

# 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.;

Валентина Гейдебрехт, к. б. 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.2023-03

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 30.09.2023

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;

Valentina Geidebrekht, 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.2023-03

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](http://www.creativecommons.org)



Approved for print 30.09.2023

Circulation: 500 copies. Printed by Print.Formula  
[www.print-formula.ru](http://www.print-formula.ru)

**Содержание**  
Contents

<b>ОБЗОР</b>	<b>5</b>
Влияние средних и малых доз ионизирующего излучения на высшую нервную деятельность человека и животных Н. И. Атаманюк The effect of moderate and low doses of ionizing radiation on higher nervous activity of humans and animals Atamanyuk NI	
<b>ОБЗОР</b>	<b>14</b>
Современные представления об эпидемиологии и патогенезе мультисистемного воспалительного синдрома у детей, ассоциированного с SARS-COV-2 Ю. Е. Константинова, А. А. Вильниц, М. К. Бехтерева, Л. А. Алексеева, О. С. Глотов, Е. С. Егорова Current understanding of epidemiology and pathogenesis of multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-COV-2 in children Konstantinova YuE, Vilnitz AA, Bekhtereva MK, Alekseeva LA, Glotov OS, Egorova ES	
<b>ОБЗОР</b>	<b>23</b>
Навигационная транскраниальная магнитная стимуляция: краткий обзор технических решений И. Ю. Земляков, А. Ш. Буреев, Е. В. Голобокова, Д. С. Жданов, Я. В. Костелей Navigated transcranial magnetic stimulation: brief review of engineering solutions Zemlyakov IYu, Bureev ASH, Golobokova EV, Zhdanov DS, Kosteley YaV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>32</b>
Полиморфизм генов контроля интерлейкинов и риск развития опухолевых заболеваний у облученных лиц Е. А. Блинова, М. А. Янишевская, А. В. Аклеев Polymorphism of interleukin control genes and risk of neoplasms in exposed individuals Blinova EA, Yanishevskaya MA, Akleyev AV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>39</b>
Влияние хронического облучения на концентрацию белка FOXP3 в лизатах митоген-стимулированных мононуклеаров крови Е. А. Кодинцева, А. А. Аклеев The effect of chronic exposure on the FOXP3 concentration in lysates of the mitogen-stimulated mononuclear cells Kodintseva EA, Akleyev AA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>45</b>
Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга годовалого ребенка от инкорпорированных бета-излучателей П. А. Шарагин, Е. А. Шишкина, Е. И. Толстых Computational red bone marrow dosimetry phantom of a one-year-old child enabling assessment of exposure due to incorporated beta emitters Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>56</b>
Разработка и оценка эффективности ранозаживляющих соединений на основе катионных пептидов и фуллерена А. А. Галкина, Д. К. Болякина, А. В. Шатилова, А. А. Шатилов, М. О. Бабикина, А. К. Голомидова, С. М. Андреев, Н. Н. Шершакова, М. Р. Хаитов Developing and evaluating the effectiveness of wound-healing compounds based on cationic peptides and fullerene Galkina AA, Bolyakina DK, Shatilova AV, Shatilov AA, Babikhina MO, Golomidova AK, Andreev SM, Shershakova NN, Khaitov MR	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>65</b>
Особенности использования лимфоцитарного теста для биологической дозиметрии в ранние сроки после облучения М. К. Седанкин, Е. А. Гудков, В. Ю. Соловьев, Л. Ю. Мершин Features of using a lymphocyte test for biological dosimetry in the early period after exposure Sedankin MK, Gudkov EA, Soloviev VYu, Mershin LYu	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>71</b>
Особенности анализа ЭЭГ-микросостояний при постинсультной афазии С. А. Гуляев, Л. М. Ханухова, А. А. Гармаш Features of EEG microstate analysis in post-stroke aphasia Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA	

<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>80</b>
<hr/>	
Оценка мутагенного потенциала производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой Е. А. Золотоверхая, Л. Г. Кубарская, А. Я. Беспалов, А. С. Мелехова Estimation of mutagenic potential of the valproic acid derivative containing a tertiary amino group Zolotoverkhaja EA, Kubarskaya LG, Bepalov AYa, Melekhova AS	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>86</b>
<hr/>	
Выявление стафилококкового энтеротоксина типа В в молочной продукции иммунохроматографией с визуальной и видеоцифровой детекцией С. П. Ярклов, С. И. Третьяков, И. В. Шиленко, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин Identification of staphylococcal enterotoxin B in dairy products by immunochromatography with visual and digital video detection Yarkov SP, Tretyakov SI, Shilenko IV, Ishkov YuN, Styazhkin KK	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>92</b>
<hr/>	
Поражение сердца у юных элитных спортсменов, перенесших COVID-19 Л. М. Макаров, В. Н. Комолятова, И. И. Киселева, Д. А. Беспорточный, А. Г. Аюкоян, А. В. Дмитриева, Н. В. Аксенова Heart disease in young elite athletes having a history of COVID-19 Makarov LM, Komolyatova VN, Kiselyova II, Bepoportchny DA, Akopyan AG, Dmitrieva AV, Aksyonova NV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>99</b>
<hr/>	
Взаимосвязь показателей «предстартового» состояния спортсмена с физиологической реакцией на стандартизированную нагрузку А. Е. Чиков, А. Л. Куцало, А. Д. Киселев, В. В. Владимиров, М. В. Крылова, Д. С. Медведев, Д. И. Каплун, И. И. Шпаковская Relationship between the athlete's pre-start state parameters and physiological response to standardized load Chikov AE, Kutsalo AL, Kiselev AD, Vladimirov VV, Krylova MV, Medvedev DS, Kaplun DI, Shpakovskaya II	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>104</b>
<hr/>	
Транскрипционные факторы в скелетной мышце человека, ассоциированные с однократным и регулярными силовыми упражнениями Е. М. Леднев, П. А. Махновский, Т. Ф. Вепхвадзе, Р. И. Султанов, А. В. Желанкин, А. В. Каныгина, Д. В. Попов, Э. В. Генерозов Transcription factors in human skeletal muscle associated with single and regular strength exercises Lednev EM, Makhnovskii PA, Vepkhvadze TF, Sultanov RI, Zhelankin AV, Kanygina AV, Popov DV, Generezov EV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>113</b>
<hr/>	
При коморбидной кардиореспираторной патологии инициальное назначение $\beta_2$ -агонистов снижает риск бронхоспазма, вызванного $\beta_1$ -адреноблокаторами Е. В. Смолякова, Е. А. Синицын, К. А. Зыков Initial administration of $\beta_2$ -agonists reduces the risk of bronchospasm caused by $\beta_1$ -blockers in comorbid cardiorespiratory pathology Smolyakova EV <sup>1,2</sup> , Sinitsyn EA <sup>2</sup> , Zykov KA <sup>1,2</sup>	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>120</b>
<hr/>	
Влияние гипотермии легкой степени на сосудистый тонус микроциркуляторного русла головного мозга Н. Н. Мельникова Effects of mild hypothermia on the cerebral microvascular tone Melnikova NN	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>129</b>
<hr/>	
Особенности биоэлектрической активности ретроспленальной коры головного мозга С. А. Гуляев, Л. М. Ханухова, А. А. Гармаш Features of bioelectric activity of the retrosplenial cortex Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>137</b>
<hr/>	
Катамнез детей с врожденной цитомегаловирусной инфекцией в зависимости от этиотропной терапии на первом году жизни В. В. Васильев, Н. В. Рогозина, И. В. Маркин, Р. А. Иванова, А. А. Гринева Catamnesis of children with congenital cytomegalovirus infection depending on etiotropic therapy in the first year of life Vasilyev VV, Rogozin NV, Markin IV, Ivanova RA, Grineva AA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>146</b>
<hr/>	
Пилотный опрос врачей о системе присвоения квалификационных категорий В. М. Мишарин, А. В. Кочубей Pilot survey of physicians on the system of assigning professional grades Misharin VM, Kochubey AV	

## ВЛИЯНИЕ СРЕДНИХ И МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ВЫСШУЮ НЕРВНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Н. И. Атаманюк ✉

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

Данные о влиянии высоких доз ионизирующего излучения на центральную нервную систему человека указывают на развитие когнитивной дисфункции и повышение риска развития злокачественных новообразований. При этом нарастает обеспокоенность по поводу возможного воздействия низких и умеренных доз ионизирующего излучения, действия хронического облучения на когнитивные функции и отдаленные эффекты в виде развития нейродегенеративных заболеваний. Имеются как эпидемиологические, так и экспериментальные свидетельства когнитивных эффектов низких и средних доз ионизирующего излучения. Механизмы, лежащие в их основе, касаются нарушения нормального нейрогенеза в области гиппокампа, развития длительно поддерживающегося нейровоспаления, нарушения синаптической пластичности, энергетического обмена и оксидативного статуса. Наибольшую чувствительность к радиационным эффектам со стороны центральной нервной системы организм проявляет в период активного формирования мозга. Последствия облучения в наиболее чувствительном периоде могут сохраняться в течение нескольких месяцев и лет или же проявиться только со временем, в пожилом возрасте. В целях повышения радиационной безопасности, для разработки средств профилактики и лечения радиационно-индуцированных нарушений со стороны ЦНС дальнейшие исследования должны быть направлены на установление причинно-следственных связей между хроническим радиационным воздействием и облучением в малых дозах и неблагоприятными эффектами со стороны ЦНС в течение длительного периода времени после облучения.

**Ключевые слова:** высшая нервная деятельность, центральная нервная система, когнитивные функции, нейрогенез, нейровоспаление, ионизирующее излучение, малые дозы, хроническое радиационное воздействие

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Игоревна Атаманюк  
ул. Воровского, д. 68 А, г. Челябинск, 454141, Россия; vita\_pulhra@mail.ru

**Статья получена:** 24.06.2023 **Статья принята к печати:** 07.08.2023 **Опубликована онлайн:** 25.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.029

## THE EFFECT OF MODERATE AND LOW DOSES OF IONIZING RADIATION ON HIGHER NERVOUS ACTIVITY OF HUMANS AND ANIMALS

Atamanyuk NI ✉

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

According to the available data, the effect of high doses of ionizing radiation on the human central nervous system (CNS) takes form of cognitive dysfunction and increased risk of development of malignant neoplasms. At the same time, there is a growing concern about the possible effects of low, moderate doses of ionizing radiation and chronic irradiation, on cognitive functions, as well as their potential long-term consequences manifesting as neurodegenerative diseases. There is both epidemiological and experimental evidence confirming that low and moderate doses of ionizing radiation affect cognitive abilities. The underlying mechanisms include disruption of normal neurogenesis in the hippocampus, development of long-term sustained neuroinflammation, disorders of synaptic plasticity, energy metabolism, and oxidative status. On the part of CNS, the body is most sensitive to radiation during the period of active formation of the brain. Irradiated at that time, people may suffer consequences thereof for several months and years, or have them manifesting only much later, in old age. Improvement of radiation safety and development of means and ways of prevention and treatment of radiation-induced CNS disorders require further research efforts aimed at establishing causal relationships between chronic exposure to radiation and low-dose irradiation and their adverse effects on the part of CNS in the long term post-exposure.

**Keywords:** higher nervous activity, central nervous system, cognitive functions, neurogenesis, neuroinflammation, ionizing radiation, low doses, chronic radiation exposure

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia I. Atamanyuk  
Vorovskogo, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; vita\_pulhra@mail.ru

**Received:** 24.06.2023 **Accepted:** 07.08.2023 **Published online:** 25.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.029

Проблема радиационной защиты человека в настоящее время определяется все более широким внедрением ядерных технологий, планированием программ межпланетных перелетов, резко возросшим риском применения ядерного оружия и «грязных» бомб, необходимостью защиты здоровых органов и тканей пациентов при проведении лучевой терапии и применении технологий ядерной медицины.

Головной мозг традиционно считали довольно радиоустойчивым органом. Однако к настоящему времени накоплен массив данных, демонстрирующих молекулярно-генетические, морфофункциональные, физиологические изменения в головном мозге, а также изменения высшей нервной деятельности (главным образом когнитивная дисфункция, развитие тревожных и депрессивных расстройств) после облучения в умеренных и в ряде

случаев в малых дозах у экспериментальных животных и людей [1–3]. Согласно отчету НКДАР ООН от 2012 г., малыми считают дозы менее 0,1 Гр, а умеренными, или средними — дозы от 0,1 до 1 Гр для редкоионизирующих излучений, дозы более 1 Гр являются большими [4].

Анализ реакции центральной нервной системы на радиационное воздействие проведен в отчетах МКРЗ и НКДАР ООН [5, 6], рассматривающих как риски возникновения злокачественных новообразований головного мозга, так и когнитивные дисфункции у людей, облученных в ходе медицинских процедур, радиационных аварий или работы с источниками ионизирующего излучения. Наиболее полно информация о влиянии ионизирующего излучения на центральную нервную систему обобщена в отчете Национального совета по радиационной защите и измерениям (CNSA) 2019 г. [7],

цель которого состоит в рассмотрении всех возможных аспектов влияния космического излучения на головной мозг и высшую нервную деятельность астронавтов.

Понимание когнитивных и поведенческих последствий воздействия на мозг низких доз ионизирующего излучения имеет большое значение для обеспечения радиационной безопасности человека при медицинском облучении, профессиональном облучении, в том числе при выполнении космических миссий вне магнитного поля Земли, при радиоактивном загрязнении окружающей среды. Эпидемиологические и экспериментальные данные о действии малых доз, возможном пороговом значении дозы хронического воздействия на функции центральной нервной системы остаются довольно ограниченными и противоречивыми. Это позволяет сформулировать научную проблему о наличии причинно-следственных связей между радиационным воздействием и развитием ранних и отдаленных неблагоприятных последствий со стороны ЦНС (нарушения психических функций, нейродегенеративные заболевания, новообразования головного мозга). Настоящий обзор представляет собой обобщение имеющихся современных научных данных по этой проблеме.

### Эпидемиологические данные

В целом, воздействие на мозг больших доз ионизирующего излучения является установленным фактором риска развития новообразований и когнитивных нарушений. Когнитивная дисфункция, как правило, связана с дефицитом гиппокамп-зависимых процессов: вербально-семантической и пространственной памяти, обучения, обработки пространственной информации, развивается в отдаленные сроки после облучения [8]. В основе механизмов этих длительно сохраняющихся нарушений лежат нарушение нейрогенеза и олигодендрогенеза в субэпендимальной и гиппокампальной областях; нарушение гематоэнцефалического барьера; абляция капилляров и повреждение микрососудистого эндотелия [9], устойчивая активация иммунокомпетентных клеток микроглии и повышенный уровень провоспалительных цитокинов [10].

Согласно публикации 118 Международной комиссии по радиологической защите [5], порогом для развития когнитивных эффектов считают 1–2 Гр острого облучения для взрослых и дозы более 0,1 Гр для детей, облученных в возрасте до 18 месяцев. Влияние малых доз ионизирующего излучения в раннем возрасте на последующее снижение когнитивных способностей впервые было показано на шведской когорте детей, получивших облучение головного мозга в дозах 100–250 мГр в связи с лечением кожной гемангиомы [11], было выявлено зависимое от дозы нарушение способности к обучению и логическому мышлению во взрослом возрасте. Исследования людей, подвергшихся облучению в период антенатального развития в результате радиоактивного загрязнения реки Теча, выявили достоверно большую, чем в контрольной группе, долю лиц с непсихотическими психическими расстройствами, с преобладанием органических психических нарушений (когнитивные и астенические). При этом дозовая нагрузка в группе облученных лиц составляла в среднем 0,09 Гр на красный костный мозг плода [12]. Однако в систематическом обзоре [13], включающим эпидемиологические исследования, опубликованные до 2018 г., сделан вывод о недостаточности данных для

обоснованного заключения о возможном влиянии малых и средних доз ионизирующего излучения, полученных во время беременности, в детском или подростковом возрасте, на какие-либо особенности развития нервной системы, хотя отмечаются ограниченные доказательства связи между малыми и умеренными дозами и снижением общих когнитивных и языковых способностей.

Неоднозначным вопросом является также влияние ионизирующего излучения на риск развития деменций и нейродегенеративных заболеваний. На когорте работников предприятия ядерного производственного цикла ПО «Маяк» (г. Озерск, Челябинская область) была обнаружена линейная связь между заболеваемостью болезнью Паркинсона и кумулятивной дозой гамма-облучения после корректировки на пол и достигнутый возраст [14]. Анализ когорты работников атомной отрасли во Франции выявил статистически значимую связь риска развития деменций и болезни Альцгеймера с дозой ионизирующего излучения, однако авторы указывают, что эти результаты следует интерпретировать с осторожностью [15]. В японской когорте выживших после бомбардировки Хиросимы и Нагасаки у лиц, в детстве получивших дозы облучения от 0 до 4 Гр, снижение нейрокогнитивных функций коррелировало с возрастом, однако явной связи с дозой облучения показано не было [16], повышения частоты деменций также выявлено не было [17]. В метаанализе, выполненном в 2022 г., показано дозозависимое увеличение риска заболеваемости и смертности от цереброваскулярных заболеваний и болезни Паркинсона при облучении взрослых в диапазоне от низких до умеренных доз [18].

