный иммунный ответ [12, 13, 16]. Значительные различия в иммунологических показателях у лиц, перенесших инфекцию COVID-19, могут быть обусловлены большим количеством факторов, от врожденных особенностей реагирования иммунной системы до дисбиоза и коморбидности [17, 18].

Оценить сохраняющиеся иммунные нарушения важно с точки зрения формирования полноценного противовирусного иммунитета, определяющегося согласованным действием клеточного и гуморального звена. Имеются также данные, свидетельствующие о том, что COVID-19, приводя к дисрегуляции иммунной системы, может способствовать развитию аутоиммунных осложнений [16, 19, 20].

Долгое восстановление показателей иммунитета после COVID-19 может быть объяснено так называемой «выжатой» иммунной системой при тяжелом течении заболевания и такой особенностью вируса SARS-CoV-2, как способность подавлять формирование адаптивного иммунного ответа, влиять на количество и функциональную активность эффекторов клеточного иммунитета — лимфоцитов, вызывая нарушение лимфопоэза, апоптоз и «истощение» этих клеток [1].

Как показало приведенное клиническое наблюдение, возможны необычные изменения показателей иммунитета в постковидный период, в том числе появление клеток с характеристиками патологических клонов. Это диктует необходимость продолжительного наблюдения за перенесшими инфекцию SARS-CoV-2 пациентами и свидетельствует о том, что данная инфекция может предрасполагать к развитию нарушений гемопоэза, сопутствующих дисбалансу иммунной системы.

Считается, что если у переболевших COVID-19 титр нейтрализующих антител остается высоким в период 6 и более месяцев, а SARS-CoV-2 Spike и RBD IgG сохраняются длительный период, то предполагается персистенция вируса в организме переболевшего или его микробиоте, что закономерно отразится на состоянии иммунной системы. При этом постоянное присутствие вирусных антигенов, вызывающих иммуноопосредованное повреждение, способствует поликлональной активации иммунокомпетентных клеток, а длительное увеличение количества ЦИК и активированных Т-лимфоцитов, описываемое в литературе и отмеченное в нашем исследовании, считается признаком недостаточно эффективной элиминации возбудителя [20, 21]. Очевидно, при проведении реабилитационных мероприятий следует учитывать такую вероятность.

Таким образом, данные литературы и наши результаты позволяют говорить о некоторых общих тенденциях в изменениях основных показателей клеточного и гуморального иммунитета у лиц, перенесших COVID-19. В то же время имеются отдельные пациенты с необычными отклонениями иммунологических показателей в постковидном периоде. Часть из этих отклонений можно связать с возрастом переболевших и тяжестью перенесенной инфекции, но роль и значение других остается неясной. По-видимому, особого внимания при наблюдении в отдаленные сроки требуют лица, у которых

сохраняются изменения таких показателей, как Т-клетки с маркерами поздней активации, иммуноглобулины класса А и низкомолекулярные ЦИК, поскольку они играют существенную роль в развитии инфекционно-воспалительных и аутоиммунных реакций [20, 22].

Учитывать сохраняющиеся иммунологические сдвиги важно как для оценки рисков повторного заражения, так и при индивидуальном подходе к обсуждению вопроса о ревакцинации. Есть необходимость в дальнейшем наблюдении и проведении исследований для лучшего понимания особенностей изменений иммунного профиля вследствие перенесенной COVID-инфекции. Кроме того, требуются дальнейшие исследования состояния регуляторных механизмов иммунитета у пациентов, перенесших COVID-19, и разработка информативных прогностических критериев для оценки постковидного состояния. В настоящее время без проведения масштабного многофакторного анализа в однородных по исходным данным, возрасту, штамму возбудителя и тяжести заболевания группах лиц, оценить в полной мере индивидуальные риски не представляется возможным. Новые данные позволят индивидуализировать графики ревакцинации от новой коронавирусной инфекции и создать программы рациональной иммунокоррекции, которые будут способствовать повышению резистентности к повторным заражениям.

Выводы

У всех перенесших COVID-19, независимо от степени тяжести, при обследовании через 1–4 месяца после выздоровления наблюдается дисбаланс показателей иммунной системы, у большинства сохраняющийся и в более поздние сроки. Для перенесших легкую форму заболевания характерно повышение относительного содержания Т-клеток CD3⁺ и снижение В-клеток (CD19⁺), а также уровня IgA в сыворотке. Почти у половины лиц этой группы выявлен сниженный уровень защитных антител к SARS-CoV-2 (<150 BAU/мл). При тяжелой форме заболевания в постковидном периоде чаще, чем в остальных группах, наблюдался повышенный уровень CD19⁺-клеток, отмечалось наиболее выраженное снижение уровня IgA по сравнению с другими группами и защитный уровень антител выявлен у всех обследованных. В группе со среднетяжелой формой некоторые отклонения (повышение содержания CD3⁺-клеток, снижение CD19⁺-клеток) были схожими с таковыми в группе с легкой формой, но менее выраженными, реже наблюдалось снижение уровня защитных антител и недостоверным было повышение IgA. Наряду с общими тенденциями, у отдельных лиц с нехарактерными отклонениями показателей иммунитета, в том числе у одной наблюдаемой пациентки, зафиксировано появление патологического клона, характерного для В-ХЛЛ, через месяц после перенесенного заболевания и его спонтанное исчезновение в поздние сроки. Генез таких нарушений на сегодняшний день не вполне ясен и пациенты, перенесшие COVID-19, очевидно, нуждаются в длительном наблюдении и динамическом обследовании не только с точки зрения постковидного синдрома, как такового, но и для дальнейшего изучения и всесторонней оценки возникающего у них иммунного дисбаланса.

Литература

- Иванова И. А., Омельченко Н. Д., Филиппенко А. В., Труфанова А. А., Носков А. К. Роль клеточного звена иммунитета в формировании иммунного ответа при коронавирусных инфекциях. *Медицинская иммунология*. 2021; 23 (6): 1229–38. DOI: 10.15789/1563-0625-ROT-2302.
- Семенова Е. В., Павлюк В. В., Уварова М. А., Иванов А. В. Особенности гуморального иммунитета после перенесенного COVID-19. *Медицинская иммунология*. 2022. 24 (2): 337–50. DOI: 10.15789/1563-0625-FOH-2452.
- Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021; 184 (4): 861–80. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.007.
- Mohn KG, Bredholt G, Zhou F, et al. Durable T-cellular and humoral responses in SARS-CoV-2 hospitalized and community patients. *PLoS ONE*. 2022; 17 (2): e0261979. DOI: 10.1371/journal.pone.0261979.
- Асфандиярова Н. С., Филиппов Е. В., Дашкевич О. В., Якубовская А. Г., Мосейчук К. А., Журавлева Н. С. и др. Факторы риска развития постковидного синдрома. *Клиницист*. 2022; 16 (4): 19–26. DOI: 10.17650/1818-8338-2022-16-4-K671.
- Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021; 27 (4): 601–15. DOI: 10.1038/s41591-021-01283-z.
- Su S, Zhao Y, Zeng N, Liu X, Zheng Y, Sun J, et al. Epidemiology, clinical presentation, pathophysiology, and management of long COVID: an update. *Molecular Psychiatry*. 2023; 28 (10): 4056–69. DOI: 10.1038/s41380-023-02171-3.
- Генералова Л. В., Григорьев И. В., Васина Д. В., Ткачук А. П., Кружкова И. С., Колобухина Л. В. и др. Свойства антител к RBD у переболевших COVID-19 и вакцинированных препаратом «СПУТНИК V». *Вестник РГМУ*. 2022; 1: 15–22. DOI: 10.24075/vrgmu.2022.005.
- Тараскина А. Е., Фролова Е. В., Шадринова О. В., Секретарева О. В., Васильева Н. В. Роль иммунного гомеостаза у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) в развитии инвазивного аспергиллеза легких. *Журнал инфектологии*. 2023; 15 (2): 14–23. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-2-14-23.
- Wu J, Tang L, Ma Y, Li Y, Zhang D, Li Q, et al. Immunological Profiling of COVID-19 Patients with Pulmonary Sequelae. *mBio*. 2021; 12 (5): e0159921. DOI: 10.1128/mBio.01599-21.
- Orologas-Stavrou N, Politou M, Rousakis P, Kostopoulos IV, Ntanasis-Stathopoulos I, Jahaj E, et al. Peripheral blood immune profiling of convalescent plasma donors reveals alterations in specific immune subpopulations even at 2 months post sars-cov-2 infection. *Viruses*. 2021; 13 (1): 26. DOI: 10.3390/v13010026.
- Асфандиярова Н. С., Рубцова М. А. Может ли дисфункция клеточного иммунитета рассматриваться как признак постковидного синдрома? *Российский иммунологический журнал*. 2023; 26 (2): 173–80. DOI: 10.46235/1028-7221-2067-MBD.
- Сизякина Л. П., Скрипкина Н. А., Антонова Е. А., Сизякин Д. В. Динамика клинико-иммунологических показателей у пациентов, перенесших COVID-19 среднетяжелого течения и получавших терапию с включением ингибитора янус-киназ. *Иммунология*. 2023; 44 (2): 191–201. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-2-191-201.
- Кетлинский С. А., Калинина Н.М. *Иммунология для врача*. СПб.: Гиппократ, 1998; 156 с.
- Казаков С. П., Решетняк Д. В., Давыдова Н. В., Ефимюшкина О. А., Пугков С. Б. Анализ и сравнительная оценка эффективности гуморального иммунного ответа после вакцинации «Спутник V» с использованием различных наборов реагентов. *Инфекция и иммунитет*. 2023; 13 (3): 469–80. DOI: 10.15789/2220-7619-VRK-197.
- Mather MW, Jardine L, Talks B, Gardner L, Haniffa M. Complexity of immune responses in COVID-19. *Seminars in Immunology*. 2021; 55: 101545. DOI: 10.1016/j.smim.2021.101545.
- Han JH, Womack KN, Tenforde MW, et al. Associations between persistent symptoms after mild COVID-19 and long-term health status, quality of life, and psychological distress. *Influenza Other Respir Viruses*. 2022; 16 (4): 680–9. DOI:10.1111/irv.12980.
- Battagliani D, Robba C, Fedele A, et al. The Role of Dysbiosis in Critically Ill Patients With COVID-19 and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Med*. 2021; 8: 671714. DOI: 10.3389/fmed.2021.671714.
- Gracia-Ramos A, Martin-Nares E, Hernandez-Molina G. New onset of autoimmune diseases following COVID-19 diagnosis. *Cells*. 2021; 10: 3592. DOI: 10.3390/cells10123592.
- Woodruff M, Ramonell R, Haddad N, Anam F, Rudolph M, Walker T et al. Dysregulated naïve B cells and de novo autoreactivity in severe COVID-19. *Nature*. 2022; 611 (7934): 139–47. DOI: 10.1038/s41586-022-05273-0.
- Ковтун О. П., Оленькова О. М., Бейкин Я. Б. Иммунный ответ при новой коронавирусной инфекции Covid-19 у детей и взрослых. *Уральский медицинский журнал*. 2021; 20 (4): 12–17. DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-4-12-17.
- Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(5): 541–43. DOI:10.1038/s41423-020-0401-3

References

- Ivanova IA, Omelchenko ND, Filippenko AV, Trufanova AA, Noskov AK. Rol' kletochного звена иммунитета v formirovanii immunного otveta pri koronavirusnyh infekcijah. *Medicinskaja immunologija*. 2021; 23 (6): 1229–38. DOI: 10.15789/1563-0625-ROT-2302. Russian.
- Semenova EV, Pavljuk VV, Uvarova MA, Ivanov AV. Osobennosti gumoral'nogo immuniteta posle perenesennogo COVID-19. *Medicinskaja immunologija*. 2022. 24 (2): 337–50. DOI: 10.15789/1563-0625-FOH-2452. Russian.
- Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021; 184 (4): 861–80. DOI: 10.1016/j.cell.2021.01.007.
- Mohn KG, Bredholt G, Zhou F, et al. Durable T-cellular and humoral responses in SARS-CoV-2 hospitalized and community patients. *PLoS ONE*. 2022; 17 (2): e0261979. DOI: 10.1371/journal.pone.0261979.
- Asfandijarova NS, Filippov EV, Dashkevich OV, Jakubovskaja AG, Mosejchuk KA, Zhuravleva NS, i dr. Faktory riska razvitija postkovidnogo sindroma. *Klinicist*. 2022; 16 (4): 19–26. DOI: 10.17650/1818-8338-2022-16-4-K671. Russian.
- Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021; 27 (4): 601–15. DOI: 10.1038/s41591-021-01283-z.
- Su S, Zhao Y, Zeng N, Liu X, Zheng Y, Sun J, et al. Epidemiology, clinical presentation, pathophysiology, and management of long COVID: an update. *Molecular Psychiatry*. 2023; 28 (10): 4056–69. DOI: 10.1038/s41380-023-02171-3.
- Generalova LV, Grigoriev IV, Vasina DV, Tkachuk AP, Kruzhkova IS, Kolobukhina LV et al. Properties of RBD specific IgG from COVID-19 patients and Sputnik V vaccinated individuals. *Bulletin of RSMU*. 2022; 1: 14–22. DOI: 10.24075/brsmu.2022.005.
- Taraskina AE, Frolova EV, Shadrivova OV, Sekretareva OV, Vasileva NV. Rol' immunного gomeostaza u pacientov s novoj koronavirusnoj infekciej (COVID-19) v razvitii invazivnogo aspergilleza legkih. *Zhurnal infekologii*. 2023; 15 (2): 14–23. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-2-14-23.
- Wu J, Tang L, Ma Y, Li Y, Zhang D, Li Q, et al. Immunological Profiling of COVID-19 Patients with Pulmonary Sequelae. *mBio*. 2021; 12 (5): e0159921. DOI: 10.1128/mBio.01599-21.
- Orologas-Stavrou N, Politou M, Rousakis P, Kostopoulos IV, Ntanasis-Stathopoulos I, Jahaj E, et al. Peripheral blood immune profiling of convalescent plasma donors reveals alterations in specific immune subpopulations even at 2 months post sars-cov-2 infection. *Viruses*. 2021; 13 (1): 26. DOI: 10.3390/v13010026.
- Asfandijarova NS, Rubcova MA. Mozhet li disfunkcija kletochного immuniteta rassmatrivat'sja kak priznak postkovidnogo sindroma? *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*. 2023; 26 (2): 173–80. DOI: 10.46235/1028-7221-2067-MBD.

- 10.46235/1028-7221-2067-MBD. Russian.
13. Sizjakina LP, Skripkina NA, Antonova EA, Sizjakin DV. Dinamika kliniko-immunologicheskikh pokazatelej u pacientov, perenesshih COVID-19 srednetjazhelogo techenija i poluchavshih terapiju s vključenijem inhibitora janus-kinaz. *Immunologija*. 2023; 44 (2): 191–201. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-2-191-201. Russian.
 14. Ketlinskij SA., Kalinina NM. *Immunologija dlja vracha*. SPb.: Gippokrat, 1998; 156 s. Russian.
 15. Kazakov SP, Reshetnjak DV, Davydova NV, Efimushkina OA, Putkov SB. Analiz i sravnitel'naja ocenka jeffektivnosti gumoral'nogo immunnogo otveta posle vakcinacii «Sputnik V» s ispol'zovaniem razlichnyh naborov reagentov. *Infekcija i immunitet*. 2023; 13 (3): 469–80. DOI: 10.15789/2220-7619-VRK-197. Russian.
 16. Mather MW, Jardine L, Talks B, Gardner L, Haniffa M. Complexity of immune responses in COVID-19. *Seminars in Immunology*. 2021; 55: 101545. DOI: 10.1016/j.smim.2021.101545.
 17. Han JH, Womack KN, Tenforde MW, et al. Associations between persistent symptoms after mild COVID-19 and long-term health status, quality of life, and psychological distress. *Influenza Other Respir Viruses*. 2022; 16 (4): 680–9. DOI:10.1111/irv.12980.
 18. Battaglini D, Robba C, Fedele A, et al. The Role of Dysbiosis in Critically Ill Patients With COVID-19 and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Front Med*. 2021; 8: 671714. DOI: 10.3389/fmed.2021.671714.
 19. Gracia-Ramos A, Martin-Nares E, Hernandez-Molina G. New onset of autoimmune diseases following COVID-19 diagnosis. *Cells*. 2021; 10: 3592. DOI: 10.3390/cells10123592.
 20. Woodruff M, Ramonell R, Haddad N, Anam F, Rudolph M, Walker T et al. Dysregulated naïve B cells and de novo autoreactivity in severe COVID-19. *Nature*. 2022; 611 (7934): 139–47. DOI: 10.1038/s41586-022-05273-0.
 21. Kovtun OP, Olenkova OM, Bejkin JaB. Immunnyj otvet pri novej koronavirusnoj infekcii Covid-19 u detej i vzroslyh. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2021; 20 (4): 12–17. DOI: 10.52420/2071-5943-2021-20-4-12-17. Russian.
 22. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020; 17(5): 541–43. DOI:10.1038/s41423-020-0401-3

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ТРОФОЗОИТОВ *PLASMODIUM FALCIPARUM* И ИНФИЦИРОВАННЫХ ИМИ ТКАНЕЙ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ФОРМЕ ТРОПИЧЕСКОЙ МАЛЯРИИ

А. И. Соловьев¹, В. А. Капацина², М. О. Соколова¹, А. Р. Ариуков^{1✉}, А. Н. Коваленко¹, А. Н. Усков³, В. А. Романенко¹

¹ Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

² Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

³ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Представлены результаты комплексного электронно-микроскопического исследования образцов венозной крови и тканей внутренних органов, полученных при изучении летального случая завозной тропической малярии. Целью работы было изучить ультраструктуру эритроцитарных стадий развития *Plasmodium falciparum* и изменений пораженных ими тканей при тяжелой форме тропической малярии. Образцы венозной крови, тканей коры головного мозга и миокарда исследовали с помощью световой, а также электронной (сканирующей и трансмиссионной) микроскопии. В крови были выявлены многочисленные трофозоиты *Plasmodium falciparum*. В цитоплазме инфицированных эритроцитов обнаружены множественные расщелины Маурера. Между инфицированными и непораженными эритроцитами выявлены патологические межклеточные контакты, что приводит к их слипанию и формированию розеток (эритроцитарный розеттинг). При исследовании тканей коры головного мозга и миокарда в просвете капилляров отмечена фиксация пораженных эритроцитов на эндотелии (эритроцитарная адгезия). Розеттинг и адгезия эритроцитов приводят к тромбированию капилляров, нарушению микроциркуляции и возникновению секвестров в тканях жизненно важных органов (паразитарная секвестрация). Выявленные морфологические особенности возбудителей тропической малярии и пораженных ими тканей определяют способность паразитов менять свойства клеточных мембран инфицированных эритроцитов, что приводит к формированию патологических межклеточных контактов и служит одним из основных механизмов вирулентности *Plasmodium falciparum*.