У ликвидаторов Чернобыльской аварии, по данным Логановского и соавторов, отмечается высокая распространенность цереброваскулярных заболеваний, органических психических и депрессивных расстройств, когнитивных нарушений и деменций, которые увеличиваются с увеличением дозы облучения, некоторые эффекты отмечались при дозах от 50 мЗв [19]. При анализе данных о радиационных эффектах у населения, облученного в результате радиационных инцидентов, следует учитывать, что стресс, связанный с самим фактом радиационного воздействия, независимо от того, имело ли место превышение фоновых доз на самом деле, может быть причиной повышения частоты психических расстройств [20]. Также при анализе эпидемиологических данных имеется ряд сложностей при установлении причинно-следственных связей между радиационным воздействием и психоневрологическими эффектами: при анализе данных, полученных в когортах облученного населения, важно иметь сопоставимый по уровню жизни, качеству и частоте медицинского обслуживания контроль; в когортах профессионалов необходимо учитывать условия отбора по состоянию здоровья для допуска к работе с источниками ионизирующего излучения; при диагностике заболеваний и интерпретации симптомов необходимо руководствоваться едиными стандартизованными подходами.

Что касается возможности малых доз ионизирующего излучения увеличивать риск развития новообразований, метаанализ, выполненный по результатам исследований, проведенных до 2022 г., не выявил связи между воздействием низких и умеренных доз ионизирующего излучения и риском опухолей ЦНС у взрослых [21]. Однако опубликованная в 2022 г. работа по обобщению результатов оценки риска развития рака и доброкачественных новообразований ЦНС после рентгеновского или гамма-

облучения от тех или иных источников внутриутробно или в детском возрасте в диапазоне малых и средних доз показала наличие избыточного риска развития новообразований при облучении в дозах менее 0,1 Гр, а для определенных групп, подвергшихся естественному фоновому излучению от радиоактивных осадков и медицинскому рентгеновскому излучению внутриутробно, при облучении в дозах около 0,02 Гр [22].

### Экспериментальные данные

Гораздо больше данных имеется для экспериментальных животных, с использованием которых предпринимаются попытки установить причинно-следственные связи и молекулярно-клеточные механизмы радиационных эффектов со стороны ЦНС. Мыши рассматриваются как репрезентативная модель для изучения радиационно-индуцированных эффектов со стороны головного мозга и нарушения его развития при облучении в клинически значимых дозах, хотя и нельзя утверждать, что животные полностью воспроизводят когнитивные изменения, выявленные у людей [23].

У животных однократное воздействие ионизирующего рентгеновского или гамма-излучения, моделирующего космическую радиацию протонного излучения и тяжелых ионов вызывает когнитивные дисфункции, связанные с нарушением обучаемости и пространственной памяти, исследовательской активности, повышение тревожности [2, 3, 24, 25]. Для оценки этих параметров разработан широкий набор поведенческих тестов.

Центральную роль в рассмотрении механизмов радиационно-индуцированных нарушений психических функций отводят гибели нейрональных стволовых клеток и нарушению нейрогенеза [26–29], а также процессам провоспалительной активации микроглии [26, 30]. Высвобождаются провоспалительные цитокины IL1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и IL6, повышается экспрессия генов макрофагального хемоаттрактанта CCL2 и количества CD68 $^{+}$  макрофагов [31]. Сниженный из-за мутации гена рецептора CCR2 воспалительный ответ способствует сохранению фонового количества нейрональных BrdU $^{+}$  клеток-предшественников [31].

В норме во взрослом организме нейрогенез происходит в трех зонах головного мозга: в зубчатой извилине гиппокампа, в субвентрикулярной области и в коре мозжечка. Реакция нейрональных клеток-предшественников на излучение и измененный нейрогенез в области гиппокампа играет способствующую, если не причинную роль в радиационно-индуцированных нарушениях памяти и когнитивных нарушениях, сохраняющихся в течение некоторого времени после облучения. Различные животные модели использовались для изучения радиационно-индуцированных изменений нейрогенеза в зависимости от дозы, режима фракционирования, времени после облучения и возраста на момент облучения [27]. При прицельном облучении зубчатой извилины новорожденных мышей в дозе 1 Гр, в отличие от общего облучения всего тела в той же дозе, отмечается изменение дифференцировки клеток через 3 месяца после облучения (снижается доля BrdU $^{+}$ /NeuN $^{+}$  клеток, увеличивается доля BrdU $^{+}$ /GFAP $^{+}$  клеток) и некоторое ухудшение пространственной памяти у животных [28].

При облучении во время эмбрионального развития или в период новорожденности отмечаются наиболее

выраженные эффекты. Развитие мозга включает критические для нормального созревания периоды. У многих видов млекопитающих этот период длится во время перинатального развития, но у мышей и крыс охватывает также первые 3–4 недели жизни. У мышей особенно уязвимый период для эффектов, вызванных облучением, составляет 3–10 дней после рождения [29, 32].

Однократное облучение мышей и крыс во время эмбрионального развития или в период новорожденности в диапазоне умеренных доз приводило к появлению у животных во взрослом состоянии стойких изменений спонтанного поведения в новой домашней обстановке, что свидетельствовало о нарушении способности мышей интегрировать сенсорную информацию в моторную продукцию [26, 32], нарушении обучения и пространственной памяти, усилении тревоги [33, 34], изменении социального поведения [34], способности к узнаванию и привыканию к новой обстановке [26, 35]; нарушались двигательная активность и координация движений [34]. Возраст, в котором были описаны такие поведенческие изменения, в разных работах составлял от 4 до 15 месяцев.

Изменения когнитивных функций в отдаленный период после облучения сопровождаются сохранением дефектов нейрогенеза гиппокампа [26]. Изменяется соотношение пулов созревающих нейронов: в ранние сроки растёт доля радиальных глиалоподобных GFAP $^{+}$  клеток и снижается доля пролиферирующих PCNA $^{+}$ -клеток-предшественников, затем следует компенсаторное увеличение PCNA $^{+}$ -клеток и клеток-предшественников 2-го типа Sox2 $^{+}$ , приводящее далее к уменьшению плотности зрелых гранулярных нейронов NeuN $^{+}$  и пролиферирующих PCNA $^{+}$  клеток до 6 месяцев после облучения [29]. Также отмечается повышенный уровень активности микроглии: повышается число Iba1 $^{+}$ -клеток и GFAP $^{+}$ -астроцитов, изменяется их морфология; увеличивается содержание синаптических белков PSD-95 и MAP-2 из-за нарушений сигнального пути Rac1-кофилина в гиппокампе и коре головного мозга [26, 29], растёт уровень тау-белка в коре головного мозга [35], уменьшается количество и сложность миелинизированных аксонов [36]; изменяется плотность микрососудов, нарушается функция митохондрий из-за снижения активности большинства белков, необходимых для выработки АТФ [29]. По некоторым данным изменения нейрогенеза и нейровоспаление могут исчезать раньше, чем изменения в поведении животных [33]. Описана и обратная ситуация, когда увеличение количества клеток активированной микроглии в гиппокампе и уменьшение количества астроцитов сохраняются до 24 месяцев, когда уже не регистрируются поведенческие отклонения [30].

Для большинства описанных эффектов пороговой дозой острого облучения в раннем возрасте считают 0,3–0,5 Гр [32, 34]. Однако ряд изменений отмечается и при воздействии более низких доз. При остром облучении в дозе 0,1 Гр отмечалось повышение экспрессии провоспалительных цитокинов в области гиппокампа [31]. При остром внутриутробном облучении мыши в возрасте 4–15 недель показали более активное социальное поведение в тестах на оценку социальной памяти и общительности, дозозависимые изменения стратегий поведения в водном лабиринте Морриса, указывающие на нарушения пространственной памяти при облучении в дозах от 0,1 Гр [34]. Облучение в дозе 0,1 Гр на 10 сутки после рождения у мышей вызывало небольшое, но сохраняющееся в течение 6 месяцев истощение пула пролиферирующих

клеток в зубчатой извилине гиппокампа: увеличивалось количество клеток 2-го типа Sox2<sup>+</sup> через неделю после облучения и уменьшалось количество пролиферирующих PCNA<sup>+</sup>-клеток через 6 месяцев, тогда как облучение взрослых мышей в той же дозе приводило к повышению плотности зрелых NeuN<sup>+</sup>-нейронов через 6 месяцев. При этом отмечались изменения гомеостаза митохондрий в сторону повышения их активности, более выраженные у животных, облученных в возрасте 10 недель, а также уменьшение площади микрососудов в гиппокампе, что свидетельствует о возможном защитном, протективном действии облучения в дозе 0,1 Гр в зависимости от возраста на момент облучения [29].

При однократном гамма-облучении мышей в возрасте 10 дней в дозе 1 Гр у взрослых животных отмечалось значительное сокращение популяции стволовых клеток GFAP<sup>+</sup> 1-го типа с радиальной глиалоподобной морфологией в субгранулярной зоне зубчатой извилины, дозозависимое снижение пролиферирующих PCNA<sup>+</sup>-клеток после облучения в дозах от 0,5 Гр, дозозависимое снижение пролиферирующих Ki67<sup>+</sup>-предшественников после облучения в дозах от 0,1 Гр, что свидетельствует о нарушении взрослого нейрогенеза в этой области мозга [26]. Описанные изменения стволовых и пролиферирующих клеток приводили к дозозависимому снижению числа зрелых нейронов в зубчатой извилине: при дозе 0,1 Гр сокращение на 21%, 0,5 Гр — на 26%, 1 Гр — на 37% [26].

При исследовании протеома гиппокампа и коры головного мозга через 7 месяцев после облучения новорожденных мышей описано дозозависимое увеличение числа дерегулированных белков в диапазоне доз от 0,02 до 1 Гр, причем профиль белков с нарушенной регуляцией при облучении в дозах 0,5 и 1 Гр отличался от таковых при облучении в более низких дозах [26].

При однократном гамма-облучении мышей в возрасте 10 недель в дозах 0,063 Гр, 0,125 Гр и 0,5 Гр и последующем двухлетнем наблюдении за животными выявлялись изменения сенсомоторных и локомоторных показателей: после облучения в дозе 0,5 Гр в возрасте 4 месяцев у животных было снижено предимпульсное торможение акустического рефлекса испуга, в возрасте 12–18 месяцев снижалась скорость движения и общая пройденная дистанция в тесте «открытое поле», тогда как облучение в дозе 0,063 Гр напротив, привело к небольшому улучшению сенсомоторной реакции и исследовательского поведения в возрасте 18 месяцев [30]. При этом в возрасте 24 месяцев у животных были обнаружены количественные и морфологические признаки повышенной иммунной активности при дозах 0,125 Гр и 0,5 Гр, но не 0,063 Гр. Морфологический анализ показал, что после облучения в дозах 0,125 и 0,5 Гр в зубчатой извилине гиппокампа снижено число GFAP<sup>+</sup> астроцитов, астроциты имеют меньше окончаний и узлов, меньше длина ответвлений. После облучения в дозе 0,5 Гр повышается число Iba1<sup>+</sup>-клеток микроглии, при этом клетки имеют амебоподобную форму, снижено число окончаний, узлов, пересечений и длины ответвлений. Напротив, доза 0,063 Гр через 24 месяца показала нейропротективный эффект: отмечалось гиперразветвление клеток микроглии и астроцитов [30].

В другой работе отмечено, напротив, существенное увеличение числа GFAP<sup>+</sup>-астроцитов в области хилуса гиппокампа через 6 месяцев после облучения новорожденных мышей в дозах от 0,1 Гр, тогда как рост числа CD11b<sup>+</sup> клеток активированной микроглии и повышение концентрации провоспалительного цитокина

ФНО $\alpha$  в гиппокампе наблюдались только после облучения в дозе 1 Гр [26].

При гамма-облучении в диапазоне 0,05–0,5 Гр наблюдалась линейная зависимость от дозы числа апоптотических клеток, но остановка пролиферации нейробластов требовала пороговой дозы 0,2 Гр (причем с увеличением дозы и снижалось число Ki67<sup>+</sup> клеток, и увеличивалось время остановки пролиферации), а снижение доли незрелых Dcx<sup>+</sup>-нейронов отмечалось при облучении в дозе 0,5 Гр [37]. Облучение в дозе 0,01 Гр приводило к слабому снижению экспрессии транслокаторного белка TSP0 в эндотелиальных клетках сосудов области гиппокампа и в клетках эпандимы в ранние сроки после облучения без заметных изменений после более высоких доз (до 2 Гр) [38].

При облучении в малых дозах важную роль могут сыграть другие неблагоприятные факторы при их сочетанном действии: так, однократное воздействие на 10-дневных мышей ионизирующего излучения в дозах 0,1–0,2 Гр и кетамина приводило к когнитивным нарушениям у взрослых животных, не обнаруживаемых при действии одного только излучения [39].

В целом результаты экспериментальных и эпидемиологических работ, обобщенные в обзоре [3], подтверждают возможность негативного влияния малых доз ионизирующего излучения на когнитивную функцию. Важно учитывать как возраст на момент облучения, так и возраст на момент обследования, поскольку одни эффекты проявляются сразу после облучения и постепенно угасают, а другие развиваются со временем.

Много работ посвящено эффектам космического излучения, моделируемого с использованием тяжелых частиц. Показано, что при облучении <sup>28</sup>Si или <sup>56</sup>Fe в диапазоне доз от 0,01 до 0,1 Гр вероятность изменения когнитивных функций является дозозависимой [40]. При облучении потоком тяжелых частиц и нейтронов выявляются эффекты, сходные с описанными выше эффектами гамма-облучения: подавляется нейрогенез в области гиппокампа [41], длительно сохраняются признаки активации микроглии [42], нарушается синаптическая передача в области гиппокампа [43] и функциональные связи между гиппокампом и периферической корой [42], происходит снижение функции митохондрий и изменение экспрессии ряда белков [44]. В результате у животных как в ранние, так и в отдаленные сроки после облучения в диапазоне доз 0,05–0,6 Гр выявляются те или иные когнитивные дисфункции, проявляющиеся в нарушении способности к распознаванию и переключению внимания, пространственной памяти, эпизодической памяти, дефиците исполнительной функции, усилении тревожности [45]. Поведенческие изменения в ряде случаев выявлялись через 12–15 месяцев после облучения [42].

Разные когнитивные функции опосредованы разными структурами мозга и могут демонстрировать разную чувствительность к облучению. Так, например, облучение частицами <sup>56</sup>Fe улучшает успешность мышей-самцов C57Bl при решении задачи, зависящей от гиппокампа (обучение различению), без изменения эффективности в задаче, зависящей от полосатого тела (обучение на основе правил) [46].

Гораздо меньше экспериментальных данных об эффектах хронического или фракционированного излучения. Большинство исследований проводилось с использованием однократного острого облучения, в то время как клинически и экологически значимые ситуации



происходят преимущественно в режиме хронического или фракционированного воздействия.

При хроническом нейтронно-фотонном облучении в дозе 0,18 Гр (мощность дозы 1 мГр/сутки) у мышей выявлялось снижение возбудимости нейронов гиппокампа и нарушение долговременной потенциации гиппокампа и коры головного мозга, нарушения в обучении и памяти [47], а также нарушение синаптической пластичности в гиппокампально-кортикальной цепи [48]. При фракционированном рентгеновском облучении в кумулятивной дозе 0,5 Гр выявляются более тревожное поведение и изменения двигательной активности [49], как и при остром облучении.

Вероятно, развитие эффектов хронического и фракционированного облучения в целом основано также на нарушении нейрогенеза (при остром облучении в дозе 2 Гр или фракционированном облучении в той же кумулятивной дозе) [50], нарушении синаптической передачи, снижении числа синапсов и изменениях электрофизиологических показателей нейронов гиппокампа и коры [47, 48, 51], активации микроглии [52]. Показано, что фракционированное воздействие низких доз ионизирующего излучения вызывает дозоспецифические изменения глобального геномного метилирования разных областей мозга мыши на фоне изменения эмоционального состояния и повышения тревожности, нарушения координации движений при ходьбе [49]. Острое гамма-облучение в дозе 2 Гр привело к более выраженному повышению количества клеток активированной микроглии и снижению нейрональных клеток-предшественников, чем фракционированное облучение в той же дозе (20 фракций по 0,1 Гр) [52]. Однако хроническое облучение в дозах 0,4–0,5 Гр тяжелыми частицами, моделирующее галактическое космическое излучение, оказало более выраженное влияние на изменение электрофизиологических свойств пирамидальных клеток гиппокампа у мышей, чем острое облучение [51]. Фракционированное гамма-облучение приводило к постоянному повышению уровня повреждения ДНК в тканях фронтальной коры и мозжечка после каждой фракции, тогда как в ткани гиппокампа этот показатель повысился только после первой фракции облучения [49].