Ключевые слова: тропическая малярия, *Plasmodium falciparum*, вирулентность, эритроцитарный розеттинг, эритроцитарная адгезия, паразитарная секвестрация, PfEMP1, электронная микроскопия

Вклад авторов: А. И. Соловьев — концепция, научное обоснование, организация всех видов исследований, анализ результатов, написание статьи; В. А. Капацина — сбор материала, практическое консультирование; М. О. Соколова, А. Р. Ариуков — пробоподготовка, проведение световой микроскопии, анализ результатов, написание текста статьи; А. Н. Коваленко — практическое обоснование, организация сбора материала, редактирование рукописи; А. Н. Усков — концепция, научное консультирование; В. А. Романенко — пробоподготовка, проведение световой микроскопии, анализ результатов.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова (протокол № 285 от 21 ноября 2023 г.), проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих изменений.

✉ **Для корреспонденции:** Артем Русланович Ариуков
ул. Академика Лебедева, д. 6, г. Санкт-Петербург, 194044, Россия; arukov.artem@yandex.ru

Статья получена: 31.05.2024 **Статья принята к печати:** 26.06.2024 **Опубликована онлайн:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.034

ELECTRON MICROSCOPY OF THE *PLASMODIUM FALCIPARUM* TROPHOZOITES AND THE TISSUES THESE HAVE INFECTED IN SEVERE TROPICAL MALARIA

Solovov AI¹, Kapacina VA², Sokolova MO¹, Ariukov AR^{1✉}, Kovalenko AN¹, Uskov AN³, Romanenko VA¹

¹ Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

² Botkin Clinical Infectious Diseases Hospital, Saint-Petersburg, Russia

³ Children's Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

The paper provides the results of the comprehensive electron microscopic examination of the venous blood and internal organ tissue samples obtained when studying the imported case of tropical malaria. The study was aimed to assess the fine structure of the erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum* and alterations of the affected tissues in severe tropical malaria. The venous blood, cerebral cortical tissue and myocardial samples were examined by light microscopy and electron (scanning and transmission) microscopy. Numerous *Plasmodium falciparum* trophozoites were found in blood. Multiple Maurer's clefts were found in the cytoplasm of the infected erythrocytes. Abnormal intercellular contacts between the infected and unaffected erythrocytes were revealed, which resulted in their adhesion and rosette formation (erythrocyte rosetting/e-rosetting). When studying cortical tissue and myocardial samples, fixation of the affected erythrocytes on the endothelium (erythrocyte adhesion) was noted in the capillary lumen. Rosetting and erythrocyte adhesion lead to capillary thrombosis, disruption of microcirculation and sequestration of tissues in vital organs (parasite sequestration). The identified morphological features of the pathogens causing tropical malaria and the affected tissues determine the parasites' capability of changing properties of the infected erythrocytes' cell membranes, which leads to formation of abnormal intercellular contacts and constitutes one of the main mechanisms underlying the *Plasmodium falciparum* virulence.

Keywords: tropical malaria, *Plasmodium falciparum*, virulence, E-rosetting, erythrocyte adhesion, parasite sequestration, PfEMP1, electron microscopy

Author contribution: Solovov AI — concept, scientific justification, organization of all types of tests, analysis of the results, manuscript writing; Kapacina VA — data acquisition, practical advising; Sokolova MO, Ariukov AR — sample preparation, light microscopy, analysis of the results, manuscript writing; Kovalenko AN — practical justification, organization of data acquisition, manuscript editing; Uskov AN — concept, scientific advising; Romanenko VA — sample preparation, light microscopy, analysis of the results.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kirov Military Medical Academy (protocol No. 285 dated 21 November 2023) and conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki (1964) and its subsequent updates.

✉ **Correspondence should be addressed:** Artem R. Ariukov
Akademika Lebedeva, 6, Saint-Petersburg, 194044, Russia; arukov.artem@yandex.ru

Received: 31.05.2024 **Accepted:** 26.06.2024 **Published online:** 29.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.034

Тропическая малярия (ТМ) представляет серьезную проблему для тропического и субтропического регионов, несмотря на усилия мирового сообщества, направленные на снижение заболеваемости и прекращение передачи возбудителей этой инфекции *Plasmodium falciparum* (Welch, 1897) их переносчиками комарами рода *Anopheles* (Meigen, 1818). Коварство заболевания зачастую связано с постепенным началом, а затем стремительным злокачественным развитием, моментально переходящим в фазу непоправимых фатальных осложнений даже на фоне приема противомаларийных препаратов. Маларийная кома, алгид, острая почечная недостаточность, инфекционно-токсический шок (ИТШ) и гемоглинурийная лихорадка могут приводить к гибели неиммунных лиц, заразившихся ТМ при посещении эндемичных регионов [1].

В основе патогенеза тяжелых форм ТМ лежат процессы розеттинга (формирование конгломератов инфицированных эритроцитов с непораженными) и адгезии инфицированных эритроцитов к эндотелию капилляров [2]. Это приводит к тромбозу мелких сосудов и секвестрации тканей жизненно важных органов, особенно головного мозга. Молекулярно-генетические механизмы патогенеза ТМ связаны с выделением возбудителями многочисленных белков (MAHRP1,2, REX3, HSP40, KAHRP и др.). Наиболее важным экспортируемым семейством белков является PfEMP1 (эритроцитарный мембранный белок — главный фактор вирулентности *P. falciparum*), который обнаруживается на поверхности инфицированной клетки [3, 4]. Транспортировка паразитарных белков обеспечивается расщелинами Маурера, которые определяются как выпячивания мембраны паразитофорной вакуоли и представляют собой высокомолекулярные структуры [5, 6]. На начальных этапах развития паразитов они быстро перемещаются, участвуя в транспортировке PfEMP1 на поверхность эритроцитов. Главный фактор вирулентности плазмодиев обладает повышенным сродством к основным клеточным рецепторам, таким как ICAM-1 (от англ. intercellular adhesion molecule-1), CD36, CR и др. [7, 8]. Специфичное связывание PfEMP1 с клеточными рецепторами приводит к формированию патологических контактов инфицированных эритроцитов со здоровыми клетками, что приводит к явлениям розеттинга, адгезии и секвестрации [9].

Световая микроскопия остается основным методом изучения паразитов в крови и других тканях восприимчивого организма. Однако этот метод не обеспечивает возможность исследования ультраструктуры микроорганизмов и клеточных механизмов, лежащих в основе патогенеза злокачественного течения малярии. Высокая разрешающая способность электронного микроскопа значительно расширяет возможности для исследования взаимодействия малярийных паразитов с клетками крови и других тканей организма. Сложность пробоподготовки, трудоемкость, значительные временные затраты, а также высокие требования к качеству исследуемых образцов существенно ограничивают применение электронной микроскопии для исследования клинического материала [10]. Этому способствует также короткая продолжительность развития эритроцитарных форм *P. falciparum*, аккумуляция пораженных эритроцитов в капиллярном русле, низкий уровень паразитемии, а также быстрая утрата морфологических признаков паразитов и инфицированных ими эритроцитов [11]. В связи с этим для электронно-микроскопических исследований преимущественно используют образцы, полученные при искусственном культивировании стандартных

лабораторных штаммов плазмодиев, зачастую низко вирулентных или вовсе непатогенных для человека [12]. Данные об ультраструктурных патоморфологических изменениях в организме больных малярией встречаются редко. В связи с этим представляем результаты комплексного исследования с помощью электронной микроскопии материала, полученного от пациента, погибшего от осложненной тропической малярии.

Цель исследования — изучить ультраструктуру эритроцитарных стадий развития *P. falciparum*, а также оценить ультраморфологические изменения пораженных тканей при исследовании клинического материала, полученного от больного тропической малярией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили прижизненные пробы венозной крови, взятой в диагностических целях, а также материал, полученный в ходе последующего патологоанатомического исследования головного мозга, сердца, почек пациента, погибшего от осложненной тропической малярии.

Световая микроскопия

Препараты крови готовили в соответствии с общепринятой методикой и окрашивали по Романовскому–Гимзе [13].

Материал, полученный при аутопсии, фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине. Затем пробы обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, заливали в парафин (ООО «Биовитрум»; Россия). Срезы тканей толщиной 5 мкм, сделанные с парафиновых блоков, окрашивали гематоксилином и эозином (ООО «Биовитрум»; Россия). Для исследования использовали световой микроскоп Axiolmager A2 (Carl Zeiss; Германия).

Сканирующая электронная микроскопия

Пробы венозной крови фиксировали в 2,5%-м глутаровом альдегиде на фосфатно-солевом буфере (ФСБ), pH 7,2–7,4, в течение суток. В дальнейшем форменные элементы отмывали от фиксатора путем трехкратного добавления ФСБ с последующим центрифугированием и удалением надосадочной жидкости. Объем взвеси форменных элементов доводили до 5% от объема пробы, полученный материал ресуспендировали, наносили на предметные стекла. После высыхания препараты пропитывали 2%-м тетроксидом осмия (оксид осмия (VIII) в течение 30 мин, затем последовательно обезвоживали в этиловых спиртах восходящей концентрации (30°, 50°, 70°, 80°, 96°) и высушивали на воздухе. Для обеспечения сканирующего эффекта материал обрабатывали сплавом золота с палладием (Au/Pd (60 : 40)). Напыление слоя толщиной 5 нм проводили при помощи установки Q150T ES (Quorum; Германия). Готовые препараты исследовали в сканирующем режиме с использованием электронного микроскопа Merlin (Carl Zeiss; Германия), оснащенного детектором вторичных электронов SE2.

Срезы тканей внутренних органов толщиной 5 мкм переносили на предметные стекла, депарафинировали посредством трехкратной обработки ксилолом (АО «Экос-1»; Россия) в течение 3 суток, затем пропитывали 2%-м тетроксидом осмия (Serva; Германия). Напыление сканирующего слоя и исследование готовых препаратов проводили вышеописанным способом.

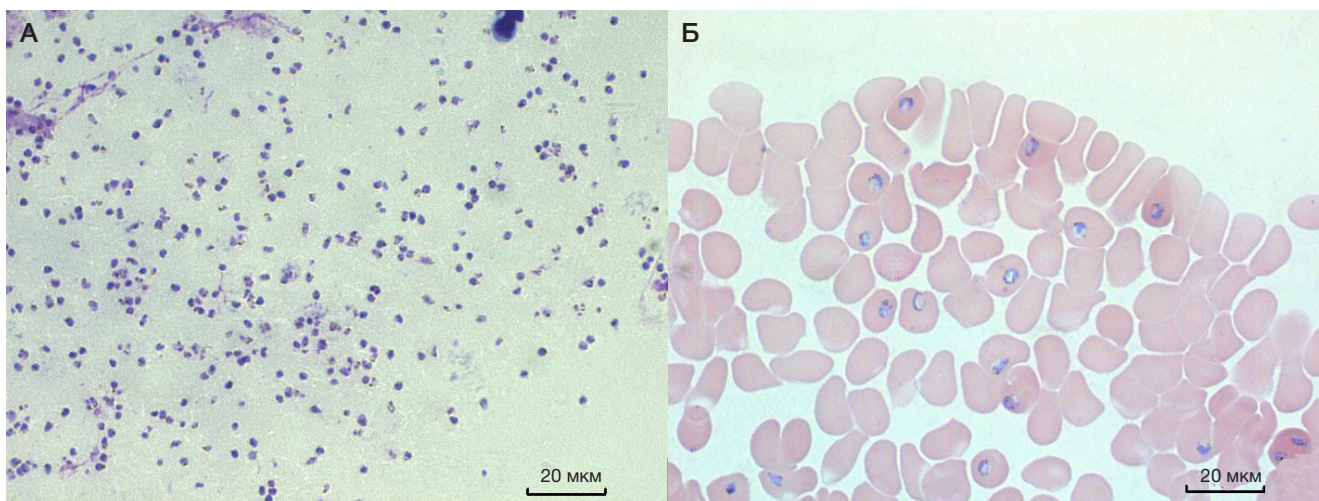


Рис. 1. Юные (кольцевидные) трофозоиты *P. falciparum* в препаратах крови «толстая капля» (А); «тонкий мазок» (Б). Окраска по Романовскому–Гимзе, световая микроскопия (×1000)

Трансмиссионная электронная микроскопия

Подготовку проб венозной крови и тканей внутренних органов проводили по стандартным методикам. Подготовленные образцы заливали в блоки, в качестве встраиваемой среды использовали пластифицированную смолу Аралдит (EMS; США). Срезы блоков толщиной 100 нм подвергали двойному контрастированию цитратом свинца и 1%-м водным раствором уранил ацетата (Serva; Германия). Готовые препараты исследовали в трансмиссионном режиме с помощью электронного микроскопа Merlin (Carl Zeiss; Германия) с использованием детектора STEM. Снимки, полученные с препаратов, анализировали в программе для анализа и обработки фотографий ImageJ (NIH; США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациентка И., 44 лет, жительница Санкт-Петербурга, была инфицирована возбудителями тропической малярии при кратковременном посещении высокоэндемичного тропического региона. Химиопрофилактику от малярии не получала. Через неделю после возвращения из поездки почувствовала недомогание, повысилась температура тела. Состояние прогрессивно ухудшалось. Госпитализирована в инфекционный стационар на пятые сутки заболевания. На основании клинических проявлений и эпидемиологического анамнеза в приемном отделении проведено паразитологическое исследование препаратов крови, выявлены *P. falciparum*. Безотлагательно начато противомаларийное лечение, несмотря на это через 13 ч внезапно наступила смерть пациентки. Непосредственной причиной смерти послужили инфекционно-токсический шок и отек — набухание головного мозга, т. е. известные осложнения злокачественного течения тропической малярии.

В ходе исследования препаратов крови «толстая капля» и «тонкий мазок» в каждом поле зрения выявлялось множество юных кольцевидных трофозоитов *P. falciparum*. Уровень паразитемии превышал 50 000 клеток в 1 мкл крови (рис. 1).

На фотографиях, полученных при проведении электронной сканирующей микроскопии препаратов периферической крови, отмечено большое количество деформированных эритроцитов, утративших характерную двояковогнутую форму. Пораженные эритроциты

имеют бугристую поверхность, повторяющую очертания развивающихся в них паразитов. Оболочка инфицированных эритроцитов теряет эластичность, становится неровной за счет встраивания в нее паразитарных белков. Между пораженными эритроцитами формируются межклеточные контакты. Это связано со специфическим взаимодействием встроенных в оболочку пораженных эритроцитов белков главного фактора вирулентности *P. falciparum* с клеточными рецепторами соседних клеток. Этот же механизм лежит в основе явления «розеттинга», сопровождающегося формированием конгломератов, состоящих из инфицированных и здоровых клеток крови. Предполагается, что, окружая себя неповрежденными клетками, паразиты избегают тем самым воздействия факторов клеточного иммунитета (рис. 2).