В доступной литературе экспериментов по оценке влияния хронического или фракционированного облучения в малых дозах (кумулятивная доза до 0,1 Гр) не обнаружено. Наличие эффектов малых доз острого облучения с одной стороны и данные о сопоставимых эффектах фракционированного и острого облучения в средних дозах с другой стороны не исключают возможности эффектов со стороны ЦНС при хроническом облучении в малых дозах. Как представлено в отчете НКДАР ООН [53], при хроническом воздействии малых доз радиации отмечаются изменения в системе регуляции работы иммунной системы, а со стороны нервной системы провоспалительная активация микроглии является одним из описанных эффектов ионизирующего излучения. Также к известным эффектам малых доз на клеточном уровне относят повреждение ДНК, нестабильные хромосомные aberrации, апоптоз наиболее радиочувствительных клеток [54], что потенциально может оказывать влияние на нейрогенез, особенно в наиболее чувствительные периоды развития мозга.

Экспериментальные работы показывают, что в ряде случаев выявляются половые отличия эффектов облучения, например, воздействие излучения  $^{28}\text{Si}$  вызывало долгосрочное снижение образования новых нейронов у самцов, но не у самок [41]. При моделировании

острого или хронического галактического излучения в тесте «объект в новом месте» выявлены стойкие нарушения в формировании и реконсолидации памяти, зависящей от гиппокампа, у самок мышей, но не у самцов, при этом облученные самцы, но не самки, хуже распознавали новые объекты; только хронически облученные самцы демонстрировали повышенную агрессивность в тесте на доминирование [51].

Некоторые экспериментальные данные поддерживают гипотезу о возможной способности ионизирующего излучения повышать риск развития нейродегенеративных изменений. Неадекватная хроническая активация микроглии наблюдается как после облучения, так и при таких заболеваниях, как депрессия, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона [55]. Ионизирующее излучение в малых и средних дозах может запускать молекулярные механизмы, способствующие развитию болезни Альцгеймера, связанные с развитием окислительного стресса [29], увеличением количества амилоидных бляшек в головном мозге [24], накоплением тау-белка [35]. У мышей с дефицитом ApoE, используемых в качестве модели болезни Альцгеймера, хроническое облучение в течение 300 дней с кумулятивными дозами 0,3 Гр и 6,0 Гр вызывало изменения количества белков, связанных с контролем синаптической пластичности, кальций-зависимой передачи сигналов и метаболизма мозга при обоих использованных уровнях мощности дозы [56]. Однако были выявлены и отличия: передача сигналов пути Ras1-кофилина была активирована только при более низкой мощности дозы 0,1 мГр/день, при этом же уровне воздействия происходило снижение количества активированной микроглии в гиппокампе и снижение уровня экспрессии ФНО $\alpha$  и перекисного окисления липидов. Таким образом, несколько молекулярных мишеней, индуцированных хроническим излучением с низкой мощностью дозы, перекрываются с таковыми при патологии Альцгеймера [56].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время имеется обширный объем информации о влиянии ионизирующего излучения на головной мозг и показатели высшей нервной деятельности. Большие дозы ионизирующего излучения являются установленным фактором риска когнитивных нарушений, в то время как результаты эпидемиологических исследований по оценке влияния средних и малых доз радиации на нервную систему человека являются неоднозначными.

В экспериментальных исследованиях на животных выявлены такие эффекты облучения, как нарушения обучаемости и памяти, повышение тревожности, нарушение локомоции. Установлено, что основными причинами развития радиационно-индуцированных эффектов со стороны ЦНС при облучении в дозах более 0,5 Гр редкоионизирующего излучения являются нарушение нормального нейрогенеза и подавление пролиферации нейрональных стволовых клеток, а также провоспалительная активация микроглии. Также выявляются нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера, изменения синаптической передачи, нарушения баланса нейромедиаторов и др. Период активного формирования мозга во время внутриутробного и раннего постнатального развития является наиболее чувствительным к действию ионизирующего излучения. В этот период для острого гамма-облучения уровень пороговых доз составляет 0,2–0,3 Гр.

Данных о влиянии малых доз облучения, эффектах фракционированного и хронического облучения

существенно меньше. Имеющиеся данные показывают, что острое облучение в дозах порядка 0,1 Гр может оказывать разнонаправленное действие, вызывая как слабые неблагоприятные эффекты на высшую нервную деятельность и головной мозг, так и нейропротективное действие, в зависимости от возраста на момент облучения, времени после облучения и других факторов. Фракционированное рентгеновское облучение в дозах от 0,5–2 Гр также способно приводить к изменениям высшей нервной деятельности, экспериментальных данных о возможном влиянии малых доз ионизирующего излучения в режиме протрагированного воздействия нет.

Для целей повышения радиационной безопасности, а также для разработки патогенетических средств профилактики и лечения радиационно-индуцированных нарушений со стороны ЦНС дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение хронического воздействия и оценку как функций высшей нервной деятельности, так и морфофункциональных показателей головного мозга, установление причинно-следственных связей между хроническим радиационным воздействием и неблагоприятными эффектами со стороны ЦНС в течение длительного периода времени после облучения.

## Литература

- Kovalchuk A, Kolb B. Low dose radiation effects on the brain — from mechanisms and behavioral outcomes to mitigation strategies. *Cell Cycle*. 2017; 16 (13): 1266–70. PubMed PMID: 28656797.
- Britten RA, Wellman LL, Sanford LD. Progressive increase in the complexity and translatability of rodent testing to assess space-radiation induced cognitive impairment. *Neurosci Biobehav Rev*. 2021; 126: 159–74. PubMed PMID: 33766676.
- Pasqual E, Boussin F, Bazyka D, Nordenskjold A, Yamada M, Ozasa K, et al. Cognitive effects of low dose of ionizing radiation — Lessons learned and research gaps from epidemiological and biological studies. *Environ Int*. 2021; 147: 106295. PubMed PMID: 33341586.
- Sources, effects and risks of ionizing radiation. UNSCEAR 2012 Report. United Nations sales publication E.16.IX.1. 2015. Available from: [https://www.unscear.org/docs/reports/2012/UNSCEAR2012Report\\_15-08936\\_eBook\\_website.pdf](https://www.unscear.org/docs/reports/2012/UNSCEAR2012Report_15-08936_eBook_website.pdf).
- Stewart FA, Akleyev AV, Hauer-Jensen M, Hendry JH, Kleiman NJ, Macvittie TJ, et al. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs—threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. *Ann ICRP*. 2012; (1-2): 1–322. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.02.001.
- Sources, effects and risks of ionizing radiation. Volume II: Scientific annex B. UNSCEAR 2013 Report. United Nations sales publication E.14.IX.2. 2013. Available from: [https://www.unscear.org/docs/publications/2013/UNSCEAR\\_2013\\_Report\\_Vol.II.pdf](https://www.unscear.org/docs/publications/2013/UNSCEAR_2013_Report_Vol.II.pdf).
- Report № 183. Radiation exposure in space and the potential for central nervous system effects: Phase II. 2019. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/337440807\\_Radiation\\_Exposure\\_in\\_Space\\_and\\_the\\_Potential\\_for\\_Central\\_Nervous\\_System\\_Effects\\_Phase\\_II](https://www.researchgate.net/publication/337440807_Radiation_Exposure_in_Space_and_the_Potential_for_Central_Nervous_System_Effects_Phase_II)
- Tanguturi SK, Alexander BM. Neurologic complications of radiation therapy. *Neurol Clin*. 2018; 36 (3): 599–625. PubMed PMID: 30072073.
- Gorbunov NV, Kiang JG. brain damage and patterns of neurovascular disorder after ionizing irradiation. Complications in radiotherapy and radiation combined injury. *Radiat Res*. 2021; 196 (1): 1–16. PubMed PMID: 33979447.
- Sultana N, Sun C, Katsube T, Wang B. Biomarkers of brain damage induced by radiotherapy. dose response. 2020; 18 (3): 1559325820938279. PubMed PMID: 32694960.
- Hall P, Adami HO, Trichopoulos D, Pedersen NL, Lagiou P, Ekbohm A et al. Effect of low doses of ionising radiation in infancy on cognitive function in adulthood: Swedish population based cohort study. *BMJ*. 2004; 328 (7430): 19. PubMed PMID.
- Буртовая Е. Ю., Кантина Т. Э., Белова М. В., Аклев А. В. Когнитивные нарушения у лиц, подвергшихся радиационному воздействию в период пренатального развития. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2015; 115 (4): 20–23.
- Pasqual E, Bosch de Basea M, López-Vicente M, Thierry-Chef I, Cardis E. Neurodevelopmental effects of low dose ionizing radiation exposure: A systematic review of the epidemiological evidence. *Environ Int*. 2020; 136: 105371. PubMed PMID: 32007921.
- Azizova TV, Bannikova MV, Grigoryeva ES, Rybkina VL, Hamada N. Occupational exposure to chronic ionizing radiation increases risk of Parkinson's disease incidence in Russian Mayak workers. *Int J Epidemiol*. 2020; 49 (2): 435–47. PubMed PMID: 31722376.
- Laurent O, Samson E, Caër-Lorho S, Fournier L, Laurier D, Leuraud K. Updated Mortality Analysis of SELTINE, the French Cohort of Nuclear Workers, 1968–2014. *Cancers (Basel)*. 2022; 15 (1): 79. PubMed PMID: 36612076.
- Ishihara K, Kato N, Misumi M, Kitamura H, Hida A, Yamada M. Radiation effects on late-life neurocognitive function in childhood atomic bomb survivors: a radiation effects research foundation adult health study. *Radiat Res*. 2022; 197 (4): 403–7. PubMed PMID: 35042238.
- Kinoshita H, Tanaka K, Nakao R, Iso F, Honda S, Tanaka G, et al. Comparison of mental cognitive function of A-bomb survivors and non-A-bomb survivors in Nagasaki. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019; 73 (9): 594. PubMed PMID: 31206900.
- Lopes J, Leuraud K, Klokov D, Durand C, Bernier MO, Baudin C. Risk of developing non-cancerous central nervous system diseases due to ionizing radiation exposure during adulthood: systematic review and meta-analyses. *Brain Sci*. 2022; 12 (8): 984. PubMed PMID: 35892428.
- Loganovsky K, Marazziti D. Mental health and neuropsychiatric aftermath 35 years after the chernobyl catastrophe: current state and future perspectives. *Clin Neuropsychiatry*. 2021; 18 (2): 101–6. PubMed PMID.
- Collett G, Craenen K, Young W, Gilhooly M, Anderson RM. The psychological consequences of (perceived) ionizing radiation exposure: a review on its role in radiation-induced cognitive dysfunction. *Int J Radiat Biol*. 2020; 96 (9): 1104–18. PubMed PMID: 32716221.
- Lopes J, Baudin C, Leuraud K, Klokov D, Bernier MO. Ionizing radiation exposure during adulthood and risk of developing central nervous system tumors: systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2022; 12 (1): 16209. PubMed PMID: 36171442.
- Little MP, Wakeford R, Bouffler SD, Abalo K, Hauptmann M, Hamada N, et al. Review of the risk of cancer following low and moderate doses of sparsely ionising radiation received in early life in groups with individually estimated doses. *Environ Int*. 2022; 159: 106983. PubMed PMID.
- Perez WD, Perez-Torres CJ. Neurocognitive and radiological changes after cranial radiation therapy in humans and rodents: a systematic review. *Int J Radiat Biol*. 2023; 99 (2): 119–37. PubMed PMID: 35511499.
- Severyukhin YS, Lalkovičová M, Utina DM, Lyakhova KN, Kolesnikova IA, Ermolaeva ME, et al. Comparative analysis of behavioral reactions and morphological changes in the rat brain after exposure to ionizing radiation with different physical characteristics. *Cell Mol Neurobiol*. 2023; 43 (1): 339–53. PubMed PMID: 34982311.
- Njamshi AK, Ahidjo N, Ngarka L, Nfor LN, Mengnjo MK, Njamshi WY,

- et al. Characterization of the cognitive and motor changes revealed by the elevated plus maze in an experimental rat model of radiation-induced brain injury. *Adv Biomed Res.* 2020; 9: 72. PubMed PMID: 33816391.
26. Kempf SJ, Casciati A, Buratovic S, Janik D, von Toerne C, Ueffing M, et al. The cognitive defects of neonatally irradiated mice are accompanied by changed synaptic plasticity, adult neurogenesis and neuroinflammation. *Mol Neurodegener.* 2014; 9: 57. PubMed PMID.
  27. Cacao E, Kapukotuwa S, Cucinotta FA. Modeling reveals the dependence of hippocampal neurogenesis radiosensitivity on age and strain of rats. *Front Neurosci.* 2018; 12: 980. PubMed PMID.
  28. Serrano C, Dos Santos M, Kereselidze D, Beugnies L, Lestaevl P, Poirier R, et al. Targeted dorsal dentate gyrus or whole brain irradiation in juvenile mice differently affects spatial memory and adult hippocampal neurogenesis. *Biology (Basel).* 2021; 10 (3): 192. PubMed PMID: 33806303.
  29. Casciati A, Dobos K, Antonelli F, Benedek A, Kempf SJ, Bellés M, et al. Age-related effects of X-ray irradiation on mouse hippocampus. *Oncotarget.* 2016; 7 (19): 28040–58. PubMed PMID: 27057631.
  30. Ung MC, Garrett L, Dalke C, Leitner V, Dragosa D, Hladik D, et al. Dose-dependent long-term effects of a single radiation event on behaviour and glial cells. *Int J Radiat Biol.* 2021; 97 (2): 156–69. PubMed PMID: 33264576.
  31. Acharya MM, Patel NH, Craver BM, Tran KK, Giedzinski E, Tseng BP, et al. Consequences of low dose ionizing radiation exposure on the hippocampal microenvironment. *PLoS One.* 2015; 10 (6): e0128316. PubMed PMID: 26042591.
  32. Eriksson P, Buratovic S, Fredriksson A, Stenerlöw B, Sundell-Bergman S. Neonatal exposure to whole body ionizing radiation induces adult neurobehavioural defects: Critical period, dose-response effects and strain and sex comparison. *Behav Brain Res.* 2016; 304: 11–9. PubMed PMID: 26876140.
  33. Liu Y, Ma H, Wang Y, Ren B, Liu L, Sun A, et al. Neonatal exposure to low-dose X-ray causes behavioral defects and abnormal hippocampal development in mice. *IUBMB Life.* 2023; 75 (6): 530–47. PubMed PMID: 36629313.
  34. Verreet T, Rangarajan JR, Quintens R, Verslegers M, Lo AC, Govaerts K, et al. Persistent Impact of in utero irradiation on mouse brain structure and function characterized by mr imaging and behavioral analysis. *Front Behav Neurosci.* 2016; 10: 83. PubMed PMID: 27199692.
  35. Buratovic S, Stenerlöw B, Fredriksson A, Sundell-Bergman S, Viberg H, Eriksson P. Neonatal exposure to a moderate dose of ionizing radiation causes behavioural defects and altered levels of tau protein in mice. *Neurotoxicology.* 2014; 45: 48–55. PubMed PMID: 25265567.
  36. Mouton L, Etienne O, Feat-Vetel J, Barrière DA, Pérès EA, Boumezeur F, et al. Noninvasive assessment of neurodevelopmental disorders after in utero irradiation in mice: an in vivo anatomical and diffusion mri study. *Radiat Res.* 2021; 195 (6): 568–83. PubMed PMID: 33826744.
  37. Barazzuol L, Hopkins SR, Ju L, Jeggo PA. Distinct response of adult neural stem cells to low versus high dose ionising radiation. *DNA Repair (Amst).* 2019; 76: 70–75. PubMed PMID: 30822688.
  38. Betlazar C, Middleton RJ, Howell N, Storer B, Davis E, Davies J, et al. Mitochondrial Translocator protein (TSPO) expression in the brain after whole body gamma irradiation. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 715444. PubMed PMID: 34760884.
  39. Hladik D, Buratovic S, Von Toerne C, Azimzadeh O, Subedi P, Philipp J, et al. Combined Treatment with low-dose ionizing radiation and ketamine induces adverse changes in CA1 neuronal structure in male murine hippocampi. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (23): 6103. PubMed PMID: 31817026.
  40. Matar M, Gokoglu SA, Prelich MT, Gallo CA, Iqbal AK, Britten RA, et al. Machine Learning models to predict cognitive impairment of rodents subjected to space radiation. *Front Syst Neurosci.* 2021; 15: 713131. PubMed PMID: 34588962.
  41. Whoolery CW, Walker AK, Richardson DR, Lucero MJ, Reynolds RP, Beddow DH, et al. Whole-Body exposure to 28Si-Radiation dose-dependently disrupts dentate gyrus neurogenesis and proliferation in the short term and new neuron survival and contextual fear conditioning in the long term. *Radiat Res.* 2017; 188 (5): 532–51. PubMed PMID: 28945526.
  42. Parihar VK, Maroso M, Syage A, Allen BD, Angulo MC, Soltesz I, et al. Persistent nature of alterations in cognition and neuronal circuit excitability after exposure to simulated cosmic radiation in mice. *Exp Neurol.* 2018; 305: 44–55. PubMed PMID: 29540322.
  43. Klein PM, Alagband Y, Doan NL, Ru N, Drayson OGG, Baulch JE, et al. Acute, Low-dose neutron exposures adversely impact central nervous system function. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (16): 9020. PubMed PMID: 34445726.
  44. Laiakis EC, Pinheiro M, Nguyen T, Nguyen H, Beheshti A, Dutta SM, et al. Quantitative proteomic analytic approaches to identify metabolic changes in the medial prefrontal cortex of rats exposed to space radiation. *Front Physiol.* 2022; 13: 971282. PubMed PMID: 36091373.
  45. Britten RA, Jewell JS, Duncan VD, Hadley MM, Macadat E, Musto AE, et al. Impaired attentional set-shifting performance after exposure to 5 cgy of 600 mev/n 28si particles. *Radiat Res.* 2018; 189 (3): 273–82. PubMed PMID: 29309264.
  46. Soler I, Yun S, Reynolds RP, Whoolery CW, Tran FH, Kumar PL, et al. Multi-domain touchscreen-based cognitive assessment of C57BL/6J female mice shows whole-body exposure to 56Fe particle space radiation in maturity improves discrimination learning yet impairs stimulus-response rule-based habit learning. *Front Behav Neurosci.* 2021; 15: 722780. PubMed PMID: 34707486.
  47. Acharya MM, Baulch JE, Klein PM, Baddour AAD, Apodaca LA, Kramár EA, et al. New Concerns for neurocognitive function during deep space exposures to chronic, low dose-rate, neutron radiation. *eNeuro.* 2019; 6 (4): ENEURO.0094-19.2019. PubMed PMID: 31383727.
  48. Krishnan B, Natarajan C, Bourne KZ, Alikhani L, Wang J, Sowa A, et al. Chronic low dose neutron exposure results in altered neurotransmission properties of the hippocampus-prefrontal cortex axis in both mice and rats. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (7): 3668. PubMed PMID: 33915974.
  49. Koturbash I, Jadavji NM, Kutanzi K, Rodriguez-Juarez R, Kogosov D, Metzb GAS, et al. Fractionated low-dose exposure to ionizing radiation leads to DNA damage, epigenetic dysregulation, and behavioral impairment. *Environ Epigenet.* 2017; 2 (4): dww025. PubMed PMID: 29492301.
  50. Peng S, Yang B, Duan MY, Liu ZW, Wang WF, Zhang XZ, et al. The disparity of impairment of neurogenesis and cognition after acute or fractionated radiation exposure in adolescent BALB/c mice. *Dose Response.* 2019; 17 (1): 1559325818822574. PubMed PMID: 30670940.
  51. Alagband Y, Klein PM, Kramár EA, Cranston MN, Perry BC, Shelerud LM, et al. Galactic cosmic radiation exposure causes multifaceted neurocognitive impairments. *Cell Mol Life Sci.* 2023; 80 (1): 29. PubMed PMID: 36607431.
  52. Schmal Z, Rube CE. Region-specific effects of fractionated low-dose versus single-dose radiation on hippocampal neurogenesis and neuroinflammation. *Cancers (Basel).* 2022; 14 (22): 5477. PubMed PMID: 36428572.
  53. Biological Mechanisms of Radiation Actions at Low doses. A white paper to guide the Scientific Committee's future programme of work. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, United Nations. 2012. Available from: [https://www.unscear.org/docs/reports/Biological\\_mechanisms\\_WP\\_12-57831.pdf](https://www.unscear.org/docs/reports/Biological_mechanisms_WP_12-57831.pdf).
  54. Котеров А. Н., Вайсон А. А. Биологические и медицинские эффекты излучения с низкой ЛПЭ для различных диапазонов доз. *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2015; 60 (3): 5–31.
  55. Boyd A, Byrne S, Middleton RJ, Banati RB, Liu GJ. Control of neuroinflammation through radiation-induced microglial changes. *Cells.* 2021; 10 (9): 2381. PubMed PMID: 34572030.
  56. Kempf SJ, Janik D, Barjaktarovic Z, Braga-Tanaka I 3rd, Tanaka S, Neff F, et al. Chronic low-dose-rate ionising radiation affects the hippocampal phosphoproteome in the ApoE<sup>-/-</sup> Alzheimer's mouse model. *Oncotarget.* 2016; 7 (44): 71817–32. PubMed PMID: 27708245.