По данным литературы, форма инфицированных эритроцитов становится ригидной, а белки, ответственные за ригидность, напрямую связаны с вирулентностью, что дополнительно свидетельствует о влиянии секретома на тяжесть течения инфекции [14]. Деформация эритроцитов происходит в результате формирования крупных выступов над трофозоитами. Именно здесь локализованы области цитоплазматической мембраны, несущие белки адгезии паразита PfEMP1 [15].

С помощью трансмиссионной электронной микроскопии в препаратах крови исследовали ультраструктуру паразитарных клеток и пораженных ими эритроцитов (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обзорные произвольные срезы препаратов венозной крови показали наличие внутри эритроцитов трофозоитов *P. falciparum*, окруженных мембраной паразитофорной вакуоли. Ядра паразитов имеют аморфную структуру, хроматин не конденсирован, ядерная оболочка имеет нечеткие контуры, что служит признаками начинающейся шизогонии, сопровождающейся асинхронными последовательными циклами репликации [16]. Конкретные механизмы множественного деления у *P. falciparum* до конца не известны. Установлено, что процессы в клетках плазмодиев существенно отличаются от размножения других эукариот [17]. Пищеварительные вакуоли заполнены электронно-плотным веществом, схожим с гемоглобином. Известно, что в пищеварительных вакуолях (модифицированные лизосомы) паразитов накапливается

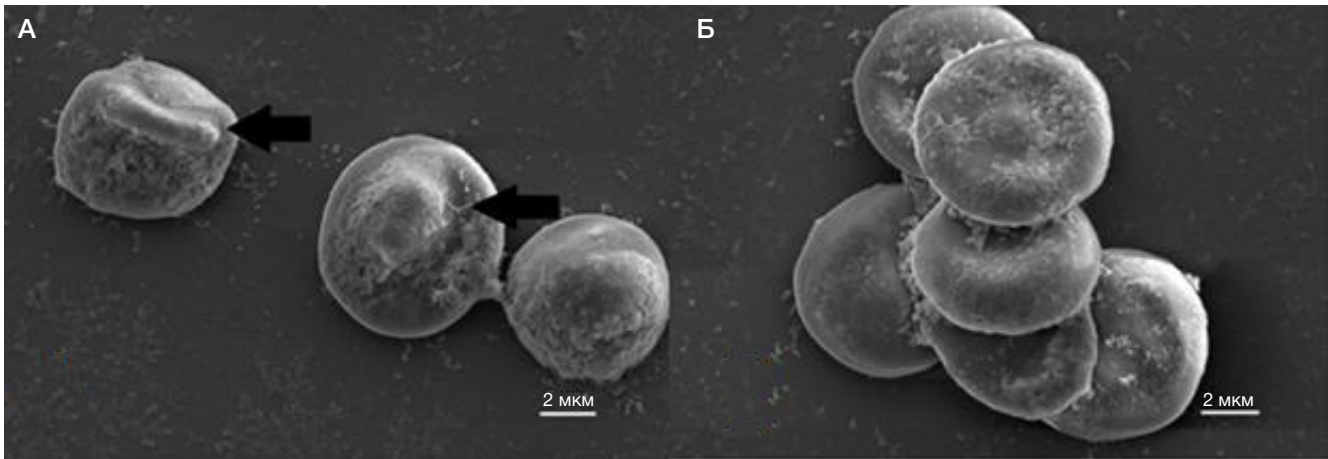


Рис. 2. Электронная сканирующая микроскопия препаратов крови. **А.** Деформация цитоплазматической мембраны эритроцита над трофозоитом (стрелка). **Б.** «Розеттинг» — формирование конгломерата инфицированных и непораженных эритроцитов

гемозоин, продукт метаболизма гемоглобина, поглощаемого *P. falciparum* [18]. В цитоплазме трофозоитов выявляется множество свободных рибосом, указывающих на активный синтез паразитами специфических белков, необходимых для обеспечения его мембранных и экзо- и эндо-мембранных систем. Цитоплазма инфицированных

эритроцитов имеет рыхлую мелкозернистую структуру, мембрана утрачивает четкие контуры. Внутри эритроцитов отчетливо определялись тубуловезикулярные структуры с электронно-плотными стенками и электронно-прозрачным содержимым — расщелины Маурера. Расщелины Маурера появляются уже на ранних стадиях развития паразитов и

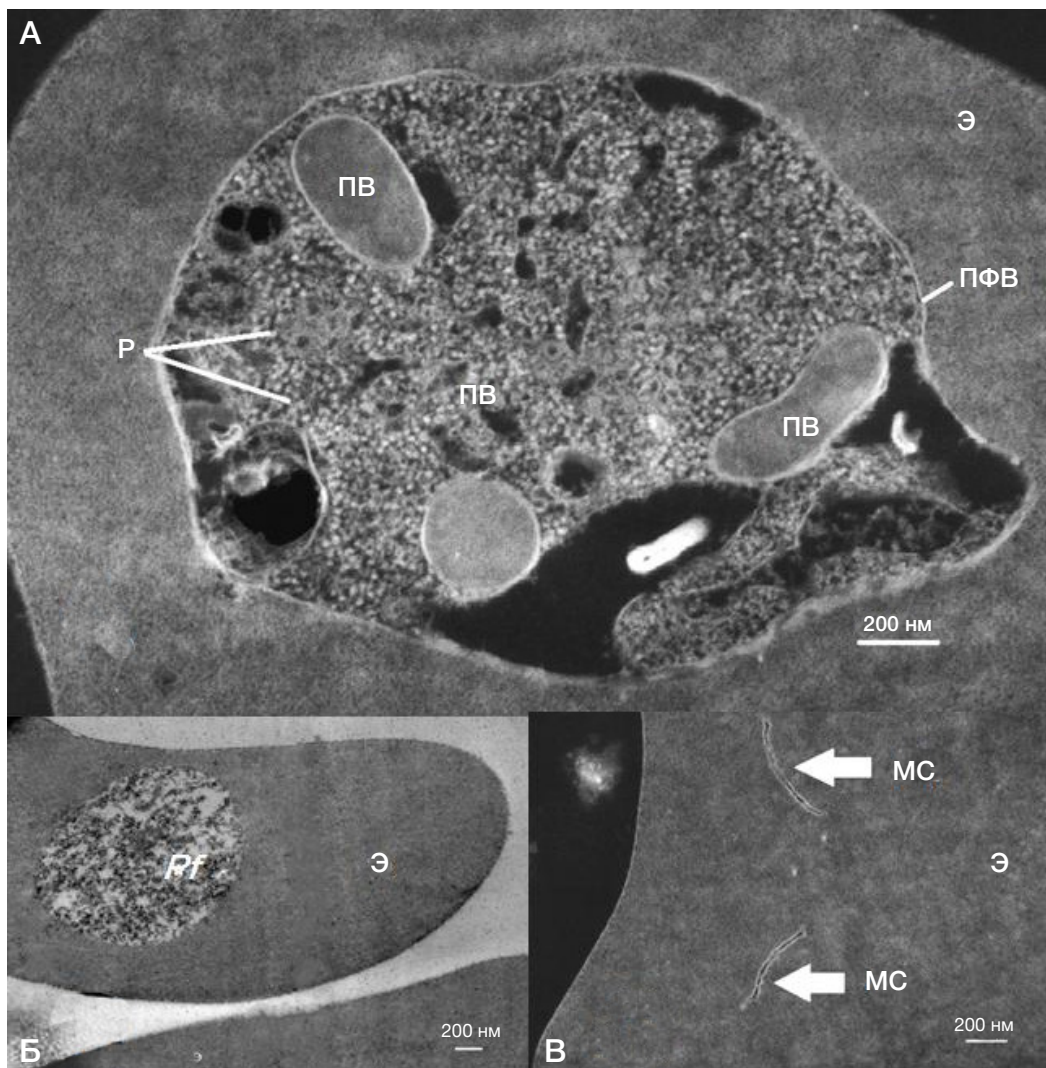


Рис. 3. Трансмиссионная электронная микроскопия: инверсионная (**А, В**), прямая (**Б**). Произвольные срезы трофозоитов *P. falciparum*, расположенных внутри эритроцитов. Э — эритроцит; Pf — *P. Falciparum*; ПВ — пищеварительная вакуоль; ПФВ — паразитофорная вакуоль; Р — рибосомы; МС — расщелины Маурера в цитоплазме инфицированного эритроцита

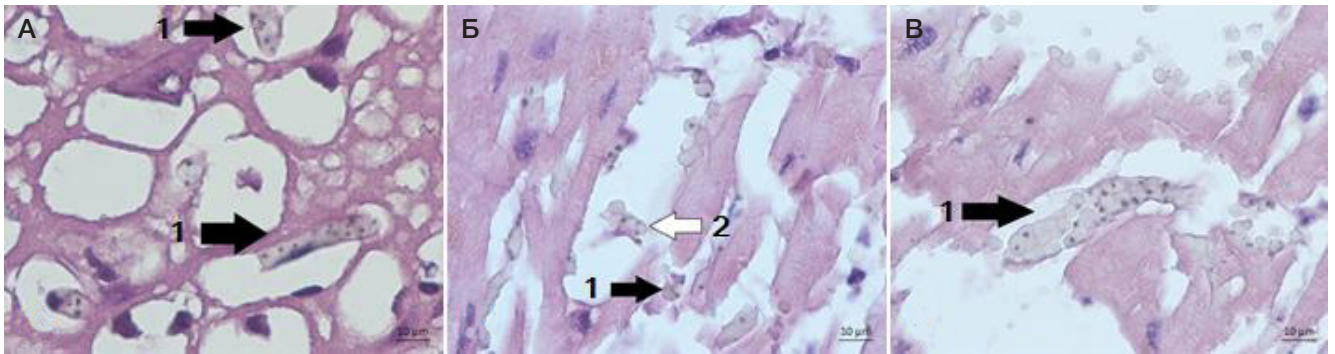


Рис. 4. Световая микроскопия аутопсийного материала (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение $\times 1000$): кора головного мозга (А); миокард (Б, В). 1 — «розеттинг» в просвете мелких капилляров; 2 — адгезия розеток эритроцитов, инфицированных *P. falciparum* к стенке капилляра

состоят из отростков и завитков, отходящих от мембраны паразитофорной вакуоли, созревая с образованием функционально независимых структур, прикрепленных к цитоплазматической мембране эритроцитов [19].

При исследовании тканей миокарда и коры головного мозга выявляются признаки облитерации просветов капилляров розетками инфицированных эритроцитов, адгезированных на эндотелии. Эритроциты в розетках сохраняют вид отдельных клеток, стенки их отчетливо различимы (рис. 4).

При изучении срезов тканей головного мозга и миокарда с помощью сканирующей электронной микроскопии выявляется множественная адгезия эритроцитов на поверхности эндотелия кровеносных капилляров. Инфицированные и непораженные эритроциты деформированы, образуют розетки, среди них присутствуют клетки сферической формы. Это, вероятно, связано с изменением структуры цитоплазматической мембраны эритроцитов вследствие встраивания в нее паразитарных белков. Известно, что сфероцит можно рассматривать как предгемолитическую стадию эритроцита [20]. Вероятно, в процессе изменения структуры эритроцитарной мембраны нарушается ее проницаемость, однако в какой стадии жизненного цикла *P. falciparum* это происходит, остается невыясненным (рис. 5).

Среди эритроцитов, организованных в розетки на поверхности эндотелиальных клеток, обращает на себя внимание отсутствие волокон фибрина, в норме являющегося ключевым участником в формировании тромба. Отсутствие фибриновых масс, наблюдаемое в зонах

слипания эритроцитов, указывает на различия механизмов тромбообразования при ТМ и в процессе свертывания крови. Доказано, что конгломерация эритроцитов в розетки и их адгезия на эндотелии капилляров обусловлена патологическим взаимодействием паразитарных белков с клеточными рецепторами эритроцитов и эндотелиоцитов [21]. Подтверждением ведущей роли патологического межклеточного взаимодействия в патогенезе злокачественной тропической малярии служит выявление тесных межклеточных контактов между мембранами эритроцитов, формирующих розетки в капиллярах головного мозга. Особую значимость при этом имеют извитые каналы расщелин Мауэра, расположенные в зоне прилегания паразита к мембране пораженного эритроцита (рис. 6).

ВЫВОДЫ

В работе представлены результаты морфологического исследования эритроцитов венозной крови, тканей миокарда и головного мозга при тяжелой форме тропической малярии. Анализ результатов изучения ультраструктурных изменений *P. falciparum* и эритроцитов в процессе эритроцитарной шизогонии плазмодиев подтверждает наличие сложных молекулярно-генетических и клеточных механизмов патологического влияния паразитов на клетки хозяина. Результатом такого взаимодействия служат изменения поверхностной архитектуры цитоплазматической мембраны инфицированных эритроцитов, формирование конгломератов эритроцитов, их адгезии на эндотелии

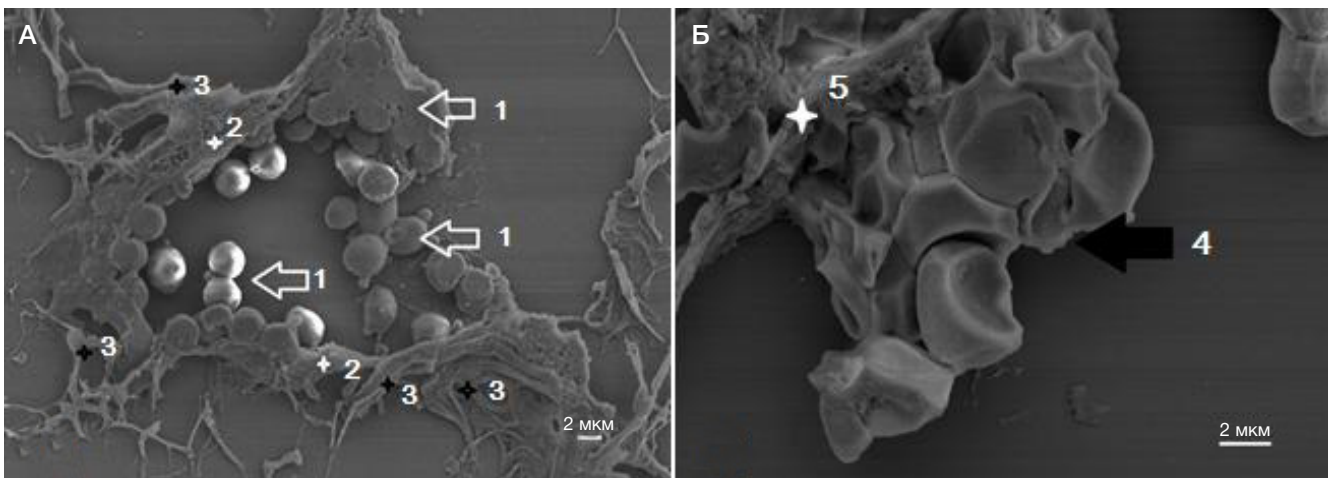


Рис. 5. Сканирующая электронная микроскопия срезов миокарда (А) и коры головного мозга (Б). 1 — адгезия сферических эритроцитов к мембране эндотелиальных клеток; 2 — эндотелиальные клетки; 3 — волокна рыхлой волокнистой соединительной ткани по периферии капилляра; 4 — «розеттинг» в просвете капилляра; 5 — эндотелий капилляра

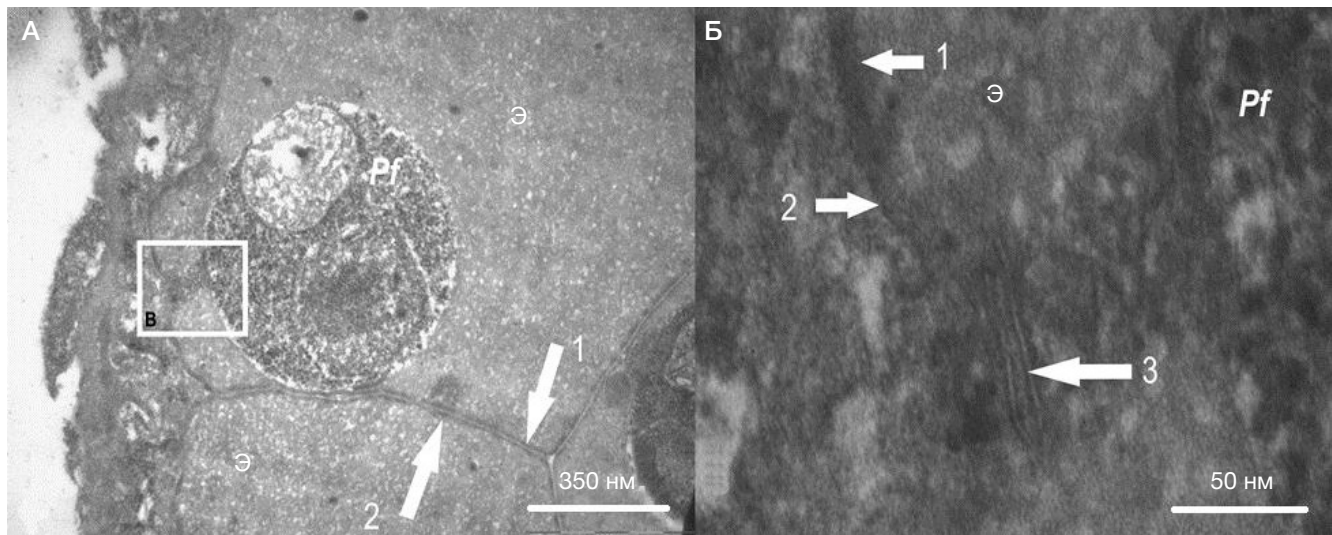


Рис. 6. Трансмиссионная электронная микроскопия тканей головного мозга. **А.** Срез зрелого трофозоида *P. falciparum* (Pf) внутри эритроцита (Э), фиксированного на поверхности эндотелия капилляров. **Б.** Система патологических внутренних мембран инфицированного эритроцита. 1 — оболочка инфицированного эритроцита; 2 — оболочка соседнего эритроцита; 3 — каналы расщелины Мауэра, расположенные между мембраной паразитофорной вакуоли и оболочкой пораженного эритроцита

капилляров миокарда и коры головного мозга. Наблюдаемые изменения приводят к нарушению микроциркуляции в тканях жизненно важных органов. Выявленные ультраструктурные изменения подтверждают способность паразитов менять свойства клеточных

мембран инфицированных эритроцитов, что приводит к формированию патологических межклеточных контактов и служит одним из основных механизмов вирулентности *P. falciparum*, определяющих злокачественное течение тропической малярии.

Литература

- Venkatesan P. The 2023 WHO World malaria report. *The Lancet Microbe*. 2024.
- Lee WC, Russell B, Rénia L. Evolving perspectives on rosetting in malaria. *Trends in Parasitology*. 2022; 38 (10): 882–9.
- Abdi A, Yu L, Goulding D, Rono MK, Bejon P, Choudhary J, et al. Proteomic analysis of extracellular vesicles from a *Plasmodium falciparum* Kenyan clinical isolate defines a core parasite secretome. *Wellcome open research*. 2017; 2.
- Heiber A, Kruse F, Pick C, Grüring C, Flemming S, Oberli A, et al. Identification of new PNEPs indicates a substantial non-PEXEL exportome and underpins common features in *Plasmodium falciparum* protein export. *PLoS pathogens*. 2013; 9 (8): e1003546.
- McHugh E, Carmo OM, Blanch A, Looker O, Liu B, Tiash S, et al. Role of *Plasmodium falciparum* protein GEXP07 in Maurer's cleft morphology, knob architecture, and *P. falciparum* EMP1 trafficking. *MBio*. 2020; 11 (2): 10–1128.
- Yadavalli R, Peterson JW, Drazba JA, Sam-Yellowe TY. Trafficking and Association of *Plasmodium falciparum* MC-2TM with the Maurer's Clefts. *Pathogens*. 2021; 10 (4): 431.
- Ortolan LS, Avril M, Xue J, Seydel KB, Zheng Y, Smith JD. *Plasmodium falciparum* parasite lines expressing DC8 and Group A PfEMP1 bind to brain, intestinal, and kidney endothelial cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022; 12: 813011.
- Jensen AR, Adams Y, Hviid L. Cerebral *Plasmodium falciparum* malaria: The role of PfEMP1 in its pathogenesis and immunity, and PfEMP1-based vaccines to prevent it. *Immunological reviews*. 2020; 293 (1): 230–52.
- Juillerat A, Lewit-Bentley A, Guillotte M, Gangnard S, Hessel A, Baron B, et al. Structure of a *Plasmodium falciparum* PfEMP1 rosetting domain reveals a role for the N-terminal segment in heparin-mediated rosette inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108 (13): 5243–8.
- Mwenda MC, Fola AA, Ciubotariu II, Mulube C, Mambwe B, Kasaro R, et al. Performance evaluation of RDT, light microscopy, and PET-PCR for detecting *Plasmodium falciparum* malaria infections in the 2018 Zambia National Malaria Indicator Survey. *Malaria Journal*. 2021; 20: 1–10.
- Soulard V, Bosson-Vanga H, Lorthiois A, Roucher C, Franetich JF, Zanghi G, et al. *Plasmodium falciparum* full life cycle and *Plasmodium ovale* liver stages in humanized mice. *Nature communications*. 2015; 6 (1): 1–9.
- Liffner B, Diaz AKC, Blauwkamp J, Anaguano D, Frolich S, Muralidharan V, et al. Atlas of *Plasmodium falciparum* intraerythrocytic development using expansion microscopy. *Elife*. 2023; 12: RP88088.
- Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов: Методические указания. М.: ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 2015; 43 с.
- Боровская М. К., Кузнецова Э. Э., Горохова В. Г., Корякина Л. Б., Курильская Т. Е., Пивоваров Ю. И. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; 3 (73): 334–54.
- Melcher M, Muhle RA, Henrich PP, Kraemer SM, Avril M, Vigan-Womas I, et al. Identification of a role for the PfEMP1 semiconserved head structure in protein trafficking to the surface of *Plasmodium falciparum* infected red blood cells. *Cellular microbiology*. 2010; 12 (10): 1446–62.
- Kilian N, Zhang Y, LaMonica L, Hooker G, Toomre D, Mamoun CB, et al. Palmitoylated Proteins in *Plasmodium falciparum*-Infected Erythrocytes: Investigation with Click Chemistry and Metabolic Labeling. *BioEssays*. 2020; 42 (6): 1900145.
- McDonald J, Merrick CJ. DNA replication dynamics during erythrocytic schizogony in the malaria parasites *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium knowlesi*. *PLoS Pathogens*. 2022; 18 (6): e1010595.
- Ostera G, Tokumasu F, Oliveira F, Sa J, Furuya T, Teixeira C, Dvorak J. *Plasmodium falciparum*: food vacuole localization of nitric oxide-derived species in intraerythrocytic stages of the malaria parasite. *Experimental parasitology*. 2008; 120 (1): 29–38.

19. Mundwiler-Pachlatko E, Beck HP. Maurer's clefts, the enigma of *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013; 110 (50): 19987–94.
20. Nigra AD, Casale CH, Santander VS. Human erythrocytes: cytoskeleton and its origin. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020; 77: 1681–94.
21. Avril M, Bernabeu M, Benjamin M, Brazier AJ, Smith JD. Interaction between endothelial protein C receptor and intercellular adhesion molecule 1 to mediate binding of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to endothelial cells. *MBio*. 2016; 7 (4): 10–1128.

References

1. Venkatesan P. The 2023 WHO World malaria report. *The Lancet Microbe*. 2024.
2. Lee WC, Russell B, Rénia L. Evolving perspectives on rosetting in malaria. *Trends in Parasitology*. 2022; 38 (10): 882–9.
3. Abdi A, Yu L, Goulding D, Rono MK, Bejon P, Choudhary J, et al. Proteomic analysis of extracellular vesicles from a *Plasmodium falciparum* Kenyan clinical isolate defines a core parasite secretome. *Wellcome open research*. 2017; 2.
4. Heiber A, Kruse F, Pick C, Grüring C, Flemming S, Oberli A, et al. Identification of new PNEPs indicates a substantial non-PEXEL exportome and underpins common features in *Plasmodium falciparum* protein export. *PLoS pathogens*. 2013; 9 (8): e1003546.
5. McHugh E, Carmo OM, Blanch A, Looker O, Liu B, Tiash S, et al. Role of *Plasmodium falciparum* protein GEXP07 in Maurer's cleft morphology, knob architecture, and *P. falciparum* EMP1 trafficking. *MBio*. 2020; 11 (2): 10–1128.
6. Yadavalli R, Peterson JW, Drazba JA, Sam-Yellowe TY. Trafficking and Association of *Plasmodium falciparum* MC-2TM with the Maurer's Clefts. *Pathogens*. 2021; 10 (4): 431.
7. Ortolan LS, Avril M, Xue J, Seydel KB, Zheng Y, Smith JD. *Plasmodium falciparum* parasite lines expressing DC8 and Group A PfEMP1 bind to brain, intestinal, and kidney endothelial cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022; 12: 813011.
8. Jensen AR, Adams Y, Hviid L. Cerebral *Plasmodium falciparum* malaria: The role of PfEMP1 in its pathogenesis and immunity, and PfEMP1-based vaccines to prevent it. *Immunological reviews*. 2020; 293 (1): 230–52.
9. Juillerat A, Lewit-Bentley A, Guillotte M, Gangnard S, Hessel A, Baron B, et al. Structure of a *Plasmodium falciparum* PfEMP1 rosetting domain reveals a role for the N-terminal segment in heparin-mediated rosette inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108 (13): 5243–8.
10. Mwenda MC, Fola AA, Ciobotariu II, Mulube C, Mambwe B, Kasaro R, et al. Performance evaluation of RDT, light microscopy, and PET-PCR for detecting *Plasmodium falciparum* malaria infections in the 2018 Zambia National Malaria Indicator Survey. *Malaria Journal*. 2021; 20: 1–10.
11. Soulard V, Bosson-Vanga H, Lorthiois A, Roucher C, Franetich JF, Zanghi G, et al. *Plasmodium falciparum* full life cycle and *Plasmodium ovale* liver stages in humanized mice. *Nature communications*. 2015; 6 (1): 1–9.
12. Liffner B, Diaz AKC, Blauwkamp J, Anaguano D, Frolich S, Muralidharan V, et al. Atlas of *Plasmodium falciparum* intraerythrocytic development using expansion microscopy. *Elife*. 2023; 12: RP88088.
13. Laboratornaja diagnostika maljarii i babeziozov: Metodicheskie ukazaniya. M.: FBUZ «Federal'nyj centr gigieny i jepidemiologii» Rospotrebnadzora, 2015; 43 s. Russian.
14. Borovskaya MK, Kuznecova YeYe, Gorohova VG, Korjakina LB, Kuril'skaya TE, Pivovarov Yul. Strukturno-funkcional'naja harakteristika membrany jeritrocita i ee izmenenija pri patologijah raznogo geneza. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; 3 (73): 334–54. Russian.
15. Melcher M, Muhle RA, Henrich PP, Kraemer SM, Avril M, Vigan-Womas I, et al. Identification of a role for the PfEMP1 semiconserved head structure in protein trafficking to the surface of *Plasmodium falciparum* infected red blood cells. *Cellular microbiology*. 2010; 12 (10): 1446–62.
16. Kilian N, Zhang Y, LaMonica L, Hooker G, Toomre D, Mamoun CB, et al. Palmitoylated Proteins in *Plasmodium falciparum*-Infected Erythrocytes: Investigation with Click Chemistry and Metabolic Labeling. *BioEssays*. 2020; 42 (6): 1900145.
17. McDonald J, Merrick CJ. DNA replication dynamics during erythrocytic schizogony in the malaria parasites *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium knowlesi*. *PLoS Pathogens*. 2022; 18 (6): e1010595.
18. Oster G, Tokumasu F, Oliveira F, Sa J, Furuya T, Teixeira C, Dvorak J. *Plasmodium falciparum*: food vacuole localization of nitric oxide-derived species in intraerythrocytic stages of the malaria parasite. *Experimental parasitology*. 2008; 120 (1): 29–38.
19. Mundwiler-Pachlatko E, Beck HP. Maurer's clefts, the enigma of *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013; 110 (50): 19987–94.
20. Nigra AD, Casale CH, Santander VS. Human erythrocytes: cytoskeleton and its origin. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020; 77: 1681–94.
21. Avril M, Bernabeu M, Benjamin M, Brazier AJ, Smith JD. Interaction between endothelial protein C receptor and intercellular adhesion molecule 1 to mediate binding of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to endothelial cells. *MBio*. 2016; 7 (4): 10–1128.

ВОПРОС СОХРАНЕНИЯ ИНТЕРИКТАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ДЛИТЕЛЬНЫХ ЭЭГ-ИССЛЕДОВАНИЯХ ЭПИЛЕПСИИ

С. А. Гуляев^{1,2} ✉, С. Г. Климанов¹, Г. А. Гермашев¹, Л. М. Ханухова², А. А. Гармаш¹

¹ Инженерно-физический институт биомедицины НИЯУ МИФИ, Москва, Россия

² Клиника Ла Салюте, Москва, Россия

Современное применение математических методов анализа ЭЭГ-записей ограничено из-за феномена усреднения информации. В этих условиях актуально найти наиболее вероятный метод повышения качества диагностики пароксизмальных патологических паттернов, имеющих малую продолжительность «жизни», таких как вспышки и субклинические пароксизмы. Целью исследования было оценить возможность исключения межприступной интериктальной активности из длительного ЭЭГ-исследования для достижения его информационного «обогащения» путем формирования условной последовательностей патологических изменений, представляющих его главную клиническую задачу. Было обследовано 40 человек разного возраста, обоих полов. В контрольную группу вошли 20 пациентов 12–67 лет с непосредственным выявлением спайк-волновой активности на ЭЭГ. Группу сравнения составили 20 пациентов 10–66 лет с отсутствием спайк-волновой активности в записи. Показано, что интериктальные данные, полученные у пациентов с наличием эпилептиформных феноменов, не представляют значимого интереса для основной группы клинических исследований. Исключение этих данных приводит к «обогащению» информации и за счет последовательного размещения пароксизмальных паттернов позволяет получать не только более компактные результаты обследований патологической составляющей, но и сформировать базу для разработок с использованием технологий их последующего математического анализа.

Ключевые слова: электроэнцефалография, продолженные ЭЭГ-исследования, анализ результатов, нагрузка на врача

Вклад авторов: С. А. Гуляев — идея исследования, анализ электроэнцефалограмм, написание текста; С. Г. Климанов, Г. А. Гермашев, Л. М. Ханухова — общий анализ данных; А. А. Гармаш — общее руководство проектом.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ООО «Клиника Ла Салюте» (протокол № 11-011/24 от 11 января 2024 г.), проведено согласно договору ИФИБ НИЯУ МИФИ и ООО «Клиника Ла Салюте» (№ 09-01/23 от 09 января 2023 г.) в соответствии с принципами Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлений.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Александрович Гуляев
ул. Раменки, д. 31, к. 136, г. Москва, 119607; sergruss@yandex.ru

Статья получена: 12.03.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.020

THE ISSUE OF PRESERVING INTERICTAL ACTIVITY IN LONG-TERM EEG STUDIES OF EPILEPSY

Gulyaev SA^{1,2} ✉, Klimanov SG¹, Germashev GA¹, Khanukhova LM², Garmash AA¹

¹ Engineering and Physical Institute of Biomedicine, National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

² La Salute Clinic, Moscow, Russia

Modern application of mathematical methods for analyzing EEG recordings is limited due to the phenomenon of information averaging. In these conditions, it is important to find the most likely method for improving the quality of diagnosis of paroxysmal pathological patterns that have a short “life”, such as outbreaks and subclinical paroxysms. The purpose of the study was to evaluate the possibility of excluding interictal activity from a long-term EEG study in order to achieve its information “enrichment” by forming conditional sequences of pathological changes representing its main clinical task. Forty people of different ages and both sexes were examined. The control group included 20 patients aged 12–67 years with direct detection of spike-wave activity on the EEG. The comparison group consisted of 20 patients aged 10–66 years with no spike-wave activity in the recording. It has been shown that interictal data obtained in patients with epileptiform phenomena are not of significant interest for the main group of clinical studies. The exclusion of these data leads to the “enrichment” of information due to the sequential placement of paroxysmal patterns and makes it possible to obtain not only more compact results of examinations of the pathological component, but also to form a basis for developments using technologies for their subsequent mathematical analysis.

Keywords: electroencephalography, continued EEG studies, analysis of results, workload on the doctor

Author contribution: Gulyaev SA — study concept, EEG analysis, manuscript writing; Klimanov SG, Germashev GA, Khanukhova LM — data analysis; Garmash AA — project management.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the La Salute Clinic (protocol No. 11-011/24 dated 11 January 2024); it was conducted in accordance with the contract between the National Research Nuclear University MEPhI and La Salute Clinic (No. 09-01/23 dated 09 January 2023) and the principles set out in the Declaration of Helsinki (1964) and its subsequent updates.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey A. Gulyaev
Ramenki, 31, k. 136, Moscow, 119607; sergruss@yandex.ru

Received: 12.03.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.020

К началу текущего века видео-ЭЭГ-мониторинг прочно вошел в объемы оказания медицинской помощи пациентам с эпилепсией [1] как основа ее дифференциальной диагностики и метод, позволяющий назначить адекватное

лечение даже в случае медикаментозно-резистентных форм заболевания [2]. Особенно стремительно данная технология стала развиваться на фоне разработки электронных систем хранения больших объемов информации (big data),

что показало ее преимущество для дифференциальной диагностики эпилептических припадков перед классическим рутинным ЭЭГ-исследованием [3–5].