## References

- Kovalchuk A, Kolb B. Low dose radiation effects on the brain — from mechanisms and behavioral outcomes to mitigation strategies. *Cell Cycle*. 2017; 16 (13): 1266–70. PubMed PMID: 28656797.
- Britten RA, Wellman LL, Sanford LD. Progressive increase in the complexity and translatability of rodent testing to assess space-radiation induced cognitive impairment. *Neurosci Biobehav Rev*. 2021; 126: 159–74. PubMed PMID: 33766676.
- Pasqual E, Boussin F, Bazyka D, Nordenskjold A, Yamada M, Ozasa K, et al. Cognitive effects of low dose of ionizing radiation — Lessons learned and research gaps for epidemiological and biological studies. *Environ Int*. 2021; 147: 106295. PubMed PMID: 33341586.
- Sources, effects and risks of ionizing radiation. UNSCEAR 2012 Report. United Nations sales publication E.16.IX.1. 2015. Available from: [https://www.unscear.org/docs/reports/2012/UNSCEAR2012Report\\_15-08936\\_eBook\\_website.pdf](https://www.unscear.org/docs/reports/2012/UNSCEAR2012Report_15-08936_eBook_website.pdf).
- Stewart FA, Akleyev AV, Hauer-Jensen M, Hendry JH, Kleiman NJ, Macvittie TJ, et al. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs--threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. *Ann ICRP*. 2012; (1-2): 1–322. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.02.001.
- Sources, effects and risks of ionizing radiation. Volume II: Scientific annex B. UNSCEAR 2013 Report. United Nations sales publication E.14.IX.2. 2013. Available from: [https://www.unscear.org/docs/publications/2013/UNSCEAR\\_2013\\_Report\\_Vol.II.pdf](https://www.unscear.org/docs/publications/2013/UNSCEAR_2013_Report_Vol.II.pdf).
- Report № 183. Radiation exposure in space and the potential for central nervous system effects: Phase II. 2019. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/337440807\\_Radiation\\_Exposure\\_in\\_Space\\_and\\_the\\_Potential\\_for\\_Central\\_Nervous\\_System\\_Effects\\_Phase\\_II](https://www.researchgate.net/publication/337440807_Radiation_Exposure_in_Space_and_the_Potential_for_Central_Nervous_System_Effects_Phase_II)
- Tanguturi SK, Alexander BM. Neurologic complications of radiation therapy. *Neurol Clin*. 2018; 36 (3): 599–625. PubMed PMID: 30072073.
- Gorbunov NV, Kiang JG. brain damage and patterns of neurovascular disorder after ionizing irradiation. Complications in radiotherapy and radiation combined injury. *Radiat Res*. 2021; 196 (1): 1–16. PubMed PMID: 33979447.
- Sultana N, Sun C, Katsube T, Wang B. Biomarkers of brain damage induced by radiotherapy. dose response. 2020; 18 (3): 1559325820938279. PubMed PMID: 32694960.
- Hall P, Adami HO, Trichopoulos D, Pedersen NL, Lagiou P, Ekbohm A et al. Effect of low doses of ionising radiation in infancy on cognitive function in adulthood: Swedish population based cohort study. *BMJ*. 2004; 328 (7430): 19. PubMed PMID.
- Burtovaya EYu, Kantina TEh, Belova MV, Akleev AV. Kognitivnye narusheniya u lic, podvergnutih radiacionnomu vozdejstviyu v period prenatal'nogo razvitiya. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. C. C. Korsakova*. 2015; 115 (4): 20–23. Russian.
- Pasqual E, Bosch de Basea M, López-Vicente M, Thierry-Chef I, Cardis E. Neurodevelopmental effects of low dose ionizing radiation exposure: A systematic review of the epidemiological evidence. *Environ Int*. 2020; 136: 105371. PubMed PMID: 32007921.
- Azizova TV, Bannikova MV, Grigoryeva ES, Rybkina VL, Hamada N. Occupational exposure to chronic ionizing radiation increases risk of Parkinson's disease incidence in Russian Mayak workers. *Int J Epidemiol*. 2020; 49 (2): 435–47. PubMed PMID: 31722376.
- Laurent O, Samson E, Caër-Lorho S, Fournier L, Laurier D, Leuraud K. Updated Mortality Analysis of SELTINE, the French Cohort of Nuclear Workers, 1968–2014. *Cancers (Basel)*. 2022; 15 (1): 79. PubMed PMID: 36612076.
- Ishihara K, Kato N, Misumi M, Kitamura H, Hida A, Yamada M. Radiation effects on late-life neurocognitive function in childhood atomic bomb survivors: a radiation effects research foundation adult health study. *Radiat Res*. 2022; 197 (4): 403–7. PubMed PMID: 35042238.
- Kinoshita H, Tanaka K, Nakao R, Iso F, Honda S, Tanaka G, et al. Comparison of mental cognitive function of A-bomb survivors and non-A-bomb survivors in Nagasaki. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019; 73 (9): 594. PubMed PMID: 31206900.
- Lopes J, Leuraud K, Klovov D, Durand C, Bernier MO, Baudin C. Risk of developing non-cancerous central nervous system diseases due to ionizing radiation exposure during adulthood: systematic review and meta-analyses. *Brain Sci*. 2022; 12 (8): 984. PubMed PMID: 35892428.
- Loganovsky K, Marazziti D. Mental health and neuropsychiatric aftermath 35 years after the chernobyl catastrophe: current state and future perspectives. *Clin Neuropsychiatry*. 2021; 18 (2): 101–6. PubMed PMID.
- Collett G, Craenen K, Young W, Gilhooly M, Anderson RM. The psychological consequences of (perceived) ionizing radiation exposure: a review on its role in radiation-induced cognitive dysfunction. *Int J Radiat Biol*. 2020; 96 (9): 1104–18. PubMed PMID: 32716221.
- Lopes J, Baudin C, Leuraud K, Klovov D, Bernier MO. Ionizing radiation exposure during adulthood and risk of developing central nervous system tumors: systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2022; 12 (1): 16209. PubMed PMID: 36171442.
- Little MP, Wakeford R, Bouffler SD, Abalo K, Hauptmann M, Hamada N, et al. Review of the risk of cancer following low and moderate doses of sparsely ionising radiation received in early life in groups with individually estimated doses. *Environ Int*. 2022; 159: 106983. PubMed PMID.
- Perez WD, Perez-Torres CJ. Neurocognitive and radiological changes after cranial radiation therapy in humans and rodents: a systematic review. *Int J Radiat Biol*. 2023; 99 (2): 119–37. PubMed PMID: 35511499.
- Severyukhin YS, Lalkovičová M, Utina DM, Lyakhova KN, Kolesnikova IA, Ermolaeva ME, et al. Comparative analysis of behavioral reactions and morphological changes in the rat brain after exposure to ionizing radiation with different physical characteristics. *Cell Mol Neurobiol*. 2023; 43 (1): 339–53. PubMed PMID: 34982311.
- Njamnshi AK, Ahidjo N, Ngarka L, Nfor LN, Mengnjo MK, Njamnshi WY, et al. Characterization of the cognitive and motor changes revealed by the elevated plus maze in an experimental rat model of radiation-induced brain injury. *Adv Biomed Res*. 2020; 9: 72. PubMed PMID: 33816391.
- Kempf SJ, Casciati A, Buratovic S, Janik D, von Toerne C, Ueffing M, et al. The cognitive defects of neonatally irradiated mice are accompanied by changed synaptic plasticity, adult neurogenesis and neuroinflammation. *Mol Neurodegener*. 2014; 9: 57. PubMed PMID.
- Cacao E, Kapukotuwa S, Cucinotta FA. Modeling reveals the dependence of hippocampal neurogenesis radiosensitivity on age and strain of rats. *Front Neurosci*. 2018; 12: 980. PubMed PMID.
- Serrano C, Dos Santos M, Kereselidze D, Beugnies L, Lestaevél P, Poirier R, et al. Targeted dorsal dentate gyrus or whole brain irradiation in juvenile mice differently affects spatial memory and adult hippocampal neurogenesis. *Biology (Basel)*. 2021; 10 (3): 192. PubMed PMID: 33806303.
- Casciati A, Dobos K, Antonelli F, Benedek A, Kempf SJ, Bellés M, et al. Age-related effects of X-ray irradiation on mouse hippocampus. *Oncotarget*. 2016; 7 (19): 28040–58. PubMed PMID: 27057631.
- Ung MC, Garrett L, Dalke C, Leitner V, Dragosa D, Hladik D, et al. Dose-dependent long-term effects of a single radiation event on behaviour and glial cells. *Int J Radiat Biol*. 2021; 97 (2): 156–69. PubMed PMID: 33264576.
- Acharya MM, Patel NH, Craver BM, Tran KK, Giedzinski E, Tseng BP, et al. Consequences of low dose ionizing radiation exposure on the hippocampal microenvironment. *PLoS One*. 2015; 10 (6): e0128316. PubMed PMID: 26042591.
- Eriksson P, Buratovic S, Fredriksson A, Stenerlöw B, Sundell-Bergman S. Neonatal exposure to whole body ionizing radiation induces adult neurobehavioural defects: Critical period, dose-response effects and strain and sex comparison. *Behav Brain Res*. 2016; 304: 11–9. PubMed PMID: 26876140.
- Liu Y, Ma H, Wang Y, Ren B, Liu L, Sun A, et al. Neonatal exposure to low-dose X-ray causes behavioral defects and abnormal hippocampal development in mice. *IUBMB Life*. 2023; 75 (6): 530–47. PubMed PMID: 36629313.

34. Verreet T, Rangarajan JR, Quintens R, Verslegers M, Lo AC, Govaerts K, et al. Persistent Impact of in utero irradiation on mouse brain structure and function characterized by mr imaging and behavioral analysis. *Front Behav Neurosci.* 2016; 10: 83. PubMed PMID: 27199692.
35. Buratovic S, Stenerlöv B, Fredriksson A, Sundell-Bergman S, Viberg H, Eriksson P. Neonatal exposure to a moderate dose of ionizing radiation causes behavioural defects and altered levels of tau protein in mice. *Neurotoxicology.* 2014; 45: 48–55. PubMed PMID: 25265567.
36. Mouton L, Etienne O, Feat-Vetel J, Barrière DA, Pérès EA, Boumezeur F, et al. Noninvasive assessment of neurodevelopmental disorders after in utero irradiation in mice: an in vivo anatomical and diffusion mri study. *Radiat Res.* 2021; 195 (6): 568–83. PubMed PMID: 33826744.
37. Barazzuol L, Hopkins SR, Ju L, Jeggo PA. Distinct response of adult neural stem cells to low versus high dose ionising radiation. *DNA Repair (Amst).* 2019; 76: 70–75. PubMed PMID: 30822688.
38. Betlazar C, Middleton RJ, Howell N, Storer B, Davis E, Davies J, et al. Mitochondrial Translocator protein (TSPO) expression in the brain after whole body gamma irradiation. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 715444. PubMed PMID: 34760884.
39. Hladik D, Buratovic S, Von Toerne C, Azimzadeh O, Subedi P, Philipp J, et al. Combined Treatment with low-dose ionizing radiation and ketamine induces adverse changes in CA1 neuronal structure in male murine hippocampi. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (23): 6103. PubMed PMID: 31817026.
40. Matar M, Gokoglu SA, Prelich MT, Gallo CA, Iqbal AK, Britten RA, et al. Machine Learning models to predict cognitive impairment of rodents subjected to space radiation. *Front Syst Neurosci.* 2021; 15: 713131. PubMed PMID: 34588962.
41. Whoolery CW, Walker AK, Richardson DR, Lucero MJ, Reynolds RP, Beddow DH, et al. Whole-Body exposure to 28Si-Radiation dose-dependently disrupts dentate gyrus neurogenesis and proliferation in the short term and new neuron survival and contextual fear conditioning in the long term. *Radiat Res.* 2017; 188 (5): 532–51. PubMed PMID: 28945526.
42. Parihar VK, Maroso M, Syage A, Allen BD, Angulo MC, Soltesz I, et al. Persistent nature of alterations in cognition and neuronal circuit excitability after exposure to simulated cosmic radiation in mice. *Exp Neurol.* 2018; 305: 44–55. PubMed PMID: 29540322.
43. Klein PM, Alaghband Y, Doan NL, Ru N, Drayson OGG, Baulch JE, et al. Acute, Low-dose neutron exposures adversely impact central nervous system function. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (16): 9020. PubMed PMID: 34445726.
44. Laiakis EC, Pinheiro M, Nguyen T, Nguyen H, Beheshti A, Dutta SM, et al. Quantitative proteomic analytic approaches to identify metabolic changes in the medial prefrontal cortex of rats exposed to space radiation. *Front Physiol.* 2022; 13: 971282. PubMed PMID: 36091373.
45. Britten RA, Jewell JS, Duncan VD, Hadley MM, Macadat E, Musto AE, et al. Impaired attentional set-shifting performance after exposure to 5 cgy of 600 mev/n 28si particles. *Radiat Res.* 2018; 189 (3): 273–82. PubMed PMID: 29309264.
46. Soler I, Yun S, Reynolds RP, Whoolery CW, Tran FH, Kumar PL, et al. Multi-domain touchscreen-based cognitive assessment of C57BL/6J female mice shows whole-body exposure to 56Fe particle space radiation in maturity improves discrimination learning yet impairs stimulus-response rule-based habit learning. *Front Behav Neurosci.* 2021; 15: 722780. PubMed PMID: 34707486.
47. Acharya MM, Baulch JE, Klein PM, Baddour AAD, Apodaca LA, Kramár EA, et al. New Concerns for neurocognitive function during deep space exposures to chronic, low dose-rate, neutron radiation. *eNeuro.* 2019; 6 (4): ENEURO.0094-19.2019. PubMed PMID: 31383727.
48. Krishnan B, Natarajan C, Bourne KZ, Alikhani L, Wang J, Sowa A, et al. Chronic low dose neutron exposure results in altered neurotransmission properties of the hippocampus-prefrontal cortex axis in both mice and rats. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (7): 3668. PubMed PMID: 33915974.
49. Koturbash I, Jadavji NM, Kutanzi K, Rodriguez-Juarez R, Kogosov D, Metz GAS, et al. Fractionated low-dose exposure to ionizing radiation leads to DNA damage, epigenetic dysregulation, and behavioral impairment. *Environ Epigenet.* 2017; 2 (4): dw025. PubMed PMID: 29492301.
50. Peng S, Yang B, Duan MY, Liu ZW, Wang WF, Zhang XZ, et al. The disparity of impairment of neurogenesis and cognition after acute or fractionated radiation exposure in adolescent BALB/c mice. *Dose Response.* 2019; 17 (1): 1559325818822574. PubMed PMID: 30670940.
51. Alaghband Y, Klein PM, Kramár EA, Cranston MN, Perry BC, Shelerud LM, et al. Galactic cosmic radiation exposure causes multifaceted neurocognitive impairments. *Cell Mol Life Sci.* 2023; 80 (1): 29. PubMed PMID: 36607431.
52. Schmal Z, Rübe CE. Region-specific effects of fractionated low-dose versus single-dose radiation on hippocampal neurogenesis and neuroinflammation. *Cancers (Basel).* 2022; 14 (22): 5477. PubMed PMID: 36428572.
53. Biological Mechanisms of Radiation Actions at Low doses. A white paper to guide the Scientific Committee's future programme of work. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, United Nations. 2012. Available from: [https://www.unscear.org/docs/reports/Biological\\_mechanisms\\_WP\\_12-57831.pdf](https://www.unscear.org/docs/reports/Biological_mechanisms_WP_12-57831.pdf).
54. Koterov AN, Vajson AA. Biologicheskie i medicinskie ehffekty izlucheniya s nizkoj LPEh dlya razlichnyh diapazonov doz. *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'.* 2015; 60 (3): 5–31.
55. Boyd A, Byrne S, Middleton RJ, Banati RB, Liu GJ. Control of neuroinflammation through radiation-induced microglial changes. *Cells.* 2021; 10 (9): 2381. PubMed PMID: 34572030.
56. Kempf SJ, Janik D, Barjaktarovic Z, Braga-Tanaka I 3rd, Tanaka S, Neff F, et al. Chronic low-dose-rate ionising radiation affects the hippocampal phosphoproteome in the ApoE<sup>-/-</sup> Alzheimer's mouse model. *Oncotarget.* 2016; 7 (44): 71817–32. PubMed PMID: 27708245.

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ МУЛЬТИСИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННОГО С SARS-COV-2

Ю. Е. Константинова<sup>1</sup>✉, А. А. Вильниц<sup>1,2</sup>, М. К. Бехтерева<sup>1,2</sup>, Л. А. Алексеева<sup>1</sup>, О. С. Глотов<sup>1</sup>, Е. С. Егорова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет, Санкт-Петербург, Россия

Обзор посвящен вопросам эпидемиологии и патогенеза мультисистемного воспалительного синдрома у детей, ассоциированного с SARS-CoV-2 (МВС-Д). Наибольшее число проанализированных публикаций посвящено иммунопатогенезу заболевания. В статье перечислены возможные причины возникновения синдрома, связанные с особенностями вируса, описана связь с циркулирующими вариантами. Рассмотрена роль поверхностного белка SARS-CoV-2 как суперантигена. Приведено обсуждение литературных данных о возможности развития МВС-Д по механизму антителозависимого усиления инфекции. Разобраны факторы клеточного и гуморального иммунного ответа, способствующие развитию гипервоспалительного ответа. Представлены единичные работы, описывающие генетические мутации, которые могут играть определенную роль в патогенезе МВС-Д. Помимо этого рассмотрена связь между вакцинацией против новой коронавирусной инфекции и вероятностью развития МВС-Д у привитых.

**Ключевые слова:** дети, мультисистемный воспалительный синдром, патогенез, SARS-CoV-2, COVID-19

**Вклад авторов:** Ю. Е. Константинова, Л. А. Алексеева, О. С. Глотов, Е. С. Егорова — поиск литературы, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; А. А. Вильниц, М. К. Бехтерева — разработка концепции, поиск литературы, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Юлия Евгеньевна Константинова  
ул. Профессора Попова, д. 9, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия; yulia.konstantinova23@mail.ru

**Статья получена:** 25.08.2023 **Статья принята к печати:** 10.09.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.040

## CURRENT UNDERSTANDING OF EPIDEMIOLOGY AND PATHOGENESIS OF MULTISYSTEM INFLAMMATORY SYNDROME ASSOCIATED WITH SARS-COV-2 IN CHILDREN

Konstantinova YuE<sup>1</sup>✉, Vilnits AA<sup>1,2</sup>, Bekhtereva MK<sup>1,2</sup>, Alekseeva LA<sup>1</sup>, Glotov OS<sup>1</sup>, Egorova ES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

The review is dedicated to matters related to epidemiology and pathogenesis of multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 in children (MIS-C). The majority of the reviewed reports are focused on immunopathogenesis of the disease. The causes of the syndrome related to the features of the virus are listed in the paper, the association with circulating variants is described. The role of the SARS-CoV-2 surface protein as superantigen is considered. The literature data on the likelihood of MIS-C development according to the antibody-dependent enhancement pattern are discussed. The factors of cellular and humoral immune response contributing to hyperinflammation are addressed. Sporadic papers describing genetic mutations that can play a certain role in the MIS-C pathogenesis are provided. Furthermore, the association of vaccination against novel coronavirus infection with the likelihood of MIS-C in vaccinated individuals is discussed.

**Keywords:** children, multisystem inflammatory syndrome, pathogenesis, SARS-CoV-2, COVID-19

**Author contribution:** Konstantinova YuE, Alekseeva LA, Glotov OS, Egorova ES — search for literature, manuscript writing and editing, approval of the final version of the article; Vilnits AA, Bekhtereva MK — concept development, search for literature, manuscript writing and editing, approval of the final version of the article.

✉ **Correspondence should be addressed:** Yulia E. Konstantinova  
Professora Popova, 9, Saint Petersburg, 197022, Russia; yulia.konstantinova23@mail.ru

**Received:** 25.08.2023 **Accepted:** 10.09.2023 **Published online:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.040

Мультисистемный воспалительный синдром у детей, ассоциированный с SARS-CoV-2 (МВС-Д), — это состояние, развивающееся в течение 2–6 недель после перенесенной новой коронавирусной инфекции (НКИ, COVID-19), вызванной SARS-CoV-2, и характеризующееся выраженным воспалительным ответом с поражением двух и более органов и систем (преимущественно кожных покровов, слизистых оболочек, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта). По данным разных авторов, от 36 до 80% пациентов госпитализируют в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), от 10 до 20% детей требуется проведение искусственной вентиляции легких (ИВЛ), примерно 1% требуется экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО) [1–3]. У исследователей до сих пор нет единой точки

зрения о том, является ли МВС-Д осложнением НКИ или представляет собой самостоятельную нозологическую единицу.

МВС-Д был впервые описан у детей школьного возраста учеными из Великобритании в начале пандемии НКИ [4]. К настоящему моменту развитие данного синдрома отмечено у пациентов различных возрастных когорт, включая новорожденных детей и молодых взрослых, однако чаще всего МВС-Д регистрируют у детей и подростков [5, 6].

На сегодняшний день для постановки диагноза МВС-Д в большинстве стран мира, в том числе и в Российской Федерации (РФ), пользуются критериями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [7], представленными в отечественных методических рекомендациях [8]. Согласно этим критериям, МВС-Д развивается через

2–6 недель после перенесенной НКИ, чаще всего у детей и подростков в возрасте от 0 до 19 лет, и характеризуется фебрильной лихорадкой ( $\geq 3$  дней), вовлечением в патологический процесс двух и более органов и систем, повышением уровня маркеров воспаления, а также отсутствием данных о наличии инфекционных агентов, способных вызывать подобные симптомы [7].

Согласно определению, данному Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (CDC), МВС-Д является требующим госпитализации пациента клинически тяжелым заболеванием, которое характеризуется лихорадкой, повышением уровня воспалительных маркеров и нарушением функции нескольких органов и систем. Оно развивается на фоне недавно перенесенной подтвержденной или вероятной НКИ, при этом иное вероятное объяснение клинической картины заболевания отсутствует [9].

### Этиология

Вне зависимости от используемого определения МВС-Д, оба варианта предполагают, что заболевание развивается из-за предшествующего инфицирования SARS-CoV-2 независимо от тяжести перенесенной НКИ. Доказательством связи развившегося заболевания с перенесенной НКИ послужило обнаружение специфических иммуноглобулинов G (IgG) к новому коронавирусу у большинства пациентов. Наличие маркеров острой инфекции (IgM к SARS-CoV-2 и выделение РНК SARS-CoV-2) отмечали лишь у 5–10% больных детей, при этом такие пациенты клинически соответствовали критериям МВС-Д, а при более тщательном опросе выяснялось, что дети недавно перенесли НКИ или были в контакте с больным COVID-19 [10].

В начале пандемии ввиду высокой заболеваемости этой инфекцией для диагностики МВС-Д было достаточно указания на контакт с больным COVID-19 за четыре недели, предшествовавшие развитию симптоматики, в качестве одного из критериев. Между тем, на сегодняшний день требуются дополнительные данные для установления связи между МВС-Д и перенесенной НКИ, что объясняется целым рядом причин. Во-первых, по прошествии трех лет с начала пандемии IgG к SARS-CoV-2 имеют более 80% населения; IgM угасают в течение 3–4 недель с момента инфицирования и в большинстве случаев не обнаруживаются в разгар МВС-Д, поэтому в данном случае серологический метод не показателен [11].

Во-вторых, число случаев COVID-19 снижается, НКИ приобретает характер сезонной респираторной инфекции, встраиваясь в структуру многочисленных вирусных инфекций, проявляющихся поражением дыхательных путей. В повседневной практике этиологическая расшифровка неосложненных острых респираторных инфекций проводится крайне редко, особенно в амбулаторной практике, что объясняется как экономическими соображениями, так и незначительным влиянием результатов на терапевтическую тактику. В связи с этим пациентов все реже обследуют на наличие SARS-CoV-2.

В-третьих, по клиническим проявлениям МВС-Д схож с другими заболеваниями, характеризующимися выраженным воспалительным ответом (синдромом стафилококкового или стрептококкового токсического шока, гемофагочитарным синдромом, синдромом Кавасаки (СК), бактериальным сепсисом и др.), что затрудняет диагностику синдрома [12, 13]. До пандемии

в литературе встречались описания случаев вирусной инфекции (аденовирус, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр), протекающей по типу мультисистемного воспалительного синдрома, однако патогенез данного состояния также до конца не изучен. Это привело к спорам в научном сообществе о роли других инфекционных агентов в развитии МВС-Д [14–16].

Исследователи высказали предположение о роли дополнительного инфекционного агента в реализации МВС-Д [17]. Авторы работы рассмотрели вероятность того, что у ранее перенесшего НКИ пациента роль триггера сыграл дополнительный инфекционный агент. Суперинфекция может спровоцировать острый воспалительный эпизод МВС-Д. И, хотя признаков реактивации вирусов герпеса или признаков продолжающейся вирусной или бактериальной инфекции в периферической крови у пациентов, принявших участие в исследовании, обнаружено не было, эта теория также требует дальнейшего изучения.

Понимание причин развития МВС-Д необходимо для разработки оптимальной тактики терапевтических мероприятий у пациентов с данной патологией. Несмотря на сходство симптоматики, лечение МВС-Д кардинально отличается от терапии ряда патологических состояний (в том числе сепсиса), с которыми наиболее часто приходится проводить дифференциальную диагностику. Исключение значимых для развития синдрома бактериальных патогенов позволяет отказаться от антибактериальной терапии; симптомы купируются после введения высокодозных внутривенных иммуноглобулинов, системных глюкокортикостероидов и, в редких случаях, ингибиторов интерлейкина-6 (ИЛ6) и антагонистов рецепторов интерлейкина-1 (ИЛ1). Для профилактики развития тромботических осложнений, по аналогии с терапией СК, назначают ацетилсалициловую кислоту [8]. Несвоевременно поставленный диагноз ведет к задержке назначения необходимой терапии, что неблагоприятно отражается на исходах и прогнозе заболевания.

### Эпидемиология

В связи с тем что этиологическая диагностика МВС-Д затруднена, а клинически синдром не имеет патогномичных признаков и схож с другими характеризующимися выраженным воспалением заболеваниями, истинная заболеваемость МВС-Д в популяции скорее всего недооценена. Зарубежные исследования показали, что синдром встречается с частотой 2 на 100 000 человек в возрасте до 21 года [1] или менее чем у 1% детей, перенесших НКИ [2].

К 15 мая 2020 г. (в течение месяца после регистрации первого случая) в Европе и Великобритании было зарегистрировано 230 случаев МВС-Д, два из которых (по одному случаю в Великобритании и во Франции) закончились летальным исходом (0,87%) [18].

По данным, представленным на официальном сайте CDC по состоянию на 3 июля 2023 г., в США, зарегистрированы 9499 случаев МВС-Д, умерли 79 детей (0,83%). Частота выявления синдрома значительно варьировала от штата к штату. Наибольшее число случаев отмечено в штатах Калифорния (более 800) и Техас (600–800). Около 46% пациентов были детьми в возрасте 5–11 лет, среди них преобладали мальчики (60%). Около 57% пациентов имели латиноамериканское происхождение (2358 детей) или были афроамериканцами нелатиноамериканского происхождения (2720 человек) [8].

Агентством общественного здравоохранения Канады в период с 11 марта 2020 г. по 2 октября 2021 г. было зарегистрировано 269 случаев МВС-Д. Только у 142 человек (53%) была эпидемиологически или лабораторно подтверждена связь с переносенной НКИ. Средний возраст пациентов составил 6 лет, преобладали мальчики (58%). Госпитализация в ОРИТ потребовалась 36% пациентов [19].

По мере выявления различных вариантов SARS-CoV-2 стали появляться данные о связи конкретного варианта вируса с частотой регистрации МВС-Д. По данным CDC, наибольшее число случаев в США отмечено с октября 2020 г. по май 2021 г., вслед за подъемом заболеваемости НКИ, вызванной вариантом «альфа». Вторая «волна» МВС-Д пришлась на сентябрь–ноябрь 2021 г. в период циркуляции варианта «дельта», третья имела место с декабря 2021 г. по март 2022 г., сразу после пика заболеваемости, вызванного вариантом «омикрон». С февраля 2023 г. регистрируют единичные случаи МВС-Д [8].

Исследования, проведенные в Канаде, также выявили несколько пиков заболеваемости: пик в мае 2020 г., связанный с уханьским вариантом, и две волны, с ноября 2020 г. по март 2021 г. и в мае 2021 г., обусловленные вариантом «альфа» [18].

Сравнительный анализ заболеваемости МВС-Д в Великобритании, проведенный группой исследователей [20], показал, что по сравнению с волной, вызванной вариантом «альфа», число случаев заболевания, вызванных вариантом «дельта», было на 56% ниже до введения массовой вакцинации и на 66% ниже после начала массовой вакцинации; при этом число случаев, вызванных вариантом «омикрон», было на 95% ниже.

Схожие данные были получены в Австралии. Сеть активного усиленного эпиднадзора за педиатрическими заболеваниями Австралии (Paediatric Active Enhanced Disease Surveillance network, PAEDS) выявила всего 95 случаев МВС-Д в период с 1 мая 2020 г. по 30 апреля 2022 г. В Новом Южном Уэльсе, Квинсленде и Виктории было зарегистрировано 10 (3–26) случаев МВС-Д на 10 000 обращений в период до появления варианта «дельта» (4 случая), 5 (4–7) случаев на 10 000 обращений — в период циркуляции варианта «дельта» (30 случаев) и 0,8 (0–1) случая на 10 000 обращений — в период циркуляции вариант «омикрон» (61 случай) [21, 22].

Зависимость частоты МВС-Д от пиков заболеваемости НКИ косвенно свидетельствует в пользу этиологической роли SARS-CoV-2 в патогенезе синдрома, а риск развития синдрома, вероятно, связан с его генетическим вариантом.

Официальных данных о частоте МВС-Д в России нет. Большинство отечественных публикаций представляют собой описания клинических случаев и обзорные статьи [23–25]. Представлен анализ данных 122 детей с МВС-Д в возрасте 8,9 (5,3; 11,8) лет, больше половины из которых были мальчиками (56,6%). В ОРИТ были госпитализированы 45,1% пациентов [26].