В то же время основная технология расшифровки ЭЭГ-записи по-прежнему строится на позициях визуально-феноменологического анализа [6] с выявлением отдельных видов патологических графоэлементов, что в условиях продолженных записей значительно увеличивает визуальную нагрузку на специалиста и может приводить как к ошибкам диагностики из-за утомляемости работника, так и к развитию профессионального повреждения зрения.

По результатам опроса, проведенного в Германии в 16 немецких центрах эпилепсии в период с декабря 2020 г. по январь 2021 г. [7], проблемы производительности ЭЭГ-исследования ставили под угрозу диагностику примерно у каждого 10-го пациента. Поэтому на сегодняшний день одним из наиболее актуальных вопросов организации продолженного ЭЭГ-исследования является создание наиболее комфортной среды для врача и прежде всего удобное представление результатов, поскольку вопрос определения эпилептиформного графоэлемента может быть нарушен из-за визуального утомления, недостаточной квалификации или спорного клинического значения феномена, или его сходством с артефактом записи [8–10].

Такое положение привело к поиску возможности сокращения объемов зрительной информации, представляемой врачу.

В основу поиска легли разработки технологий автоматического выделения кратковременных изменений спектральной плотности сигнала с последующей их интерполяцией на условную поверхность головы в плоском или трехмерном представлении [11–16]. Однако уже к началу 2000-х гг. стало понятно, что данная технология более успешна при исследовании внутричерепных структурных изменений, продуцирующих уникальную патологическую ритмическую активность [17–19].

В то же время ее применение при эпилепсии показали неоднозначные результаты [20, 21]. Согласно им, наилучших показателей удается добиться в случае продукции ритмической эпилептиформной активности из очага [22] или при оценке взаимосвязи разных очагов эпилептической активности [23], что привело к сохранению рутинного визуализационно-феноменологического анализа как основного метода диагностики эпилептической активности.

Следующим решением была разработка систем выделения отдельных эпилептических феноменов в записи [24, 25]. Однако данная технология потребовала внедрения систем распознавания образов, поскольку регистрируемый эпилептический феномен имеет сложную форму и оценивать его с помощью элементарных процедур оценки амплитуды и частоты не всегда возможно [26–28]. В настоящее время анализ эпилептической активности, в условиях продолженного ЭЭГ-исследования требует решения следующих вопросов: 1) выявления патологической пароксизмальной активности, исключения схожих с ней артефактов; 2) ее количественного анализа в единицу времени; 3) оптимизации представления результата, понятной как для специалистов-физиологов, так и для клиницистов.

Выявление патологической активности в настоящее время может быть рассмотрено как с позиции ручного выделения сигнала из первичной ЭЭГ-записи, так и с позиции полной автоматизации процесса с использованием технологий искусственного интеллекта (ИИ) с разработкой систем глубокого обучения [29, 30].

Учитывая вышеизложенное, оптимальным вариантом представления продолженных исследований мог бы стать результат автоматизированной математической постобработки, представляющий с одной стороны выделение всех патологических элементов [31] при удалении межприступной активности из записи. Такая комбинация позволит использовать весь спектр обработки ЭЭГ-сигнала, основанного на технологии анализа ритмической активности, и не только производить их комбинирование с двух- или трехмерными изображениями, полученными в ходе МРТ-исследования в виде трехмерных пространственных карт, но с помощью решения обратной задачи ЭЭГ [32, 33] с большой точностью определять патологические области коры, представляющие собой источники пароксизмальной биоэлектрической активности.

Для реализации данной технологии необходимо установить, насколько информация ЭЭГ-исследования в межприступный период отличается от фоновой (Resting State) ЭЭГ-активности людей, не страдающих заболеваниями с повышенной активностью нейронных структур, проявляющихся появлением патологической пароксизмальной активности во время ЭЭГ-исследования, а также насколько исключение интериктальной активности может повлиять на точность конечного результата.

Точный сравнительный анализ ЭЭГ-записей, как правило, затруднен из-за отсутствия единой начальной точки события, что приводит к смещению фаз ЭЭГ-сигнала и невозможности их сравнительного анализа. Данное смещение не позволяет применять широко представленные ранее методы корреляции и когерентности сигнала, поскольку исследуемые у разных людей сигналы абсолютно не связаны между собой, а любое решение, указывающее на наличие такой связи, будет заведомо ложным.

Тем не менее, ответ на этот вопрос позволяет получить теория ЭЭГ-микросостояний, предложенная в 1990-х гг. D. Lehmann с соавторами. Данный подход позволяет разделять непрерывный поток ЭЭГ-данных посредством процедуры кластеризации на отдельные составляющие. Создается массив из отдельных участков записи, имеющих схожие электрофизиологические характеристики (микросостояния), во время которых основные показатели общего скальпового потенциала сохраняют относительную стабильность. В настоящее время технология кластерного анализа позволяет выявить до 39 отдельных ЭЭГ-микросостояний. Однако максимальной репрезентативности удается добиться только у 2–8 первых классов, что, вероятно, связано с активностью крупных нейронных сетей, отвечающих за реализацию базовых и наиболее устойчивых мозговых функций, нарушение которых проявляется в виде тяжелых изменений психической сферы [34–36].

Таким образом, рассматривая последовательности ЭЭГ-микросостояний, исследователь получает возможность не только судить о характеристиках работы крупных мозговых сетей, но и сравнивать их между собой.

Однако изменение характеристик ЭЭГ-микросостояний в большей степени связано со структурно-анатомическими изменениями нейронных образований, их формирующих, поэтому изолированный анализ частоты представленности или времени жизни каждого из выделяемых ЭЭГ-микросостояний в условиях отсутствия органического субстрата, повреждающего межнейронные связи, могут не отличаться от условно нормальных величин. В структуре неврологических заболеваний, обусловленных повышенной возбудимостью нейронов коры головного

мозга, это наблюдается у больных генетическими формами эпилепсии, когда исследователь не выявляет органических изменений посредством технологий нейровизуализации.

В этих условиях заболевание больше влияет на функциональные последовательности возбуждения корковых структур, описываемые как система потоков информации в корковых структурах [37, 38].

Каждое отдельное ЭЭГ-микросостояние представляет собой относительный стабильный вариант скальпового потенциала, или фиксированное во времени суммарное множество вариантов постсинаптических разрядов, связанное с активностью крупных нейронных образований, вовлеченных в реализацию общей функции, поэтому решение обратной задачи ЭЭГ для каждого отдельного ЭЭГ-микросостояния позволит выделить несколько последовательных точек на корковых структурах, связанных с переходом активности от одной нейронной сети к другой в составе модели информационных потоков. В результате исследователь сможет не только определить структурное изменение нейронной сети, но и узнать функциональные изменения, связанные с изменениями процессов формирования высших нервных функций в условиях развития заболевания.

Наиболее широко используемое решение данного вопроса было предложено R. D. Pascual-Marqui в виде системы решения обратной ЭЭГ-задачи на основе технологии совмещения дипольной локализации и послойной модели головы, получившей наименование электромагнитной томографии низкого разрешения (LORETA) [39]. В настоящее время в технологию добавлена количественная нейроанатомия на основе шаблонов, представленных Центром визуализации мозга Монреальского неврологического института (MNI), что позволяет получать результаты пространственной локализации на уровне, сравнимом с классическими методами функциональной визуализации, таких как ПЭТ и фМРТ [40–50].

Таким образом, вышеизложенное позволило сформулировать нулевую теорию эксперимента, состоящую в том, что наличие достоверных различий в выявленных результатах исследований интериктальной записи пациентов, страдающих заболеваниями с повышенной активностью нейронных структур коры головного мозга и результатах исследования фоновой (Resting – State) ЭЭГ-записи здоровых людей, не имеющих патологических пароксизмальных изменений, не позволит исключить интериктальные данные из общего исследования, поскольку содержащаяся в них информация существенна для исследователя и не может быть сознательно утрачена из основной записи исследования.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Группы исследования

В исследовании приняли участие 40 людей разного возраста, обоих полов, проходивших ЭЭГ-обследование. Общий сценарий ЭЭГ исследования проводили согласно опубликованным ранее рекомендациям [51–53]. В контрольную группу вошли 20 пациентов 12–67 лет (средний возраст — 25 лет). Критерии включения в контрольную группу: наличие установленного диагноза «эпилепсия»; непосредственное выявление спайк-волновой активности на ЭЭГ.

Группу сравнения составили 20 пациентов 10–66 лет (средний возраст — 28 лет). Критерии включения в

группу сравнения: отсутствие установленного диагноза «эпилепсия»; отсутствие спайк-волновой активности в записи.

Для исследования из общей записи производил выборку эпох (в среднем не менее 10 мин) пребывания пациента в состоянии пассивного расслабленного бодрствования с закрытыми глазами. У пациентов с регистрацией пароксизмальной эпилептиформной активности производили выборку данных, регистрируемых в состоянии пассивного расслабленного бодрствования с закрытыми глазами между иктальными эпизодами.

Критерии исключения: наличие установленного диагноза «эпилепсия» в анамнезе; отсутствие характерного иктального паттерна в записи; наличие специфических изменений в ЭЭГ-записи без ранее установленного диагноза «эпилепсия»; наличие установленного эпилептического слабоумия с развитием выраженных когнитивных дисфункций и определяемых с помощью методов нейровизуализации грубых структурных изменений вещества мозга; прием фармакологически активных веществ; курение; употребление крепкого алкоголя менее чем за неделю до исследования; регулярное употребление алкоголя; беременность.

Дизайн эксперимента

Сравнение результатов проводили в состоянии пассивного расслабленного бодрствования с закрытыми глазами в режиме реального времени методом кластерного анализа (K-средних), позволяющего рассчитать отдельные стабильные ЭЭГ-микросостояния в диапазоне частот 2–20 Гц. Для выявления когнитивных последовательностей была использована модель из восьми ЭЭГ-микросостояний, отражавших формирование общего скальпового потенциала как результат суммарной активности восьми условных нейронных сетей. Применение данной модели позволяло более рационально использовать имеющиеся мощности вычислительной аппаратуры.

Согласно предложенной модели, для каждого отдельного ЭЭГ-микросостояния было произведено решение обратной ЭЭГ-задачи с установлением его связи с отдельными корковыми структурами в пределах системы полей Бродмана (согласно рекомендациям Монреальского нейрохирургического института, MNI, Канада).

Используемая техника

ЭЭГ-исследование проводили на 52-канальном биоусилителе отечественного производства (г. Зеленоград) с базовой частотой аналогово-цифрового преобразователя 500 Гц, что позволяло уверенно получать данные в диапазоне от 1 до 250 Гц без потерь информативности. Полученную информацию обрабатывали на ПЭВМ в пакете программ sLORETA v20210701 Швейцария v20210701 (University of Zurich; Switzerland), а также путем реализации технологических прототипов с помощью интерпретируемых пакетов программ EEGLAB и BRAINSTORM, реализованных под управлением системы MATLAB (Mathworks ver. 98 (2020); США).

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета SPSS Statistics ver.23.0 (IBM; USA). Нормальность распределения проверяли с помощью теста Колмогорова–Смирнова, а

Таблица 1. Частота регистрации отдельных ЭЭГ-микросостояний в контрольной группе наблюдения

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Среднее	2,28	2,25	2,32	2,2	2,3	2,29	2,31	2,48
Отклонение	0,55	0,45	0,46	0,66	0,35	0,54	0,49	0,3
Минимальное	0,414	0,88	1,3	0,3	1,6	0,04	0,38	2,01
Максимальное	3,04	3,03	3,49	2,91	2,95	2,93	3,15	3,16

Таблица 2. Частота регистрации отдельных ЭЭГ-микросостояний в сравнительной группе наблюдения

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Среднее	2,28	2,27	2,31	2,38	2,43	2,29	2,48	2,39
Отклонение	0,43	0,3	0,36	0,37	0,36	0,31	0,35	0,24
Минимальное	1,55	1,55	1,7	1,87	2	1,64	1,97	1,85
Максимальное	2,78	2,869	2,89	3,2	3,33	2,91	3,07	2,714

статистическую значимость различий устанавливали с помощью критерия Хи-квадрат (Chi-Square).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование частотно-временных характеристик ЭЭГ-микросостояний

Частотные и временные характеристики отдельных ЭЭГ-микросостояний показывают сохранность структурных связей нейронной сети, участвующей в реализации биоэлектрической активности, формирующих отдельные ЭЭГ-микросостояние.

Поэтому анализ частоты регистрации каждого отдельного ЭЭГ-микросостояния и времени его существования (жизни) был необходим для выявления возможного нарушения сохранности строения мозговых нейронных сетей у людей, страдающих эпилепсией. В случае обнаружения данной патологии вопрос об исключении информации о межприступной активности в записи не имел бы смысла из-за неадекватности исследуемого материала. Однако полученные данные (табл. 1–4) показали, что частотно-временные характеристики отдельных ЭЭГ-микросостояний не имели статистически значимых изменений между исследуемыми группами (тест Хи-квадрат, $p > 0,5$). Эти наблюдения позволяют отвергнуть нулевую гипотезу эксперимента и обосновать возможность исключения межприступной записи из длительного ЭЭГ-исследования для людей с эпилепсией, поскольку ее характеристики вполне сравнимы с активностью головного мозга здорового человека.

Таблица 3. Время «жизни» отдельных ЭЭГ-микросостояний в контрольной группе наблюдения

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Среднее	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,06
Отклонение	0	0	0,01	0,01	0	0,02	0,01	0
Минимальное	0,05	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05
Максимальное	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,14	0,07	0,06

Таблица 4. Время «жизни» отдельных ЭЭГ-микросостояний в группе сравнения

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Среднее	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Отклонение	0	0	0	0	0	0	0	0
Минимальное	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Максимальное	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07

Решение обратной ЭЭГ-задачи для активности отдельных ЭЭГ-микросостояний

Решение обратной ЭЭГ-задачи для выделенного набора ЭЭГ-микросостояний (рис. 1–3) позволило выделить последовательность перехода биоэлектрической активности согласно топографии отдельных полей К. Бродмана. Эти данные отражали текущую активность, представленную у обследуемых в состоянии пассивного расслабленного бодрствования с закрытыми глазами как в контрольной группе, так и в группе сравнения.

Сравнение этих характеристик у представителей контрольной группы и группы сравнения (рис. 1) показало, что результаты, характеризующие ритмическую активность полей Бродмана, отвечающих за восприятие (18, 19) и когнитивную обработку данных (6, 7), имеют низкую степень различий (статистическая достоверность по тесту Хи-Квадрат составила $p = 0,6$) (рис. 2).

Однако в проекции полей 22, 27, 30, 31, 39 и 40 (рис. 3), связанных с центрами звуковосприятия и речевой функции, а также ретроспленальной коры головного мозга (ориентация в пространстве) регистрировались значимые изменения характеристик (тест Хи-квадрат; $p = 0,01$).

Таким образом, анализируя изменение последовательностей возбуждения корковых структур, отвергнуть нулевую гипотезу эксперимента возможно, особенно при условии, если исследователь ставит цель как анализ базовых когнитивных функций, а не исследование их физиологических особенностей в спектре условной нормы, например, факт доказательства эпилепсии у обследуемого или локализация эпилептических очагов

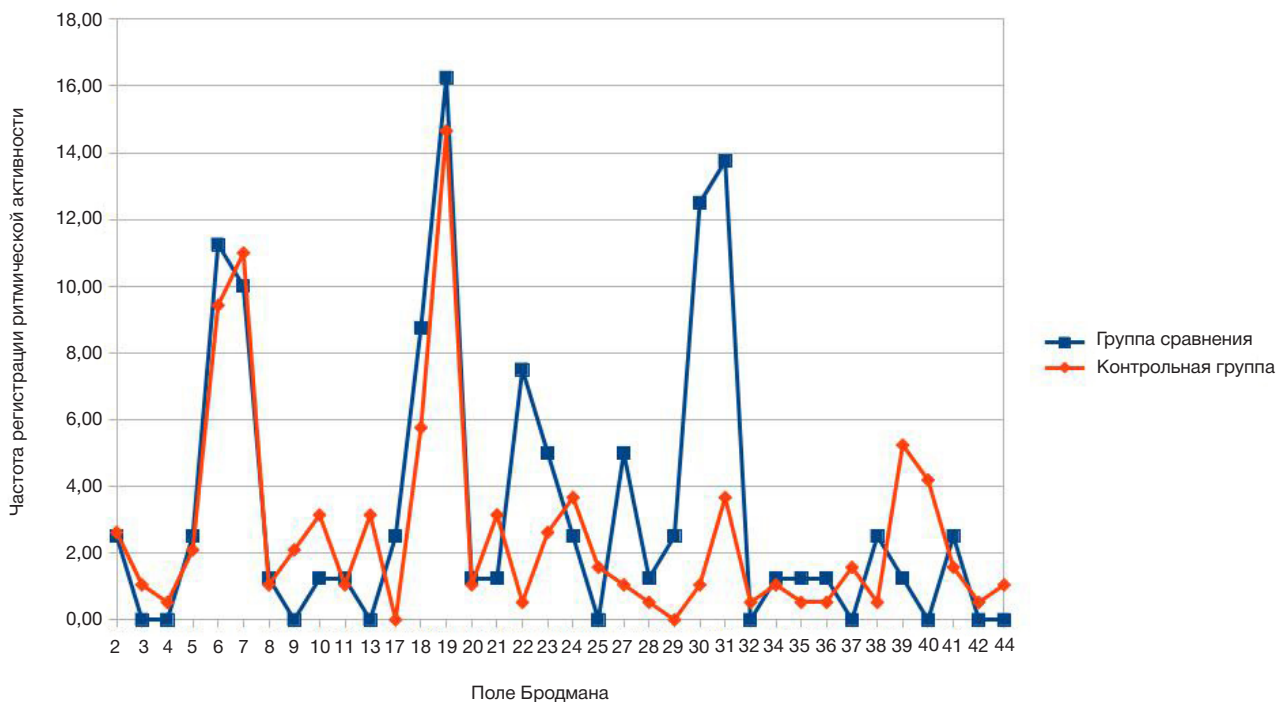


Рис. 1. Процентное соотношение регистрации дефолтной активности головного мозга при решении обратной ЭЭГ-задачи (тест Хи-квадрат; $p = 0,04$)

в коре для обоснования возможности последующего хирургического лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное нами исследование показало неоднозначные результаты. Так отсутствие данных, подтверждающих наличие структурного изменения нейронных сетей у обследованных с пароксизмальными изменениями электроэнцефалограммы, позволяло отвергнуть нулевую гипотезу эксперимента, особенно при исследовании заболеваний без обнаруживаемого посредством нейровизуализационных исследований органических

повреждений, представляющих причину заболевания. Эти наблюдения соответствуют данным ранее проведенных клинических обследований [43, 54], указывающих, что не менее чем в 50% клинических случаев установленной эпилепсии в межприступный период не определяется значимых нарушений высших нервных функций, а пациенты, имеющие таковые нарушения, при правильно организованном лечении вполне адекватно справляются с учебными и профессиональными нагрузками.

Подтверждается также факт, что когнитивные нарушения у пациентов с эпилепсией являются либо проявлением самого припадка, либо следствием депрессивных состояний, вызванных нарушенным восприятием заболевания,

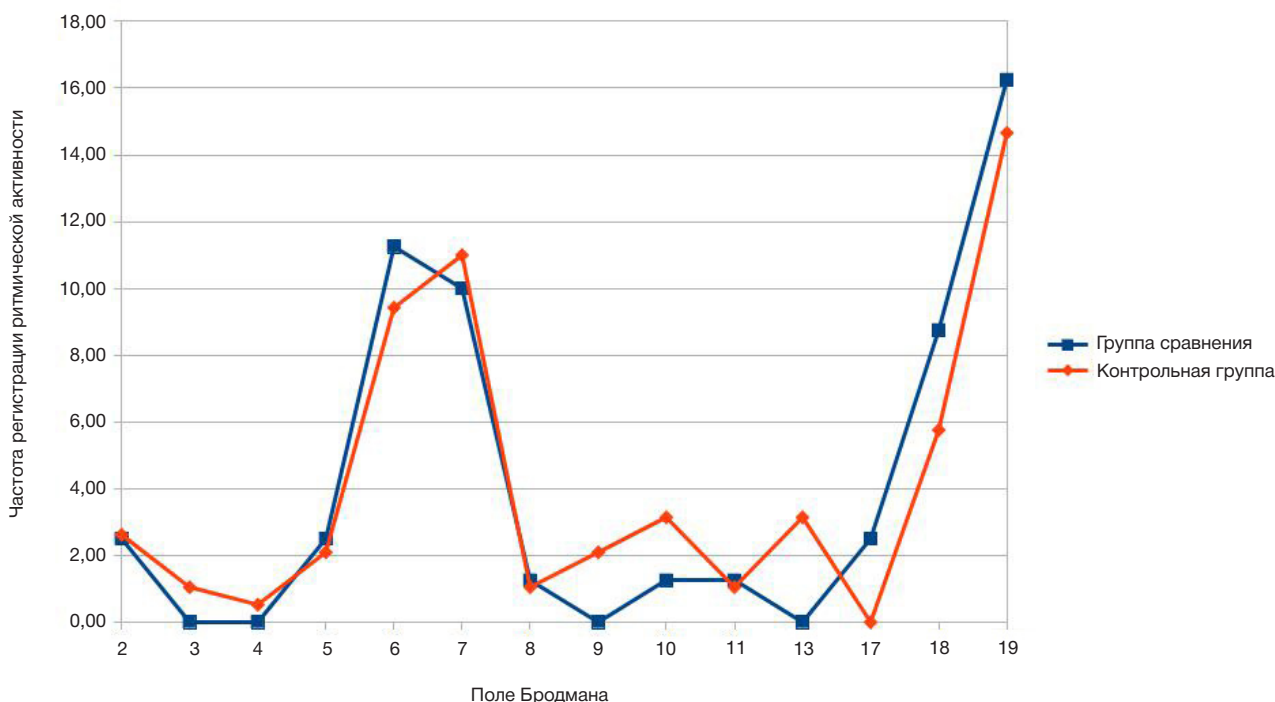


Рис. 2. Дефолтная активность в отдельных полях Бродмана, реализующих процессы гнозиса и обработки информации (тест Хи-квадрат; $p = 0,6$)

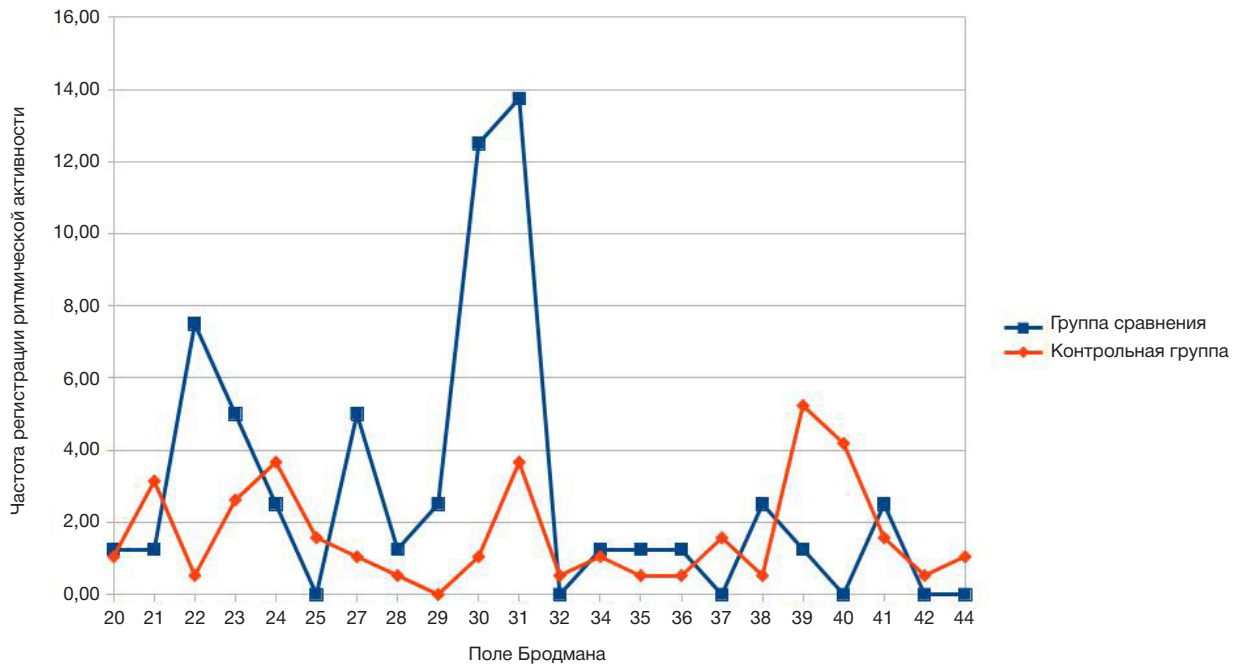


Рис. 3. Дефолтная активность в отдельных полях Бродмана, реализующих речевую функцию (тест Хи-квадрат; $p = 0,01$)

которые можно успешно купировать при назначении адекватной медикаментозной терапии [55].

Однако исследование функциональных последовательностей перехода биоэлектрической активности по корковым структурам показало, что активность речевых центров, наблюдаемая у лиц с пароксизмальными эпилептиформными изменениями ЭЭГ-

записи, значимо отличалась от активности, выявляемой у здоровых людей, что демонстрирует реализацию слухоречевой функции в виде тоно-музыкальной модели, характерной для детского возраста от двух до пяти лет). Эти наблюдения позволяют объяснить особенности возникновения слуховых галлюцинаций у больных эпилепсией и изменение характеристик биоэлектрической

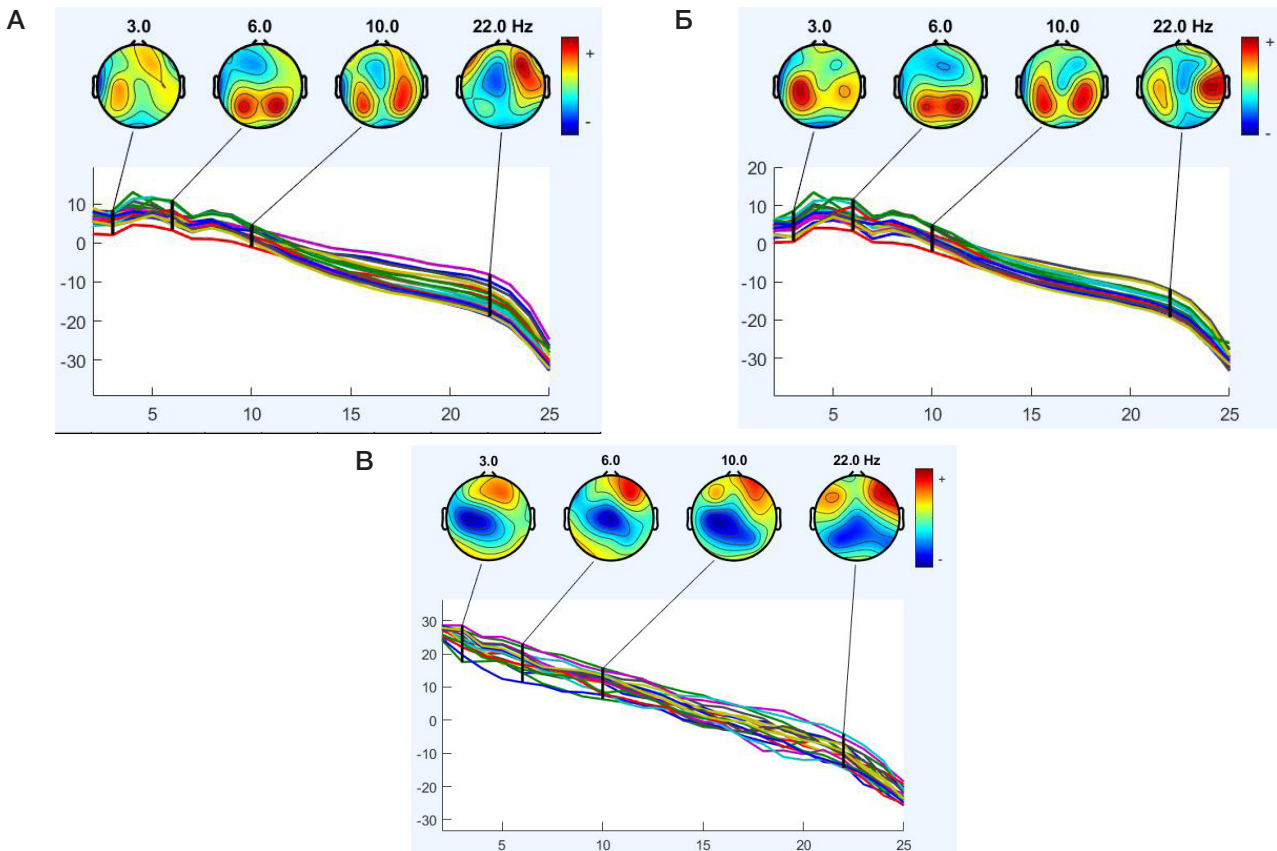


Рис. 4. Двумерное ЭЭГ-картирование длительного ЭЭГ-исследования, выполненное для всего объема данных (А); для данных с исключением эпилептиформной активности (Б); для эпилептиформной активности с исключением интериктальной активности (В). (Программа EEGLAB (MATHEWORKS)). Из данных исключена артефактная активность с помощью технологии независимого анализа компонент сигнала)

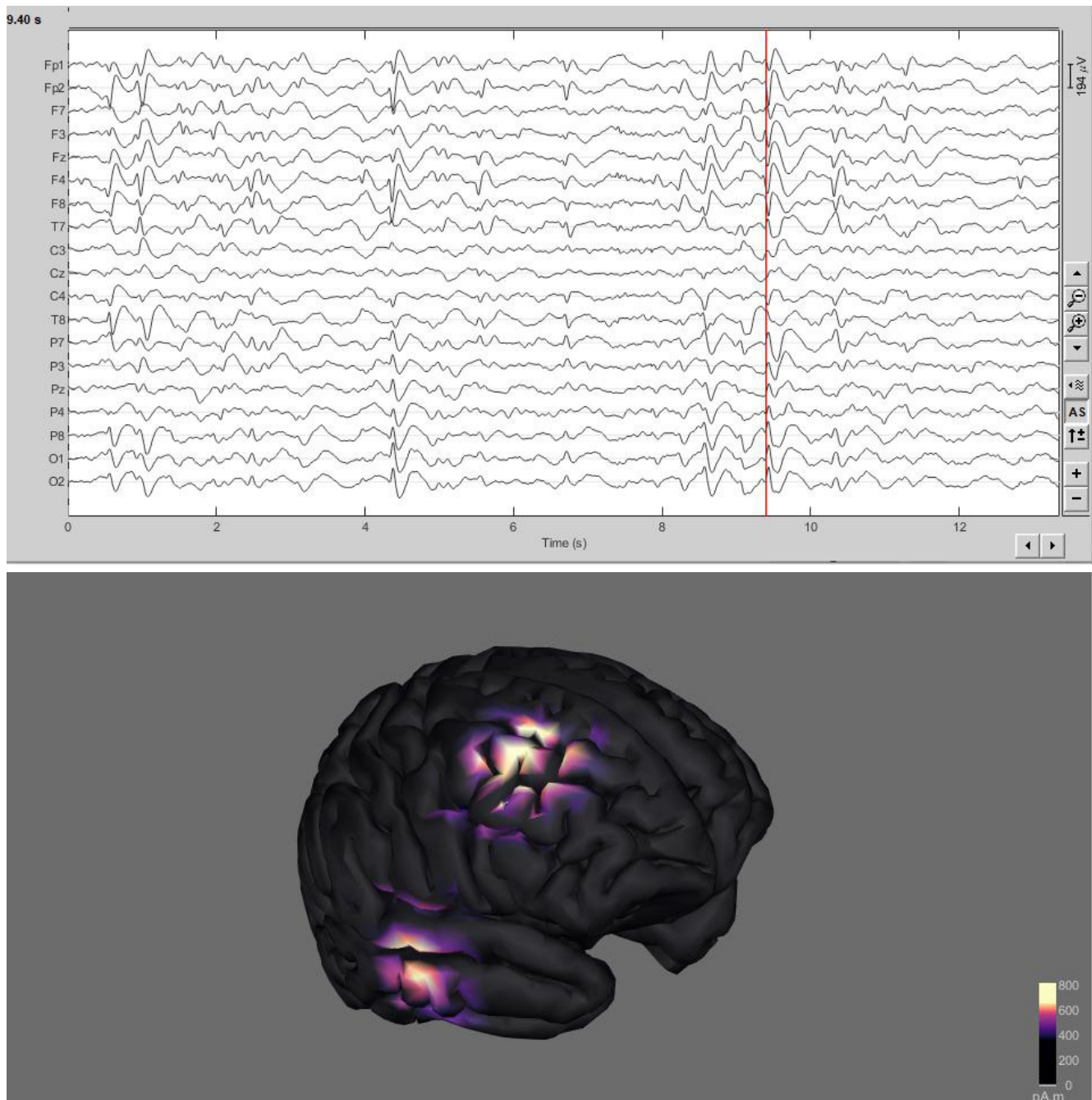


Рис. 5. Реализация технологии (технологический прототип) исключения интериктальной активности при длительном (9 ч) ЭЭГ-исследовании. (Программа BRAINSTORM (MATHWORKS)). Из данных исключена артефактная активность с помощью технологии независимого анализа компонент сигнала)

активности при прослушивании определенных музыкальных произведений, описанное ранее [56, 57].