## Патогенез

Объяснению механизмов развития МВС-Д посвящены многочисленные исследования. Из-за клинического сходства МВС-Д с СК, синдромом активации макрофагов и синдромом высвобождения цитокинов в начале пандемии было высказано предположение, что МВС-Д возникает в результате гипериммунного ответа на вирус, как и при вышеперечисленных состояниях. Однако на

сегодняшний день большинство исследователей склоняются к мнению, что МВС-Д имеет отличный от указанных состояний механизм развития [7, 12, 18, 27].

В настоящее время обсуждают несколько теорий патогенеза МВС-Д, среди которых наиболее популярны следующие: нарушения врожденного иммунного ответа на инфекцию; аутоиммунный ответ, возникающий в результате перекрестной реакции между вирусными антигенами и антигенами хозяина; ответ на продолжающуюся репликацию вируса в нераспознанных вирусных резервуарах; теория суперантигена; антителозависимое усиление инфекции (АЗУ). Не исключают также влияние генетической или эпигенетической предрасположенности. В действительности наиболее вероятно, что одновременно имеют место нескольких механизмов развития МВС-Д [28–31].

Одной из самых первых гипотез патогенеза МВС-Д была теория АЗУ при инфицировании SARS-CoV-2. В связи с тем что частота выявления специфичных антител к SARS-CoV-2 выше частоты обнаружения РНК вируса методом ПЦР, было выдвинуто предположение о том, что антитела к SARS-CoV-2 могут быть одним из триггеров заболевания. После первоначального контакта с новым коронавирусом вырабатываются ненейтрализующие антитела (нАТ). Поскольку некоторые нАТ нацелены на определенные участки шиповидного белка вируса (S-белка), МВС-Д может развиваться по сценарию синдрома АЗУ, который приводит к репликации вируса в макрофагах и разрушению большого количества человеческих клеток (рис. 1).

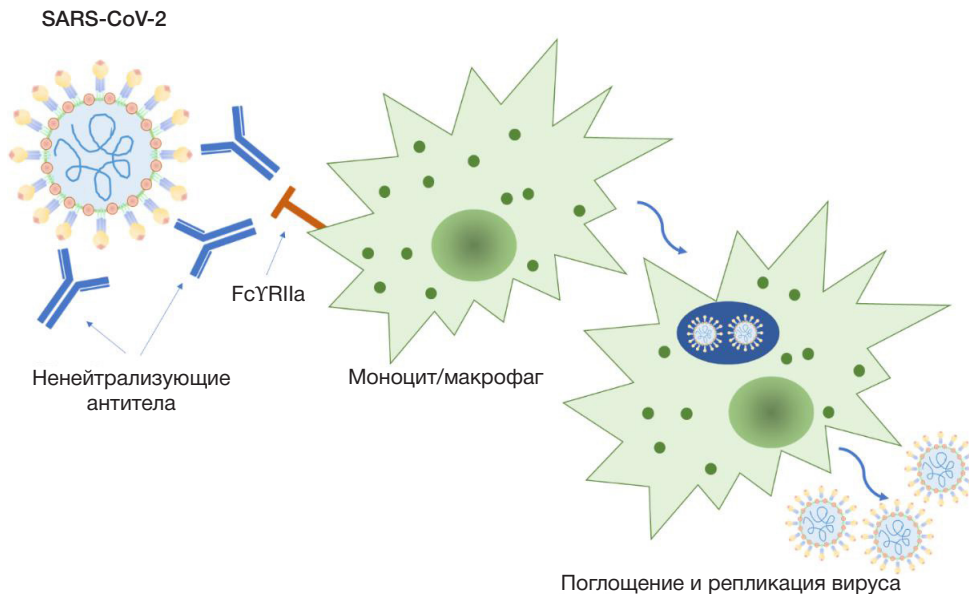
После связывания с Fc-рецепторами макрофага комплексы вирус-антитело оседают в тканях, а после дальнейшей активации комплемента — приводят к нарушению регуляции иммунного ответа и увеличению секреции цитокинов. Активная выработка медиаторов воспаления способствует повышению проницаемости сосудов, развитию лихорадки, шока и серьезных полиорганных повреждений (рис. 2).

Между тем, по мере накопления данных о SARS-CoV-2 было установлено, что вирус не инфицирует макрофаги, поэтому тип АЗУ с участием Fc-рецепторов маловероятен, а нАТ с низкой аффинностью образуются в небольшом количестве, плохо распознают вирус и не связываются с ним [28, 33, 34].

Гипотеза о роли суперантигенов основана на том, что МВС-Д имеет клиническое сходство с синдромом токсического шока, причиной которого являются экзо- и эндотоксины бактерий. Суперантиген способен вызывать неспецифическую активацию большого количества Т-лимфоцитов, которые, в свою очередь, также вырабатывают провоспалительные цитокины и хемокины, инициируя аутоиммунное воспаление. Было обнаружено высокое сходство субъединицы 1 (S1) шиповидного белка SARS-CoV-2 (отвечает за связывание вируса с рецептором клетки хозяина) и фрагмента стафилококкового энтеротоксина типа В, который является суперантигеном (рис. 3). Исследования образцов периферической крови пациентов с МВС-Д методом иммуносеквенирования выявили наличие экспансии гена *TRBV11-2*, коррелирующей с тяжестью МВС-Д и уровнями цитокинов в сыворотке крови, что согласуется с особенностями иммунного ответа, вызванного суперантигеном. В пользу данной теории также говорят длительная персистенция SARS-CoV-2 в кишечнике пациентов с МВС-Д и циркуляция субъединиц S1 белка вируса [35, 36].

Показано, что длительное присутствие SARS-CoV-2 в желудочно-кишечном тракте детей с МВС-Д приводило





**Рис. 1.** Схематичное представление антителозависимого усиления инфекции: связывание SARS-CoV-2 нейтрализующими антителами → представление вируса клетке → поглощение вируса моноцитом/макрофагом → репликация вируса внутри клетки → высвобождение копий SARS-CoV-2. Адаптировано из [32]

к высвобождению зонулина (биомаркера кишечной проницаемости) с последующим попаданием антигенов SARS-CoV-2 в кровотоки и развитием гипервоспаления [37]. Полученные авторами данные согласуются с результатами других исследований: генетические факторы (экспансия и активация гена *TRBV11-2\**) изменяют разнообразие рецепторного состава Т-клеток детей с МБС-Д, которые, в свою очередь, могут быть индуцированы суперантигеном [38, 39].

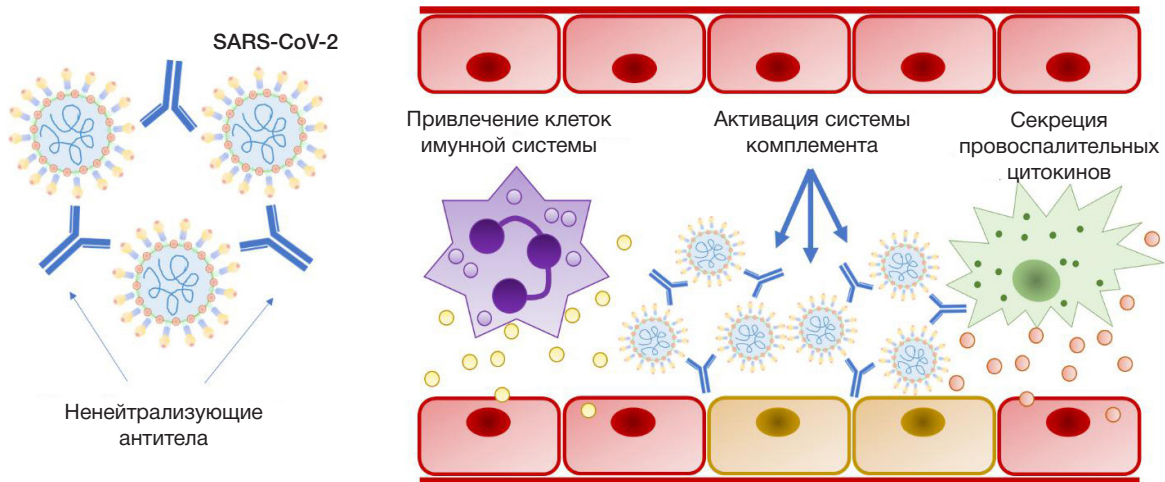
Генетический анализ показал, что у пациентов с МБС-Д наблюдалось обогащение редких патологических вариантов, влияющих на воспалительные и аутоиммунные пути, включая доминантно-негативные мутации в регуляторах Notch1 NUMB и NUMBL, приводящие к усилению регуляции Notch1 [40]. Передача сигналов Notch1 в Tregs индуцировала CD22, приводя к их дестабилизации mTORC1-зависимым образом и к усилению системного воспаления.

Доказано, что при СК вирус может выступать в роли триггера, связываясь с антителами и образуя иммунные комплексы, которые оседают на стенках сосудов и вызывают воспалительный ответ посредством связывания с Fc-рецепторами или активации системы комплемента. За этот процесс отвечают гены, вовлеченные в выработку антигенов (*FCGR2A*, ген лимфоидной тирозинкиназы и ген лиганда CD40). За клеточный ответ при СК отвечает ген инозитол-1,4,5-трисфосфат-3-киназы C (ITPKC), регулирующей активацию клеток. Похожие механизмы могут присутствовать в патогенезе МБС-Д [41]. Группой исследователей [42], поставивших себе цель найти различия и уточнить патогенетические особенности заболеваний, были проанализированы три группы пациентов (всего 20 человек) — с МБС-Д ( $n = 6$ ), легкой и тяжелой формой НКИ ( $n = 5$  и  $n = 9$  соответственно). Авторы определяли профили цитокинов (ИФН $\gamma$ , ИЛ10, ИЛ6, ИЛ8 и ФНО $\alpha$ ), уровни растворимого комплекса комплемента C5b-9, а также изучали количество шизоцитов в мазке периферической крови с учетом клинических данных. Результаты анализа показали, что сумма уровней ФНО $\alpha$  и ИЛ10 была значительно выше у пациентов с МБС-Д, чем у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Повышение уровня этих

цитокинов косвенно указывает на нарушение функции врожденного иммунитета. В обсуждении авторы отмечают, что при СК имеет место умеренное повышение уровня ИЛ1, ИЛ2 и ИЛ6. Однако уровень ФНО $\alpha$ , по-видимому, играет ключевую роль в патогенезе как МБС-Д, так и СК. Уровень растворимого комплекса комплемента C5b-9 был значительно выше у детей с тяжелой формой COVID-19, несколько ниже у пациентов с МБС-Д и оставался в пределах нормы у пациентов с легкой формой COVID-19. В мазках периферической крови шизоциты определялись у 67% человек с легкой формой COVID-19, 80% пациентов с тяжелой формой COVID-19 и 100% пациентов с МБС-Д. Повышение уровня растворимого комплекса комплемента C5b-9 свидетельствует о наличии в патогенезе МБС-Д сосудистого повреждения [42].

Цитокины и хемокины играют жизненно важную роль в инициации, пролонгации и подавлении иммунного ответа при любой инфекции, в том числе и при COVID-19. Проведенные исследования свидетельствуют о повышении уровня ИЛ6 в крови у больных с тяжелым МБС-Д, однако без превышения показателей, которые регистрируют у детей с сепсисом. Помимо ИЛ1 и ИЛ8, уровень которых незначительно повышен при МБС-Д по сравнению с СК, при МБС-Д наблюдается значительное повышение выработки ФНО $\alpha$ , ИФН $\gamma$  и ИЛ10 по сравнению с СК. Медиатор воспаления ИЛ17 играет более заметную роль в патогенезе СК, чем МБС-Д. Важно отметить, что уровни цитокинов и хемокинов могут значительно различаться в исследованиях, в которых используются разные соотношения возрастных когорт, сроки отбора проб или методы диагностики [43–47].

Известно, что повышение уровня аутоантител характерно для различных аутоиммунных и воспалительных заболеваний, оно также возникает в ответ на некоторые вирусные инфекции. Исследования [48] выявили повышенный уровень аутоантител у пациентов с МБС-Д. Три аутоантигена были идентифицированы как связанные с МБС-Д: UBE3A, ECE1 и RBM38. Еще восемь аутоантигенов ранее были описаны и при других заболеваниях (ATP4A, TROVE2 двух типов, KLHL12, FAM84A, НК1, MAOA и CTRP1). Авторы обнаружили тканеспецифические аутоантигены



**Рис. 2.** Схематичное представление антителозависимого усиления инфекции: связывание SARS-CoV-2 ненейтрализующими антителами → образование иммунных комплексов и оседание их в тканях → развитие гипериммунной реакции. Адаптировано из [32]

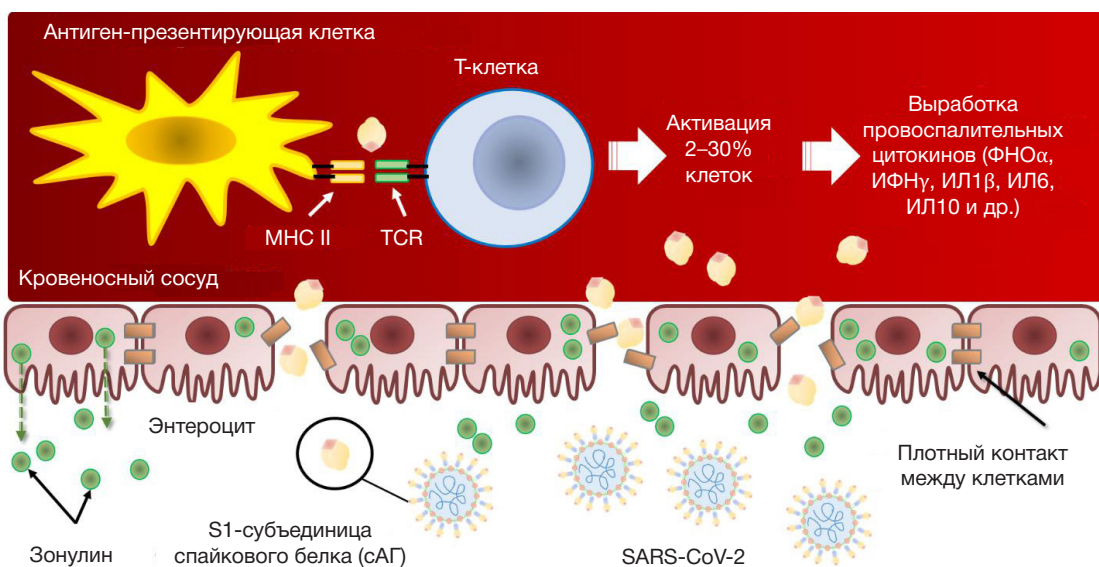
в таких органах, как кишечник, сердце, эндотелий и скелетные мышцы, что объясняет клинические симптомы со стороны этих органов при МВС-Д.

Одним из основных органов-мишеней при МВС-Д является сердечно-сосудистая система. У пациентов наблюдаются поражения сердца в виде вальвулита, расширения и аневризм коронарных артерий, дисфункции миокарда и фульминантного миокардита. Исследователи высказывают различные предположения, объясняющие частоту кардиального поражения. Так, повреждение миокарда, вероятнее всего, возникает в результате связывания вируса с рецепторами АПФ-2, расположенными на эндотелиальных клетках артерий и вен, и непосредственного вирусного поражения кардиомиоцитов [49–51]. Помимо этого, высвобождение воспалительных цитокинов также способствует разрушению сосудистого матрикса и потере структурной целостности сосудов, приводя к расширению коронарных артерий и образованию аневризм [43]. Патологоанатомические исследования аутопсийного материала больных МВС-Д подтверждают наличие воспалительных инфильтративных изменений в миокарде и демонстрируют высокую вирусную нагрузку

в сердечной мышце больных [52, 53]. Коллектив авторов [54] проанализировал результаты МРТ сердца у четырех больных с МВС-Д с вовлечением сердечно-сосудистой системы и обнаружил диффузный отек миокарда без признаков, указывающих на замещающий фиброз или очаговый некроз.

**Вакцинация против COVID-19 и МВС-Д**

Пристальное внимание уделяют вероятности развития МВС-Д после вакцинации от COVID-19 из-за появления отдельных сообщений о развитии синдрома после вакцинации против НКИ. В публикации [55] сообщают о двух случаях МВС-Д, развившегося после введения вакцины BNT162b2 (на основе мРНК, кодирующей шиповидный белок SARS-CoV-2), в штате Виргиния (США). У 15-летней девочки клиника заболевания развилась через шесть дней после прививки, однако в дальнейшем у нее была подтверждена НКИ в анамнезе (методом ПЦР вирус выделен не был, однако были обнаружены специфические антитела (IgG) к нуклеокапсидному белку SARS-CoV-2, в то время как антител к S-белку выявлено не было). Вторым пациентом была



**Рис. 3.** Схематичное представление теории суперантигена как патогенеза МВС-Д: персистенция SARS-CoV-2 в кишечнике → высвобождение зонулина → разрушение межклеточных контактов и повышение проницаемости кишечника → проникновение S1-субъединицы S-белка вируса в кровотоки (в роли суперантигена) → соединение молекул MHC II, расположенных на антигенпредставляющих клетках, с S1-субъединицей вируса и активация Т-лимфоцитов через TCR → развитие гипериммунной реакции. Изменено и адаптировано из [35, 37]

17-летняя девочка, у которой клиника МВС-Д развилась через семь дней после вакцинации. Новый коронавирус также не был выделен из отделяемого из носоглотки методом ПЦР. Имелись специфические антитела (IgG) к S-белку, а антитела к нуклеокапсидному белку не определялись, поэтому подтвердить или опровергнуть вероятность перенесенной ранее НКИ не представлялось возможным. Оба подростка получали терапию иммуноглобулином человека нормальным для внутривенного введения и системные глюкокортикостероиды и были выписаны из стационара здоровыми.