Эта организация речевой функции скорее представляет вариант развития, вероятно связанный с влиянием пароксизмальных изменений биоэлектрической активности головного мозга на развитие и обучение таких людей, поскольку речевая функция человека является самой молодой из всех когнитивных функций, формирование которой наблюдается после его рождения.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты позволяют сформулировать основное решение исследования в том, что для решения основных клинических задач, продолженных ЭЭГ-

исследований, использование интериктальной ЭЭГ-записи не представляет значимого клинического интереса. Более того, ее исключение и, как следствие, «обогащение» информации за счет последовательного размещения иктальных паттернов позволяют получать более компактные результаты обследований патологической составляющей с применением как имеющегося арсенала средств математического анализа электроэнцефалограмм, так и новых разработок с использованием технологий машинного обучения и искусственного интеллекта (рис. 4–5).

Мы надеемся, что данный подход позволит не только сократить представляемую специалисту информацию, но и улучшить условия его труда за счет значимого сокращения объемов зрительной нагрузки.

Литература

- Cascino GD. Video-EEG monitoring in adults. *Epilepsia*. 2002; 43 Suppl 3: 80–93. DOI: 10.1046/j.1528-1157.43.s.3.14.x. PMID: 12060010.
- Villanueva V, Gutierrez A, García M, Beltran A, Palau J, Conde R, et al. Usefulness of Video-EEG monitoring in patients with drug-resistant epilepsy. *Neurologia*. 2011; 26 (1): 6–12. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.nrl.2010.09.029. Epub 2010 Dec 8. PMID: 21163203.
- Jamal Omidi S, Hampson JP, Lhatoo SD. Long-term Home Video EEG for recording clinical events. *J Clin Neurophysiol*. 2021; 38 (2): 92–100. DOI: 10.1097/WNP.0000000000000746. PMID: 33661785.
- Tatum WO. Editorial: Outcome of ambulatory video-EEG monitoring in a 10,000 patient nationwide cohort. *Seizure*. 2019; 66: 112–13. DOI: 10.1016/j.seizure.2019.02.016. PMID: 30910236.
- Fung FW, Abend NS. EEG Monitoring After Convulsive Status Epilepticus. *J Clin Neurophysiol*. 2020; 37 (5): 406–10. DOI: 10.1097/WNP.0000000000000664. PMID: 32890062.
- James L. Stone and John R. Hughes. The Gibbs' Boston years: early developments in epilepsy research and electroencephalography at Harvard. *Clinical Electroencephalography*. 1990; 21 (4): 175–82. DOI: 10.1177/155005949002100404. PMID 2225465. S2CID 143435828.
- Willems LM, Baier H, Bien CG, Bůžek F, Dämpelmann M, Hamer HM, et al. Satisfaction with and reliability of in-hospital video-EEG monitoring systems in epilepsy diagnosis — A German multicenter experience. *Clin Neurophysiol*. 2021; 132 (9): 2317–22. DOI: 10.1016/j.clinph.2021.04.020. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34154936.
- Gallotto S, Seeck M. EEG biomarker candidates for the identification of epilepsy. *Clin Neurophysiol Pract*. 2022; 8: 32–41. DOI: 10.1016/j.cnp.2022.11.004. PMID: 36632368; PMCID: PMC9826889.
- Kramer MA, Ostrowski LM, Song DY, Thorn EL, Stoyell SM, Parnes M, et al. Scalp recorded spike ripples predict seizure risk in childhood epilepsy better than spikes. *Brain*. 2019; 142 (5): 1296–309. DOI: 10.1093/brain/awz059. PMID: 30907404; PMCID: PMC6487332.
- Gotman J. Automatic detection of seizures and spikes. *J Clin Neurophysiol*. 1999; 16 (2): 130–40. DOI: 10.1097/00004691-199903000-00005. PMID: 10359498.
- Baumgartner C, Hafner S, Koren JP. Automatische Erkennung von epilepsietypischen Potenzialen und Anfällen im EEG [Automatic detection of epileptiform potentials and seizures in the EEG]. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 2021; 89 (9): 445–8. German. DOI: 10.1055/a-1370-3058. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34525483.
- Saito M. The significance and the contribution of EEG and other biopotential analysis in clinical psychiatry. *Recent adv. EEG and EMG data process. Proc. int. conf., Kanazawa, sept. 10–12, 1981, Amsterdam e.a., 1981, p. 279–86.*
- Fedin AI. Compressed spectral EEG analysis in patients with consciousness disorders complicating stroke. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 1981; 81 (9): 1337–42. Russian. PMID: 7324688.
- Sainio K, Stenberg D, Keskimäki I, Muuronen A, Kaste M. Visual and spectral EEG analysis in the evaluation of the outcome in patients with ischemic brain infarction. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1983; 56 (2): 117–24. DOI: 10.1016/0013-4694(83)90066-4. PMID: 6191943.
- Gusev EI, Pokrovskii AV, Volynskii YuD, Pyshkina LI, Erokhin OYu, Goloma VV, et al. Compression spectral analysis of the EEG in patients with occlusive lesions of the carotid and vertebral arteries. *Neurosci Behav Physiol*. 1989; 19 (1): 51–6. DOI: 10.1007/BF01148411. PMID: 2664551.
- Tuter NV, Gnezditskii VV. Compressive-spectral analysis of EEG in patients with panic attacks in the context of different psychiatric diseases. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2008; 108 (3): 58–66. Russian. PMID: 18427541.
- Frolov AA, Boldyreva GN, Koptelov IuM. Poisk istochnikov patologicheskoi al'fa-aktivnosti EEG cheloveka pri porazhenii limbicheskikh struktur [A search for the sources of pathological alpha activity in the human EEG in limbic structure lesions]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 1998; 48 (4): 687–96. Russian. PMID: 9778812.
- Pirlik GP, Gnezditskii VV, Koptelov IuM, Bodykhov MK, Skvortsova VI. Change of bioelectric brain activity registered at the distance from the focus of cerebral tissue injury. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2001; 101 (5): 24–31. Russian. PMID: 11505911.
- Grindel OM, Bragina NN, Voronina IA, Masherov EL, Koptelov IuM, Voronov VG, et al. The electroencephalographic correlates of a disorder in higher cortical functions in local lesions of the hypothalamic area. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 1995; 45 (6): 1101–11. Russian. PMID: 8585300.
- Zenkov LR, Karlov VA, Ronkin MA, Gedekova A, Kamyshev AN. Possibilities of the diagnosis and the evaluation of epilepsy risk based on the data of EEG spectrum analysis in children and adolescents. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 1989; 89 (8): 20–2. Russian. PMID: 2588892.
- Karlov VA, Zenkov LR, Ronkin MA, Gedekova A, Kamyshev AN. Spectrum analysis of the EEG in children and adolescents with epilepsy: general characteristics and pathophysiological interpretation of the data. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 1989; 89 (8): 15–9. Russian. PMID: 2588891.
- Pegg EJ, Taylor JR, Mohanraj R. Spectral power of interictal EEG in the diagnosis and prognosis of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsy Behav*. 2020; 112: 107427. DOI: 10.1016/j.yebeh.2020.107427. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32949965.
- Busonera G, Cogoni M, Puligheddu M, Ferri R, Milioi G, Parrino L, et al. EEG Spectral Coherence Analysis in Nocturnal Epilepsy. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2018; 65 (12): 2713–9. DOI: 10.1109/TBME.2018.2814479. Epub 2018 Mar 9. PMID: 29993423.
- Wang G, Worrell G, Yang L, Wilke C, He B. Interictal spike analysis of high-density EEG in patients with partial epilepsy. *Clin Neurophysiol*. 2011; 122 (6): 1098–105. DOI: 10.1016/j.clinph.2010.10.043. Epub 2010 Dec 3. PMID: 21126908; PMCID: PMC3232053.
- Christou V, Miltiadous A, Tsoulos I, Karvounis E, Tzamourta KD, Tsiouras MG, Anastasopoulos N, Tzallas AT, Giannakeas N. Evaluating the Window Size's Role in Automatic EEG Epilepsy Detection. *Sensors (Basel)*. 2022; 22 (23): 9233. DOI: 10.3390/s22239233. PMID: 36501935; PMCID: PMC9739775.
- Leal AJ, Passro V, Calado E, Vieira JP, Silva Cunha JP. Interictal spike EEG source analysis in hypothalamic hamartoma epilepsy. *Clin Neurophysiol*. 2002; 113 (12): 1961–9. DOI: 10.1016/s1388-2457(02)00253-5. PMID: 12464334.
- Zhu JD, Lin CF, Chang SH, Wang JH, Peng TI, Chien YY. Analysis of spike waves in epilepsy using Hilbert-Huang transform. *J Med Syst*. 2015; 39 (1): 170. DOI: 10.1007/s10916-014-0170-6. Epub 2014 Dec 4. PMID: 25472728.
- Aeby A, Santalucia R, Van Hecke A, Nebbioso A, Vermeiren J, Deconinck N, et al. A qualitative awake EEG score for the diagnosis of continuous spike and waves during sleep (CSWS) syndrome in self-limited focal epilepsy (SFE): A case-control study. *Seizure*. 2021; 84: 34–39. DOI: 10.1016/j.seizure.2020.11.008. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33276197.
- Baumgartner C, Hafner S, Koren JP. Automatische Erkennung von epilepsietypischen Potenzialen und Anfällen im EEG [Automatic detection of epileptiform potentials and seizures in the EEG]. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 2021; 89 (9): 445–8. German. DOI: 10.1055/a-1370-3058. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34525483.
- Hirano R, Emura T, Nakata O, Nakashima T, Asai M, Kagitani-Shimono K, et al. Fully-automated spike detection and dipole analysis of epileptic MEG using deep learning. *IEEE Trans Med Imaging*. 2022; 41 (10): 2879–90. DOI: 10.1109/TMI.2022.3173743. Epub 2022 Sep 30. PMID: 35536808.
- Delorme A, Sejnowski T, Makeig S. Enhanced detection of artifacts in EEG data using higher-order statistics and independent component analysis. *NeuroImage*. 2007; 34 (4). Available from: <https://www.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.11.004>.

32. Tadel F, Baillet S, Mosher JC, Pantazis D, Leahy RM. Brainstorm: a user-friendly application for MEG/EEG analysis. *Comput Intell Neurosci*. 2011; 2011: 879716. Available from: <https://www.doi.org/10.1155/2011/879716>.
33. Verhoeven T, Coito A, Plomp G, Thomschewski A, Pittau F, Trinka E, et al. Automated diagnosis of temporal lobe epilepsy in the absence of interictal spikes. *Neuroimage Clin*. 2017; 17: 10–15. DOI: 10.1016/j.nicl.2017.09.021. PMID: 29527470; PMCID: PMC5842753.
34. Michel CM, Koenig T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. *Neuroimage*. 2018; 180 (Pt B): 577–93. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2017.11.062. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29196270.
35. Sun Q, Zhou J, Guo H, Gou N, Lin R, Huang Y, et al. EEG microstates and its relationship with clinical symptoms in patients with schizophrenia. *Front Psychiatry*. 2021; 12: 761203. DOI: 10.3389/fpsy.2021.761203. PMID: 34777062; PMCID: PMC8581189.
36. de Bock R, Mackintosh AJ, Maier F, Borgwardt S, Riecher-Rössler A, Andreou C. EEG microstates as biomarker for psychosis in ultra-high-risk patients. *Transl Psychiatry*. 2020; 10 (1): 300. DOI: 10.1038/s41398-020-00963-7. PMID: 32839449; PMCID: PMC7445239.
37. Keator LM, Yourganov G, Faria AV, Hillis AE, Tippett DC. Application of the dual stream model to neurodegenerative disease: Evidence from a multivariate classification tool in primary progressive aphasia. *Aphasiology*. 2022; 36 (5): 618–47. DOI: 10.1080/02687038.2021.1897079. Epub 2021 Apr 5. PMID: 35493273; PMCID: PMC9053317.
38. Gulyaev SA, Voronkova YA, Abramova TA, Kovrazhkina EA. Neurophysiological assessment of speech function in individuals having a history of mild COVID-19. *Extreme Medicine*. 2022; (2): 37–43. DOI: 10.47183/mes.2022.016.
39. Abreu R, Jorge J, Leal A, Koenig T, Figueiredo P. EEG microstates predict concurrent fMRI dynamic functional connectivity states. *Brain Topogr*. 2021; 34 (1): 41–55. DOI: 10.1007/s10548-020-00805-1. Epub 2020 Nov 7. PMID: 33161518.
40. Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA. Neurophysiological method for studying changes in the brain's default mode network activity. *Extreme Medicine*. 2023; (2): 64–71. DOI: 10.47183/mes.2023.009.
41. Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA. Features of bioelectric activity of the retrosplenial cortex. *Extreme Medicine*. 2023; (3): 120–7. DOI: 10.47183/mes.2023.028.
42. Michel CM, Koenig T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. *Neuroimage*. 2018; 180 (Pt B): 577–93. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2017.11.062. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29196270.
43. Mukhin KYu, Pylaeva OA. Formation of cognitive and mental disorders in epilepsy: the role of various factors associated with the disease and treatment (a review of the literature and description of clinical cases). *Russky Zhurnal Detskoi Nevrologii*. 2017; 12 (3): 7–33. DOI: 10.17650/2073-8803-2017-12-3-7-33] Russian.
44. Kanner AM, Helmstaedter C, Sadat-Hossieny Z, Meador K. Cognitive disorders in epilepsy I: Clinical experience, real-world evidence and recommendations. *Seizure*. 2020; 83: 216–22. DOI: 10.1016/j.seizure.2020.10.009. Epub 2020 Oct 14. PMID: 33127274.
45. Pritik GP, Gnezditskii VV, Koptelov IuM, Bodykhov MK, Skvortsova VI. Change of bioelectric brain activity registered at the distance from the focus of cerebral tissue injury. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2001; 101 (5): 24–31. Russian. PMID: 11505911.
46. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol*. 1994; 18 (1): 49–65. DOI: 10.1016/0167-8760(84)90014-x. PMID: 7876038.
47. Pascual-Marqui RD, Faber P, Kinoshita T, Kochi K, Milz P, Keiichihiro N, et al. A comparison of bivariate frequency domain measures of electrophysiological connectivity. *bioRxiv* 459503. DOI: <https://doi.org/10.1101/459503>.
48. Grech R, Cassar T, Muscat J, Camilleri KP, Fabri SG, Zervakis M, et al. Review on solving the inverse problem in EEG source analysis. *J Neuroeng Rehabil*. 2008; 5: 25. Available from: <https://doi.org/10.1186/1743-0003-5-25>.
49. Abreu R, Soares JF, Lima AC, Sousa L, Batista S, et al. Optimizing EEG source reconstruction with concurrent fMRI-Derived spatial priors. *Brain Topogr*. 2022; 35 (3): 282–301. Available from: <https://www.doi.org/10.1007/s10548-022-00891-3>. Epub 2022 Feb 10.
50. Thatcher RW, North DM, Biver CJ. LORETA EEG phase reset of the default mode network. *Front Hum Neurosci*. 2014; 8: 529. Available from: <https://www.doi.org/10.3389/fnhum.2014.00529>.
51. Babiloni C, Barry RJ, Başar E, Blinowska KJ, Cichocki A, Drinkenburg WHIM, et al. International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN) — EEG research workgroup: Recommendations on frequency and topographic analysis of resting state EEG rhythms. Part 1: Applications in clinical research studies. *Clin Neurophysiol*. 2020; 131 (1): 285–307. DOI: 10.1016/j.clinph.2019.06.234.
52. Guidelines for carrying out of routine eeg of neurophysiology expert board of Russian league against epilepsy. *Epilepsy and paroxysmal conditions*. 2016; 8 (4): 99–108. Russian.
53. Beniczky S, Aurlien H, Brugger JC, Hirsch LJ, Schomer DL, Trinka E, et al. Standardized computer-based organized reporting of EEG: SCORE – Second version. *Clinical Neurophysiology*. 2017; 128 (11): 2334–46. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.07.418>.
54. van Mierlo P, Hüller Y, Focke NK, Vulliemoz S. Network Perspectives on Epilepsy Using EEG/MEG Source Connectivity. *Front Neurol*. 2019; 10: 721. DOI: 10.3389/fneur.2019.00721. PMID: 31379703; PMCID: PMC6651209.
55. Operto FF, Pastorino GMG, Viggiano A, Dell'Isola GB, Dini G, Verrotti A, et al. Epilepsy and cognitive impairment in childhood and adolescence: a mini-review. *Curr Neuropharmacol*. 2023; 21 (8): 1646–65. DOI: 10.2174/1570159X20666220706102708. PMID: 35794776; PMCID: PMC10514538.
56. Coebergh JAF, Lauw RF, Sommer IEC, Blom JD. Musical hallucinations and their relation with epilepsy. *J Neurol*. 2019; 266 (6): 1501–15. DOI: 10.1007/s00415-019-09289-x. Epub 2019 Apr 10. PMID: 30972497; PMCID: PMC6517562.
57. Štillová K, Kiska T, Koritáková E, Strýček O, Mekyska J, Chrástina J, et al. Mozart effect in epilepsy: why is Mozart better than Haydn? Acoustic qualities-based analysis of stereoelectroencephalography. *Eur J Neurol*. 2021; 28 (5): 1463–9. DOI: 10.1111/ene.14758. Epub 2021 Feb 24. PMID: 33527581.