В Дании были проанализированы 52 случая МВС-Д у детей в возрасте от 0 до 17 лет за период с 1 августа 2021 г. по 1 февраля 2022 г. Из них один случай имел место у полностью вакцинированного подростка. У 17-летней девочки МВС-Д развился через четыре месяца после введения второй дозы вакцины BNT162b2 и через пять недель после подтвержденной прорывной инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Частота МВС-Д составила 1 на 3400 невакцинированных детей (95%-й ДИ: 2600–4600) и 1 на 9900 вакцинированных лиц (95%-й ДИ: 1800–390 000) [56].

Неясность механизмов развития МВС-Д, а также существование риска развития этого синдрома у привитых

детей привели к спорам в отношении разработки тактики вакцинации против SARS-CoV-2 пациентов с МВС-Д в анамнезе. В связи с этим было проведено международное исследование с участием 273 детей с МВС-Д в анамнезе из 32 стран. Не было зарегистрировано ни одного сообщения о повторных эпизодах МВС-Д или других серьезных побочных явлениях после вакцинации против SARS-CoV-2 у этой группы детей [57].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В то время как этиологическая роль SARS-CoV-2 в развитии МВС-Д практически не вызывает сомнений, все еще остается много нерешенных вопросов, касающихся патогенеза синдрома. В настоящее время продолжается работа по установлению роли иммунологических механизмов в развитии и течении МВС-Д, уточняют различные аспекты, связанные с врожденным и адаптивным звеньями иммунитета. Дальнейшие исследования патогенеза МВС-Д — необходимое условие оптимизации диагностических и терапевтических мероприятий, способствующих предотвращению тяжелых последствий этого заболевания.

## Литература

- Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ, Rosenthal EM, Muse A, Rowlands J, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. *N Engl J Med.* 2020; 383 (4): 347–58.
- Feldstein LR, Tenforde MW, Friedman KG, Newhams M, Rose EB, Dapul H, et al. Characteristics and outcomes of US children and adolescents with multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) compared with severe acute COVID-19. *Jama.* 2021; 325 (11): 1074–87.
- CDC [Internet]. Information for Healthcare Providers about Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) [cited 2023 Jul 29]. Available from: [https://www.cdc.gov/mis/MIS-C/hcp\\_cstecdc/index.html](https://www.cdc.gov/mis/MIS-C/hcp_cstecdc/index.html).
- Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet.* 2020; 395 (10237): 1607–8.
- Kunal S, Ish P, Sakthivel P, Malhotra N, Gupta K. The emerging threat of multisystem inflammatory syndrome in adults (MIS-A) in COVID-19: a systematic review. *Heart & Lung.* 2022; (54): 7–18.
- Shaiba LA, More K, Hadid A, Almaghrabi R, Al Marri M, Alnamnakani M, et al. Multisystemic inflammatory syndrome in neonates: a systematic review. *Neonatology.* 2022; 119 (4): 405–17.
- World Health Organization, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19: scientific brief. 2020 May 15. World Health Organization. 2020. Available from: [WHO/2019-nCoV/Sci\\_Brief/Multisystem\\_Syndrome\\_Children/2020.1](https://www.who.int/publications/m/item/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19).
- Методические рекомендации «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей. Версия 2 (03.07.2020)», утв. Минздравом России.
- CDC [Internet]. Health Department-Reported Cases of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) in the United States [cited 2023 Jul 29]. Available from: <https://www.cdc.gov/covid-data-tracker/#mis-national-surveillance>.
- Jiang L, Tang K, Levin M, Irfan O, Morris SK, Wilson K, et al. COVID-19 and multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20 (11): 276–88.
- Садыков М. Н., Зиатдинов В. Б., Решетникова И. Д., Хакимов Н. М., Лопушов Д. В., Исаева Г. Ш. Изучение уровня и структуры популяционного иммунитета к SARS-CoV2 у населения Республики Татарстан в период второго пика распространения COVID-19. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021; 20 (5): 39–51.
- Hoste L, Van Paemel R, Haerynck F. Multisystem inflammatory syndrome in children related to COVID-19: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2021; (180): 2019–34.
- Kostik MM, Bregel LV, Avrusin IS, Dondurei EA, Matyunova AE, Efremova OS, et al. Distinguishing between multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19 in children and the Kawasaki disease: development of preliminary criteria based on the data of the retrospective Multicenter Cohort Study. *Front Pediatr.* 2021; (9): 787353.
- Diwakar K, Sarangi T, Srivastava P, Tanti SK, Swaroop S. Human adenovirus infection causing hyperinflammatory syndrome mimicking multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C): a case report. *Cureus.* 2023; 15 (6): e40239.
- Fabi M, Dondi A, Andreozzi L, Frazzoni L, Biserni GB, Ghiazza F, et al. Kawasaki disease, multisystem inflammatory syndrome in children, and adenoviral infection: a scoring system to guide differential diagnosis. *Eur J Pediatr.* 2023 Aug 19. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00431-023-05142-6>.
- Spivack T, Chawla R, Marik PE. Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome mimicking severe sepsis. *J Emerg Trauma Shock.* 2008; 1 (2): 119–22.
- Ramaswamy A, Brodsky NN, Sumida TS, Comi M, Asashima H, Hoehn KB, et al. Immune dysregulation and autoreactivity correlate with disease severity in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *Immunity.* 2021; 54 (5): 1083–95.
- Rapid Risk Assessment. Paediatric inflammatory multisystem syndrome and SARS-CoV-2 infection in children. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020.
- El Tal T, Morin MP, Morris SK, Farrar DS, Berard RA, Kakkar F, et al. Paediatric inflammatory multisystem syndrome in Canada: population-based surveillance and role of SARS-CoV-2 linkage. *Pediatr Res.* 2023 Jun 5: 1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41390-023-02668-1>.
- Cohen JM, Carter MJ, Cheung CR, Ladhani S. Lower risk of multisystem inflammatory syndrome in children with the delta and omicron variants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clinical Infectious Diseases.* 2023; 76 (3): 518–21.
- Lopez L, Burgner D, Glover C, Carr J, Clark J, Boast A, et al.

- Lower risk of multi-system inflammatory syndrome in children (MIS-C) with the omicron variant. *Lancet Reg Health West Pac*. 2022; (27): 100604.
22. Lopez L, Burgner D, Glover C, Carr J, Clark J, Boast A, et al. Corrigendum to “Lower risk of multi-system inflammatory syndrome in children (MIS-C) with the omicron variant”. *Lancet Reg Health West Pac*. 2023; (35): 100808.
  23. Скударнов Е. В., Выходцева Г. И., Новикова Л. М., Малюга О. М., Киричюк Е. Ю., Скударнова А. П. и др. Клинико-лабораторные аспекты мультисистемного воспалительного синдрома, ассоциированного с COVID-19 у детей. *Бюллетень медицинской науки*. 2022; 2 (26): 61–6.
  24. Автандилян Л. Л., Федулова А. А., Паразян А. С., Арзуманян А. И., Гаджихмедова Э. И. Клинический случай: мультисистемный воспалительный синдром у детей, ассоциированный с COVID-19. *Universum: медицина и фармакология*. 2021; 6 (78): 7–11.
  25. Лобзин Ю. В., Вильниц А. А., Костик М. М., Бехтерева М. К., Усков А. Н., Скрипченко Н. В. и др. Педиатрический мультисистемный воспалительный синдром, ассоциированный с новой коронавирусной инфекцией: нерешенные проблемы. *Журнал инфектологии*. 2021; 13 (1): 13–20.
  26. Kostik MM, Bregel KV, Avrusin IS, Efreмова OS, Belozherov KE, Dondurei EA, et al. Heart involvement in multisystem inflammatory syndrome, associated with COVID-19 in children: the retrospective multicenter cohort data. *Front Pediatr*. 2022; (10): 829420.
  27. Lee PI, Hsueh PR. Multisystem inflammatory syndrome in children: A dysregulated autoimmune disorder following COVID-19. *J Microbiol Immunol Infect*. 2023; (56): 236–45.
  28. Filippatos F, Tatsi EB, Michos A. Immunology of multisystem inflammatory syndrome after COVID-19 in children: a review of the current evidence. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (6): 5711.
  29. Османов И. М., Херай И. М., Трунина И. И., Чеботарева Т. А., Чебуркин А. А., Шумилов, П. В. Иммунопатогенез мультисистемного воспалительного синдрома, связанного с COVID-19, у детей. *Иммунология*. 2022; 43 (2): 217–23.
  30. Дубровина Ю. А., Легонькова Т. И., Воднева Л. М., Штыкова О. Н., Шпаковская К. С., Мельникова В. М., Артёменкова Е. И. Мультисистемный воспалительный синдром у детей, перенесших COVID-19. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2022; 21 (3): 133–41.
  31. Хацук А. С., Романова К. Р., Самодова О. В. Мультисистемный воспалительный синдром, ассоциированный с SARS-CoV-2, у детей: этиопатогенез, клиническая картина, диагностика, лечение (обзор). *Журнал медико-биологических исследований*. 2022; 10 (4): 371–9.
  32. Lee WS, Wheatley AK, Kent SJ, DeKosky BJ. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat Microbiol*. 2020; 5 (10): 1185–91.
  33. Katzelnick LC, Gresh L, Halloran ME, Mercado JC, Kuan G, Gordon A, et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans. *Science*. 2017; 358 (6365): 929–32.
  34. Khan S, Siddique R, Shereen MA, Ali A, Liu J, Bai Q, et al. Emergence of a novel coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: biology and therapeutic options. *J Clin Microbiol*. 2020; 58 (5): 00187-20.
  35. Noval Rivas M, Porritt RA, Cheng MH, Bahar I, Arditi M, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and long COVID: the SARS-CoV-2 viral superantigen hypothesis. *Front Immunol*. 2022; (13): 941009.
  36. Porritt RA, Paschold L, Rivas MN, Cheng MH, Yonker LM, Chandnani H, et al. HLA class I-associated expansion of TRBV11-2 T cells in multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2021; 131 (10): 146614.
  37. Yonker LM, Gilboa T, Ogata AF, Senussi Y, Lazarovits R, Boribong BP, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children is driven by zonulin-dependent loss of gut mucosal barrier. *J Clin Invest*. 2021; 131 (14): 149633.
  38. Moreews M, Le Gouge K, Khaldi-Plassart S, Pescarmona R, Mathieu AL, Malcus C, et al. Polyclonal expansion of TCR Vβ 21.3+ CD4+ and CD8+ T cells is a hallmark of multisystem inflammatory syndrome in children. *Sci Immunol*. 2021; 6 (59): eabh1516.
  39. Malik A, Tóth EN, Teng MS, Hurst J, Watt E, Wise L, et al. Distorted TCR repertoires define multisystem inflammatory syndrome in children. *PLoS One*. 2022; 17 (10): 274–89.
  40. Benamar M, Chen Q, Chou J, Julé AM, Boudra R, Contini P, et al. The Notch1/CD22 signaling axis disrupts Treg function in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2023; 133 (1): 163235.
  41. Khor CC, Davila S, Breunis WB, Lee YC, Shimizu C, Wright VJ, et al. Genome-wide association study identifies FCGR2A as a susceptibility locus for Kawasaki disease. *Nat Genet*. 2011; 43 (12): 1241–6.
  42. Diorio C, Henrickson SE, Vella LA, McNeerney KO, Chase J, Burudpakdee C, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and COVID-19 are distinct presentations of SARS-CoV-2. *J Clin Invest*. 2020; 130 (11): 5967–75.
  43. Zou H, Lu J, Liu J, Wong JHY, Cheng S, Li Q, et al. Characteristics of pediatric multi-system inflammatory syndrome (PMIS) associated with COVID-19: a meta-analysis and insights into pathogenesis. *Int J Infect Dis*. 2021; (102): 319–26.
  44. Bautista-Rodriguez C, Sanchez-de-Toledo J, Clark BC, Herberg J, Bajolle F, Randanne PC, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: an international survey. *Pediatrics*. 2021; 147 (2): e2020024554.
  45. Sharma C, Ganigara M, Galeotti C, Burns J, Berganza FM, Hayes DA, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and Kawasaki disease: a critical comparison. *Nat Rev Rheumatol*. 2021; 17 (12): 731–48.
  46. Ouldali N, Pouletty M, Mariani P, Beyler C, Blachier A, Bonacorsi S, et al. Emergence of Kawasaki disease related to SARS-CoV-2 infection in an epicentre of the French COVID-19 epidemic: a time-series analysis. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020; 4 (9): 662–8.
  47. Consiglio CR, Cotugno N, Sardh F, Pou C, Amodio D, Rodriguez L, et al. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell*. 2020; 183 (4): 968-981.
  48. Porritt RA, Binek A, Paschold L, Rivas MN, McArdle A, Yonker LM, et al. The autoimmune signature of hyperinflammatory multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2021; 131 (20): e151520.
  49. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020; 181 (2): 271–80.
  50. Zhou T, Tsybovsky Y, Gorman J, Rapp M, Cerutti G, Chuang GY, et al. Cryo-EM structures of SARS-CoV-2 spike without and with ACE2 reveal a pH-dependent switch to mediate endosomal positioning of receptor-binding domains. *Cell host & microbe*. 2020; 28 (6): 867–79.
  51. Shikov AE, Barbitoff YA, Glotov AS, Danilova MM, Tonyan ZN, Nasykhova YA, et al. Analysis of the spectrum of ACE2 variation suggests a possible influence of rare and common variants on susceptibility to COVID-19 and severity of outcome. *Front Genet*. 2020; (11): 551220.
  52. Zhao Y, Patel J, Huang Y, Yin L, Tang L. Cardiac markers of multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) in COVID-19 patients: a meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2021; (49): 62–70.
  53. Ahmed M, Advani S, Moreira A, Zoretic S, Martinez J, Chorath K, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: a systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020; (26):100527.
  54. Blondiaux E, Parisot P, Redheuil A, Tzaroukian L, Levy Y, Sileo C, et al. Cardiac MRI in children with multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19. *Radiology*. 2020; 297 (3): 283–8.
  55. Jain E, Donowitz JR, Aarons E, Marshall BC, Miller MP, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children after SARS-CoV-2 vaccination. *Emerging Infectious Diseases*. 2022; 28 (5): 990–3.
  56. Nygaard U, Holm M, Hartling UB, Glenhøj J, Schmidt LS, Nordly SB, et al. Incidence and clinical phenotype of multisystem inflammatory syndrome in children after infection with the SARS-CoV-2 delta variant by vaccination status: a Danish nationwide prospective cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022; 6

(7): 459–65.

57. Hoste L, Soriano-Arandes A, Buddingh EP, Whittaker E, Belot A, Ulloa-Gutierrez R, et al. Severe acute respiratory syndrome

coronavirus 2 vaccination in children with a history of multisystem inflammatory syndrome in children: an international survey. *J Pediatr.* 2022; (248): 114–18.