References

1. Cascino GD. Video-EEG monitoring in adults. *Epilepsia*. 2002; 43 Suppl 3: 80–93. DOI: 10.1046/j.1528-1157.43.s.3.14.x. PMID: 12060010.
2. Villanueva V, Gutierrez A, Garcia M, Beltran A, Palau J, Conde R, et al. Usefulness of Video-EEG monitoring in patients with drug-resistant epilepsy. *Neurologia*. 2011; 26 (1): 6–12. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.nrl.2010.09.029. Epub 2010 Dec 8. PMID: 21163203.
3. Jamal Omid S, Hampson JP, Lhatoo SD. Long-term Home Video EEG for recording clinical events. *J Clin Neurophysiol*. 2021; 38 (2): 92–100. DOI: 10.1097/WNP.0000000000000746. PMID: 33661785.
4. Tatum WO. Editorial: Outcome of ambulatory video-EEG monitoring in a 10,000 patient nationwide cohort. *Seizure*. 2019; 66: 112–13. DOI: 10.1016/j.seizure.2019.02.016. PMID: 30910236.
5. Fung FW, Abend NS. EEG Monitoring After Convulsive Status Epilepticus. *J Clin Neurophysiol*. 2020; 37 (5): 406–10. DOI: 10.1097/WNP.0000000000000664. PMID: 32890062.
6. James L, Stone and John R. Hughes. The Gibbs' Boston years: early developments in epilepsy research and electroencephalography at Harvard. *Clinical Electroencephalography*. 1990; 21 (4): 175–82. DOI: 10.1177/155005949002100404. PMID 2225465. S2CID 143435828.

7. Willems LM, Baier H, Bien CG, Bçsebeck F, Dømpelmann M, Hamer HM, et al. Satisfaction with and reliability of in-hospital video-EEG monitoring systems in epilepsy diagnosis — A German multicenter experience. *Clin Neurophysiol.* 2021; 132 (9): 2317–22. DOI: 10.1016/j.clinph.2021.04.020. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34154936.
8. Gallotto S, Seeck M. EEG biomarker candidates for the identification of epilepsy. *Clin Neurophysiol Pract.* 2022; 8: 32–41. DOI: 10.1016/j.cnp.2022.11.004. PMID: 36632368; PMCID: PMC9826889.
9. Kramer MA, Ostrowski LM, Song DY, Thorn EL, Stoyell SM, Parnes M, et al. Scalp recorded spike ripples predict seizure risk in childhood epilepsy better than spikes. *Brain.* 2019; 142 (5): 1296–309. DOI: 10.1093/brain/awz059. PMID: 30907404; PMCID: PMC6487332.
10. Gotman J. Automatic detection of seizures and spikes. *J Clin Neurophysiol.* 1999; 16 (2): 130–40. DOI: 10.1097/00004691-199903000-00005. PMID: 10359498.
11. Baumgartner C, Hafner S, Koren JP. Automatische Erkennung von epilepsietypischen Potenzialen und Anfällen im EEG [Automatic detection of epileptiform potentials and seizures in the EEG]. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 2021; 89 (9): 445–8. German. DOI: 10.1055/a-1370-3058. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34525483.
12. Saito M. The significance and the contribution of EEG and other biopotential analysis in clinical psychiatry. *Recent adv. EEG and EMG data process. Proc. int. conf., Kanazava, sept. 10—12, 1981, Amsterdam e.a., 1981, p. 279–86.*
13. Fedin AI. Compressed spectral EEG analysis in patients with consciousness disorders complicating stroke. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1981; 81 (9): 1337–42. Russian. PMID: 7324688.
14. Sainio K, Stenberg D, Keskimäki I, Muuronen A, Kaste M. Visual and spectral EEG analysis in the evaluation of the outcome in patients with ischemic brain infarction. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1983; 56 (2): 117–24. DOI: 10.1016/0013-4694(83)90066-4. PMID: 6191943.
15. Gusev EI, Pokrovskii AV, Volynskii YuD, Pyshkina LI, Erokhin OYu, Goloma VV, et al. Compression spectral analysis of the EEG in patients with occlusive lesions of the carotid and vertebral arteries. *Neurosci Behav Physiol.* 1989; 19 (1): 51–6. DOI: 10.1007/BF01148411. PMID: 2664551.
16. Tuter NV, Gnezditskii VV. Compressive-spectral analysis of EEG in patients with panic attacks in the context of different psychiatric diseases. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2008; 108 (3): 58–66. Russian. PMID: 18427541.
17. Frolov AA, Boldyreva GN, Koptelov luM. Poisk istochnikov patologicheskoi al'fa-aktivnosti EEG cheloveka pri porazhenii limbicheskikh struktur [A search for the sources of pathological alpha activity in the human EEG in limbic structure lesions]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova.* 1998; 48 (4): 687–96. Russian. PMID: 9778812.
18. Pirlík GP, Gnezditskii VV, Koptelov luM, Bodykhov MK, Skvortsova VI. Change of bioelectric brain activity registered at the distance from the focus of cerebral tissue injury. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2001; 101 (5): 24–31. Russian. PMID: 11505911.
19. Grindel OM, Bragina NN, Voronina IA, Masherov EL, Koptelo luM, Voronov VG, et al. The electroencephalographic correlates of a disorder in higher cortical functions in local lesions of the hypothalamic area. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova.* 1995; 45 (6): 1101–11. Russian. PMID: 8585300.
20. Zenkov LR, Karlov VA, Ronkin MA, GedekovaA, Kamyshev AN. Possibilities of the diagnosis and the evaluation of epilepsy risk based on the data of EEG spectrum analysis in children and adolescents. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1989; 89 (8): 20–2. Russian. PMID: 2588892.
21. Karlov VA, Zenkov LR, Ronkin MA, Gedekova A, Kamyshev AN. Spectrum analysis of the EEG in children and adolescents with epilepsy: general characteristics and pathophysiological interpretation of the data. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 1989; 89 (8): 15–9. Russian. PMID: 2588891.
22. Pegg EJ, Taylor JR, Mohanraj R. Spectral power of interictal EEG in the diagnosis and prognosis of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsy Behav.* 2020; 112: 107427. DOI: 10.1016/j.yebeh.2020.107427. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32949965.
23. Busonera G, Cogoni M, Puligheddu M, Ferri R, Milioli G, Parrino L, et al. EEG Spectral Coherence Analysis in Nocturnal Epilepsy. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2018; 65 (12): 2713–9. DOI: 10.1109/TBME.2018.2814479. Epub 2018 Mar 9. PMID: 29993423.
24. Wang G, Worrell G, Yang L, Wilke C, He B. Interictal spike analysis of high-density EEG in patients with partial epilepsy. *Clin Neurophysiol.* 2011; 122 (6): 1098–105. DOI: 10.1016/j.clinph.2010.10.043. Epub 2010 Dec 3. PMID: 21126908; PMCID: PMC3232053.
25. Christou V, Miltiadous A, Tsoulos I, Karvounis E, Tzimourta KD, Tsiouras MG, Anastasopoulos N, Tzallas AT, Giannakeas N. Evaluating the Window Size's Role in Automatic EEG Epilepsy Detection. *Sensors (Basel).* 2022; 22 (23): 9233. DOI: 10.3390/s22239233. PMID: 36501935; PMCID: PMC9739775.
26. Leal AJ, Passro V, Calado E, Vieira JP, Silva Cunha JP. Interictal spike EEG source analysis in hypothalamic hamartoma epilepsy. *Clin Neurophysiol.* 2002; 113 (12): 1961–9. DOI: 10.1016/s1388-2457(02)00253-5. PMID: 12464334.
27. Zhu JD, Lin CF, Chang SH, Wang JH, Peng TI, Chien YY. Analysis of spike waves in epilepsy using Hilbert-Huang transform. *J Med Syst.* 2015; 39 (1): 170. DOI: 10.1007/s10916-014-0170-6. Epub 2014 Dec 4. PMID: 25472728.
28. Aeby A, Santalucia R, Van Hecke A, Nebbioso A, Vermeiren J, Deconinck N, et al. A qualitative awake EEG score for the diagnosis of continuous spike and waves during sleep (CSWS) syndrome in self-limited focal epilepsy (SFE): A case-control study. *Seizure.* 2021; 84: 34–39. DOI: 10.1016/j.seizure.2020.11.008. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33276197.
29. Baumgartner C, Hafner S, Koren JP. Automatische Erkennung von epilepsietypischen Potenzialen und Anfällen im EEG [Automatic detection of epileptiform potentials and seizures in the EEG]. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 2021; 89 (9): 445–8. German. DOI: 10.1055/a-1370-3058. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34525483.
30. Hirano R, Emura T, Nakata O, Nakashima T, Asai M, Kagitani-Shimono K, et al. Fully-automated spike detection and dipole analysis of epileptic MEG using deep learning. *IEEE Trans Med Imaging.* 2022; 41 (10): 2879–90. DOI: 10.1109/TMI.2022.3173743. Epub 2022 Sep 30. PMID: 35536808.
31. Delorme A, Sejnowski T, Makeig S. Enhanced detection of artifacts in EEG data using higher-order statistics and independent component analysis. *NeuroImage.* 2007; 34 (4). Available from: <https://www.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.11.004>.
32. Tadel F, Baillet S, Mosher JC, Pantazis D, Leahy RM. Brainstorm: a user-friendly application for MEG/EEG analysis. *Comput Intell Neurosci.* 2011; 2011: 879716. Available from: <https://www.doi.org/10.1155/2011/879716>.
33. Verhoeven T, Coito A, Plomp G, Thomschewski A, Pittau F, Trinka E, et al. Automated diagnosis of temporal lobe epilepsy in the absence of interictal spikes. *Neuroimage Clin.* 2017; 17: 10–15. DOI: 10.1016/j.nicl.2017.09.021. PMID: 29527470; PMCID: PMC5842753.
34. Michel CM, Koenig T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. *Neuroimage.* 2018; 180 (Pt B): 577–93. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2017.11.062. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29196270.
35. Sun Q, Zhou J, Guo H, Gou N, Lin R, Huang Y, et al. EEG microstates and its relationship with clinical symptoms in patients with schizophrenia. *Front Psychiatry.* 2021; 12: 761203. DOI: 10.3389/fpsy.2021.761203. PMID: 34777062; PMCID: PMC8581189.
36. de Bock R, Mackintosh AJ, Maier F, Borgwardt S, Riecher-Rössler A, Andreou C. EEG microstates as biomarker for psychosis in ultra-high-risk patients. *Transl Psychiatry.* 2020; 10 (1): 300. DOI: 10.1038/s41398-020-00963-7. PMID: 32839449; PMCID: PMC7445239.
37. Keator LM, Yourganov G, Faria AV, Hillis AE, Tippett DC. Application of the dual stream model to neurodegenerative disease: Evidence from a multivariate classification tool in primary progressive aphasia. *Aphasiology.* 2022; 36 (5): 618–47. DOI: 10.1080/02687038.2021.1897079. Epub 2021 Apr 5. PMID: 35493273; PMCID: PMC9053317.

38. Gulyaev SA, Voronkova YA, Abramova TA, Kovrazhkina EA. Neurophysiological assessment of speech function in individuals having a history of mild COVID-19. *Extreme Medicine*. 2022; (2): 37–43. DOI: 10.47183/mes.2022.016.
39. Abreu R, Jorge J, Leal A, Koenig T, Figueiredo P. EEG microstates predict concurrent fMRI dynamic functional connectivity states. *Brain Topogr*. 2021; 34 (1): 41–55. DOI: 10.1007/s10548-020-00805-1. Epub 2020 Nov 7. PMID: 33161518.
40. Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA. Neurophysiological method for studying changes in the brain's default mode network activity. *Extreme Medicine*. 2023; (2): 64–71. DOI: 10.47183/mes.2023.009.
41. Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA. Features of bioelectric activity of the retrosplenial cortex. *Extreme Medicine*. 2023; (3): 120–7. DOI: 10.47183/mes.2023.028.
42. Michel CM, Koenig T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. *Neuroimage*. 2018; 180 (Pt B): 577–93. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2017.11.062. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29196270.
43. Mukhin KYu, Pylaeva OA. Formation of cognitive and mental disorders in epilepsy: the role of various factors associated with the disease and treatment (a review of the literature and description of clinical cases). *Russky Zhurnal Detskoi Nevrologii*. 2017; 12 (3): 7–33. DOI: 10.17650/2073-8803-2017-12-3-7-33] Russian.
44. Kanner AM, Helmstaedter C, Sadat-Hossieny Z, Meador K. Cognitive disorders in epilepsy I: Clinical experience, real-world evidence and recommendations. *Seizure*. 2020; 83: 216–22. DOI: 10.1016/j.seizure.2020.10.009. Epub 2020 Oct 14. PMID: 33127274.
45. Pirlik GP, Gnezditskiĭ VV, Koptelov luM, Bodykhov MK, Skvortsova VI. Change of bioelectric brain activity registered at the distance from the focus of cerebral tissue injury. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2001; 101 (5): 24–31. Russian. PMID: 11505911.
46. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol*. 1994; 18 (1): 49–65. DOI: 10.1016/0167-8760(84)90014-x. PMID: 7876038.
47. Pascual-Marqui RD, Faber P, Kinoshita T, Kochi K, Milz P, Keiichiro N, et al. A comparison of bivariate frequency domain measures of electrophysiological connectivity. *bioRxiv* 459503. DOI: <https://doi.org/10.1101/459503>.
48. Grech R, Cassar T, Muscat J, Camilleri KP, Fabri SG, Zervakis M, et al. Review on solving the inverse problem in EEG source analysis. *J Neuroeng Rehabil*. 2008; 5: 25. Available from: <https://doi.org/10.1186/1743-0003-5-25>.
49. Abreu R, Soares JF, Lima AC, Sousa L, Batista S, et al. Optimizing EEG source reconstruction with concurrent fMRI-Derived spatial priors. *Brain Topogr*. 2022; 35 (3): 282–301. Available from: <https://www.doi.org/10.1007/s10548-022-00891-3>. Epub 2022 Feb 10.
50. Thatcher RW, North DM, Biver CJ. LORETA EEG phase reset of the default mode network. *Front Hum Neurosci*. 2014; 8: 529. Available from: <https://www.doi.org/10.3389/fnhum.2014.00529>.
51. Babiloni C, Barry RJ, Başar E, Blinowska KJ, Cichocki A, Drinkenburg WHIM, et al. International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN) — EEG research workgroup: Recommendations on frequency and topographic analysis of resting state EEG rhythms. Part 1: Applications in clinical research studies. *Clin Neurophysiol*. 2020; 131 (1): 285–307. DOI: 10.1016/j.clinph.2019.06.234.
52. Guidelines for carrying out of routine eeg of neurophysiology expert board of Russian league against epilepsy. *Epilepsy and paroxysmal conditions*. 2016; 8 (4): 99–108. Russian.
53. Beniczky S, Aurlien H, Brugger JC, Hirsch LJ, Schomer DL, Trinka E, et al. Standardized computer-based organized reporting of EEG: SCORE – Second version. *Clinical Neurophysiology*. 2017; 128 (11): 2334–46. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.07.418>.
54. van Mierlo P, Hüller Y, Focke NK, Vulliemoz S. Network Perspectives on Epilepsy Using EEG/MEG Source Connectivity. *Front Neurol*. 2019; 10: 721. DOI: 10.3389/fneur.2019.00721. PMID: 31379703; PMCID: PMC6651209.
55. Operto FF, Pastorino GMG, Viggiano A, Dell'Isola GB, Dini G, Verrotti A, et al. Epilepsy and cognitive impairment in childhood and adolescence: a mini-review. *Curr Neuropharmacol*. 2023; 21 (8): 1646–65. DOI: 10.2174/1570159X20666220706102708. PMID: 35794776; PMCID: PMC10514538.
56. Coebergh JAF, Lauw RF, Sommer IEC, Blom JD. Musical hallucinations and their relation with epilepsy. *J Neurol*. 2019; 266 (6): 1501–15. DOI: 10.1007/s00415-019-09289-x. Epub 2019 Apr 10. PMID: 30972497; PMCID: PMC6517562.
57. Štillová K, Kiska T, Koritáková E, Strýček O, Mekyska J, Chrástina J, et al. Mozart effect in epilepsy: why is Mozart better than Haydn? Acoustic qualities-based analysis of stereoelectroencephalography. *Eur J Neurol*. 2021; 28 (5): 1463–9. DOI: 10.1111/ene.14758. Epub 2021 Feb 24. PMID: 33527581.