## References

- Dufort EM, Koumans EH, Chow EJ, Rosenthal EM, Muse A, Rowlands J, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. *N Engl J Med.* 2020; 383 (4): 347–58.
- Feldstein LR, Tenforde MW, Friedman KG, Newhams M, Rose EB, Dapul H, et al. Characteristics and outcomes of US children and adolescents with multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) compared with severe acute COVID-19. *Jama.* 2021; 325 (11): 1074–87.
- CDC [Internet]. Information for Healthcare Providers about Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) [cited 2023 Jul 29]. Available from: [https://www.cdc.gov/mis/MIS-C/hcp\\_cstecdc/index.html](https://www.cdc.gov/mis/MIS-C/hcp_cstecdc/index.html).
- Riphagen S, Gomez X, Gonzalez-Martinez C, Wilkinson N, Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet.* 2020; 395 (10237): 1607–8.
- Kunal S, Ish P, Sakthivel P, Malhotra N, Gupta K. The emerging threat of multisystem inflammatory syndrome in adults (MIS-A) in COVID-19: a systematic review. *Heart & Lung.* 2022; (54): 7–18.
- Shaiba LA, More K, Hadid A, Almaghrabi R, Al Marri M, Alnamnakani M, et al. Multisystemic inflammatory syndrome in neonates: a systematic review. *Neonatology.* 2022; 119 (4): 405–17.
- World Health Organization, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19: scientific brief. 2020 May 15. World Health Organization. 2020. Available from: [WHO/2019-nCoV/Sci\\_Brief/Multisystem\\_Syndrome\\_Children/2020.1](https://www.who.int/publications/m/item/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19).
- Metodicheskie rekomendacii "Osobennosti klinicheskikh pojavlenij i lechenija zabojevanija, vyzvannogo novoj koronavirusnoj infekciej (COVID-19) u detej. Versija 2 (03.07.2020)", utv. Minzdravom Rossii. Russian.
- CDC [Internet]. Health Department-Reported Cases of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) in the United States [cited 2023 Jul 29]. Available from: <https://www.cdc.gov/covid-data-tracker/#mis-national-surveillance>.
- Jiang L, Tang K, Levin M, Irfan O, Morris SK, Wilson K, et al. COVID-19 and multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20 (11): 276–88.
- Sadykov MN, Ziatdinov VB, Reshetnikova ID, Hakimov NM, Lopushov DV, Isaeva GSh. Izuchenie urovnja i struktury populacionnogo immuniteta k SARS-CoV2 u naselenija Respubliki Tatarstan v period vtorogo pika rasprostraneniya COVID-19. *Jepidemiologija i vakcinoproflaktika.* 2021; 20 (5): 39–51. Russian.
- Hoste L, Van Paemel R, Haerynck F. Multisystem inflammatory syndrome in children related to COVID-19: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2021; (180): 2019–34.
- Kostik MM, Bregel LV, Avrusin IS, Dondurei EA, Matyunova AE, Efremova OS, et al. Distinguishing between multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19 in children and the Kawasaki disease: development of preliminary criteria based on the data of the retrospective Multicenter Cohort Study. *Front Pediatr.* 2021; (9): 787353.
- Diwakar K, Sarangi T, Srivastava P, Tanti SK, Swaroor S. Human adenovirus infection causing hyperinflammatory syndrome mimicking multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C): a case report. *Cureus.* 2023; 15 (6): e40239.
- Fabi M, Dondi A, Andreozzi L, Frazzoni L, Biserni GB, Ghiazza F, et al. Kawasaki disease, multisystem inflammatory syndrome in children, and adenoviral infection: a scoring system to guide differential diagnosis. *Eur J Pediatr.* 2023 Aug 19. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00431-023-05142-6>.
- Spivack T, Chawla R, Marik PE. Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome mimicking severe sepsis. *J Emerg Trauma Shock.* 2008; 1 (2): 119–22.
- Ramaswamy A, Brodsky NN, Sumida TS, Comi M, Asashima H, Hoehn KB, et al. Immune dysregulation and autoreactivity correlate with disease severity in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *Immunity.* 2021; 54 (5): 1083–95.
- Rapid Risk Assessment. Paediatric inflammatory multisystem syndrome and SARS-CoV-2 infection in children. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020.
- El Tal T, Morin MP, Morris SK, Farrar DS, Berard RA, Kakkar F, et al. Paediatric inflammatory multisystem syndrome in Canada: population-based surveillance and role of SARS-CoV-2 linkage. *Pediatr Res.* 2023 Jun 5: 1–10. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41390-023-02668-1>.
- Cohen JM, Carter MJ, Cheung CR, Ladhani S. Lower risk of multisystem inflammatory syndrome in children with the delta and omicron variants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clinical Infectious Diseases.* 2023; 76 (3): 518–21.
- Lopez L, Burgner D, Glover C, Carr J, Clark J, Boast A, et al. Lower risk of multi-system inflammatory syndrome in children (MIS-C) with the omicron variant. *Lancet Reg Health West Pac.* 2022; (27): 100604.
- Lopez L, Burgner D, Glover C, Carr J, Clark J, Boast A, et al. Corrigendum to "Lower risk of multi-system inflammatory syndrome in children (MIS-C) with the omicron variant". *Lancet Reg Health West Pac.* 2023; (35): 100808.
- Skudarnov EV, Vyhodceva GI, Novikova LM, Maljuga OM, Kirichjok EJu, Skudarnova AP, et al. Kliniko-laboratornye aspekty mul'tisistemnogo vospalitel'nogo sindroma, associirovannogo s COVID-19 u detej. *Bjulleten' medicinskoj nauki.* 2022; 2 (26): 61–6. Russian.
- Avtandiljan LL, Fedulova AA, Parazjan AS, Arzumanjan AI, Gadzhiahmedova Jel. Klinicheskij sluchaj: mul'tisistemnyj vospalitel'nyj sindrom u detej, associirovannyj s COVID-19. *Universum: medicina i farmakologija.* 2021; 6 (78): 7–11. Russian.
- Lobzin JuV, Vilnic AA, Kostik MM, Behtereva MK, Uskov AN, Skripchenko NV, et al. Pediatricheskij mul'tisistemnyj vospalitel'nyj sindrom, associirovannyj s novoj koronavirusnoj infekciej: nereshennye problemy. *Zhurnal infektologii.* 2021; 13 (1): 13–20. Russian.
- Kostik MM, Bregel LV, Avrusin IS, Efremova OS, Belozeroz KE, Dondurei EA, et al. Heart involvement in multisystem inflammatory syndrome, associated with COVID-19 in children: the retrospective multicenter cohort data. *Front Pediatr.* 2022; (10): 829420.
- Lee PI, Hsueh PR. Multisystem inflammatory syndrome in children: A dysregulated autoimmune disorder following COVID-19. *J Microbiol Immunol Infect.* 2023; (56): 236–45.
- Filippatos F, Tatsi EB, Michos A. Immunology of multisystem inflammatory syndrome after COVID-19 in children: a review of the current evidence. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (6): 5711.
- Osmanov IM, Hegaj IM, Trunina II, Chebotareva TA, Cheburkin AA, Shumilov PV. Immunopatogenez mul'tisistemnogo vospalitel'nogo sindroma, svjazannogo s COVID-19, u detej. *Immunologija.* 2022; 43 (2): 217–23. Russian.
- Dubrovina JuA, Legonkova TI, Vodneva LM, Shtykova ON, Shpakovskaja KS, Melnikova VM, Artjomenkova EI. Mul'tisistemnyj vospalitel'nyj sindrom u detej, perenessih COVID-19. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* 2022; 21 (3): 133–41. Russian.
- Hacuk AS, Romanova KR, Samodova OV. Mul'tisistemnyj vospalitel'nyj sindrom, associirovannyj s SARS-CoV-2, u detej: jetiopatogenez, klinicheskaja kartina, diagnostika, lechenie (obzor). *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovanij.* 2022; 10 (4): 371–9. Russian.
- Lee WS, Wheatley AK, Kent SJ, DeKosky BJ. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat Microbiol.* 2020; 5 (10): 1185–91.
- Katzelnick LC, Gresh L, Halloran ME, Mercado JC, Kuan G,

- Gordon A, et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans. *Science*. 2017; 358 (6365): 929–32.
34. Khan S, Siddique R, Shereen MA, Ali A, Liu J, Bai Q, et al. Emergence of a novel coronavirus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: biology and therapeutic options. *J Clin Microbiol*. 2020; 58 (5): 00187-20.
  35. Noval Rivas M, Porritt RA, Cheng MH, Bahar I, Arditi M, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and long COVID: the SARS-CoV-2 viral superantigen hypothesis. *Front Immunol*. 2022; (13): 941009.
  36. Porritt RA, Paschold L, Rivas MN, Cheng MH, Yonker LM, Chandnani H, et al. HLA class I-associated expansion of TRBV11-2 T cells in multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2021; 131 (10): 146614.
  37. Yonker LM, Gilboa T, Ogata AF, Senussi Y, Lazarovits R, Boribong BP, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children is driven by zonulin-dependent loss of gut mucosal barrier. *J Clin Invest*. 2021; 131 (14): 149633.
  38. Moreews M, Le Gouge K, Khaldi-Plassart S, Pescarmona R, Mathieu AL, Malcus C, et al. Polyclonal expansion of TCR V $\beta$  21.3+ CD4+ and CD8+ T cells is a hallmark of multisystem inflammatory syndrome in children. *Sci Immunol*. 2021; 6 (59): eabh1516.
  39. Malik A, Tóth EN, Teng MS, Hurst J, Watt E, Wise L, et al. Distorted TCR repertoires define multisystem inflammatory syndrome in children. *PLoS One*. 2022; 17 (10): 274–89.
  40. Benamar M, Chen Q, Chou J, Julé AM, Boudra R, Contini P, et al. The Notch1/CD22 signaling axis disrupts Treg function in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2023; 133 (1): 163235.
  41. Khor CC, Davila S, Breunis WB, Lee YC, Shimizu C, Wright VJ, et al. Genome-wide association study identifies FCGR2A as a susceptibility locus for Kawasaki disease. *Nat Genet*. 2011; 43 (12): 1241–6.
  42. Diorio C, Henrickson SE, Vella LA, McNerney KO, Chase J, Burudpakdee C, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and COVID-19 are distinct presentations of SARS-CoV-2. *J Clin Invest*. 2020; 130 (11): 5967–75.
  43. Zou H, Lu J, Liu J, Wong JHY, Cheng S, Li Q, et al. Characteristics of pediatric multi-system inflammatory syndrome (PMIS) associated with COVID-19: a meta-analysis and insights into pathogenesis. *Int J Infect Dis*. 2021; (102): 319–26.
  44. Bautista-Rodriguez C, Sanchez-de-Toledo J, Clark BC, Herberg J, Bajolle F, Randanne PC, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: an international survey. *Pediatrics*. 2021; 147 (2): e2020024554.
  45. Sharma C, Ganigara M, Galeotti C, Burns J, Berganza FM, Hayes DA, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children and Kawasaki disease: a critical comparison. *Nat Rev Rheumatol*. 2021; 17 (12): 731–48.
  46. Ouldali N, Pouletty M, Mariani P, Beyler C, Blachier A, Bonacorsi S, et al. Emergence of Kawasaki disease related to SARS-CoV-2 infection in an epicentre of the French COVID-19 epidemic: a time-series analysis. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020; 4 (9): 662–8.
  47. Consiglio CR, Cotugno N, Sardu F, Pou C, Amodio D, Rodriguez L, et al. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell*. 2020; 183 (4): 968–981.
  48. Porritt RA, Binek A, Paschold L, Rivas MN, McArdle A, Yonker LM, et al. The autoimmune signature of hyperinflammatory multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2021; 131 (20): e151520.
  49. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020; 181 (2): 271–80.
  50. Zhou T, Tsybovsky Y, Gorman J, Rapp M, Cerutti G, Chuang GY, et al. Cryo-EM structures of SARS-CoV-2 spike without and with ACE2 reveal a pH-dependent switch to mediate endosomal positioning of receptor-binding domains. *Cell host & microbe*. 2020; 28 (6): 867–79.
  51. Shikov AE, Barbitoff YA, Glotov AS, Danilova MM, Tonyan ZN, Nasykhova YA, et al. Analysis of the spectrum of ACE2 variation suggests a possible influence of rare and common variants on susceptibility to COVID-19 and severity of outcome. *Front Genet*. 2020; (11): 551220.
  52. Zhao Y, Patel J, Huang Y, Yin L, Tang L. Cardiac markers of multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) in COVID-19 patients: a meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2021; (49): 62–70.
  53. Ahmed M, Advani S, Moreira A, Zoretic S, Martinez J, Chorath K, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: a systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020; (26):100527.
  54. Blondiaux E, Parisot P, Redheuil A, Tzaroukian L, Levy Y, Sileo C, et al. Cardiac MRI in children with multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19. *Radiology*. 2020; 297 (3): 283–8.
  55. Jain E, Donowitz JR, Aarons E, Marshall BC, Miller MP, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children after SARS-CoV-2 vaccination. *Emerging Infectious Diseases*. 2022; 28 (5): 990–3.
  56. Nygaard U, Holm M, Hartling UB, Glenthøj J, Schmidt LS, Nordly SB, et al. Incidence and clinical phenotype of multisystem inflammatory syndrome in children after infection with the SARS-CoV-2 delta variant by vaccination status: a Danish nationwide prospective cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022; 6 (7): 459–65.
  57. Hoste L, Soriano-Arandes A, Buddingh EP, Whittaker E, Belot A, Ulloa-Gutierrez R, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccination in children with a history of multisystem inflammatory syndrome in children: an international survey. *J Pediatr*. 2022; (248): 114–18.

## НАВИГАЦИОННАЯ ТРАНСКРАНИАЛЬНАЯ МАГНИТНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ: КРАТКИЙ ОБЗОР ТЕХНИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ

И. Ю. Земляков<sup>2</sup>✉, А. Ш. Буреев<sup>1,2</sup>, Е. В. Голобокова<sup>1,2</sup>, Д. С. Жданов<sup>1,2</sup>, Я. В. Костелей<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

<sup>2</sup> Научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

В числе активно развивающихся методов клинической реабилитации больных после мозговых сосудистых катастроф особо выделяется транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС). Метод широко применяют не только для постинсультной реабилитации, но и в спортивной медицине, психиатрии и других областях медицины. При этом существует нерешенная проблема, связанная с четким наведением и удержанием фокуса магнитного поля при ТМС на точках интереса в головном мозге. Из-за нечеткой локализации фокуса магнитного поля возможно возникновение побочных воздействий во время сеанса ТМС. В обзоре представлены существующие варианты решения данных проблем, сопоставлены присутствующие на рынке устройства для навигации ТМС, проанализированы состав и алгоритмы их работы, предложены перспективные направления развития технического обеспечения навигации ТМС.

**Ключевые слова:** транскраниальная магнитная стимуляция, обзор технологии, медицинские роботы, нейровизуализация, позиционирование

**Финансирование:** результаты получены при выполнении государственного задания 84.007.22.800 «Создание и клиническая апробация экспериментального образца реабилитационного роботизированного аппаратно-программного комплекса с биологической обратной связью для коррекции двигательных нарушений у больных, перенесших инсульт».

**Благодарности:** заместителю генерального директора ФГБУ ФНКЦ МРИК ФМБА России Абдулкиной Н. Г. за поддержку научного коллектива; проректору по научной и инновационной деятельности НИ ТГУ Ворожцову А. Б. за помощь в развитии исследований в области медицинской робототехники.

**Вклад авторов:** И. Ю. Земляков — написание статьи, формулировка выводов и заключения; Д. С. Жданов — анализ экспериментальных разработок для систем нТМС; А. Ш. Буреев — анализ принципов построения и работы серийно выпускаемых комплексов нТМС; Я. В. Костелей — поиск информации о выпускаемых комплексах нТМС; Е. В. Голобокова — поиск информации о направлениях развития и разработках для систем нТМС.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ МРИК ФМБА России (протокол № 1 от 06 июля 2022 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Иван Юрьевич Земляков  
ул. Розы Люксембург, д. 1, г. Томск, 634009, Россия; i\_y\_zem@mail.ru

**Статья получена:** 03.08.2023 **Статья принята к печати:** 09.09.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.038

## NAVIGATED TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION: BRIEF REVIEW OF ENGINEERING SOLUTIONS

Zemlyakov IYu<sup>2</sup>✉, Bureev ASH<sup>1,2</sup>, Golobokova EV<sup>1,2</sup>, Zhdanov DS<sup>1,2</sup>, Kosteley YaV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Transcranial magnetic stimulation (TMS) stands out among the rapidly developing methods for clinical rehabilitation of patients after cerebral vascular accidents. The method is widely used not only in post-stroke rehabilitation, but also in sports medicine, psychiatry and other fields of medicine. However, there is an unresolved issue related to precise targeting and holding the magnetic field focus on the points of interest in the brain when performing TMS. Unprecise magnetic field focus localization may result in the emergence of side effects during the TMS session. The review provides the existing solutions of these problems, comparison of the commercially available navigation devices for TMS, analysis of their composition and operation algorithms; promising directions of developing hardware for TMS navigation are proposed.

**Keywords:** transcranial magnetic stimulation, technology overview, medical robots, neuroimaging, positioning

**Funding:** the study was performed as part of the State Assignment 84.007.22.800 "Construction and Clinical Approbation of Experimental Rehabilitation Robotic Hardware and Software Complex with Biological Feedback for Correction of Motor Deficits in Post-stroke Patients".

**Acknowledgments:** we would like to thank N.G. Abdulkina, Deputy General Director at the National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology of FMBA of Russia, for support of the research team; A.B. Vorozhtsov, Vice-Rector for Science and Innovation at the National Research Tomsk State University, for assistance with the development of research in the field of medical robotics.

**Author contribution:** Zemlyakov IYu — manuscript writing, drawing conclusions; Zhdanov DS — review of experimental design for nTMS systems; Bureev ASH — review of the principles of construction and performance of the commercially available nTMS complexes; Kosteley YaV — search for information about the available nTMS complexes; Golobokova EV — search for information about the directions of development and designs for nTMS systems.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology of FMBA of Russia (protocol № 1 of 6 July 2022).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ivan Yu. Zemlyakov  
Rosy Luxemburg, 1, Tomsk, 634009, Russia; i\_y\_zem@mail.ru

**Received:** 03.08.2023 **Accepted:** 09.09.2023 **Published online:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.038

Транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС) — активно развивающийся метод клинической нейромодуляции и реабилитации ишемических больных. В его основе лежит воздействие на ткани мозга короткими импульсами магнитного поля высокой интенсивности, до 4 Тл и более, генерируемого индукционным эффектором (индуктором

или койлом) [1, 2]. Это приводит к деполяризации нейронной мембраны и ее возбуждению [3]. В результате накопления и анализа клинических данных о результатах применения ТМС расширяется перечень доступных патологий, уточняются параметры ее использования для различных клинических ситуаций [2, 4]. Кроме того, ТМС

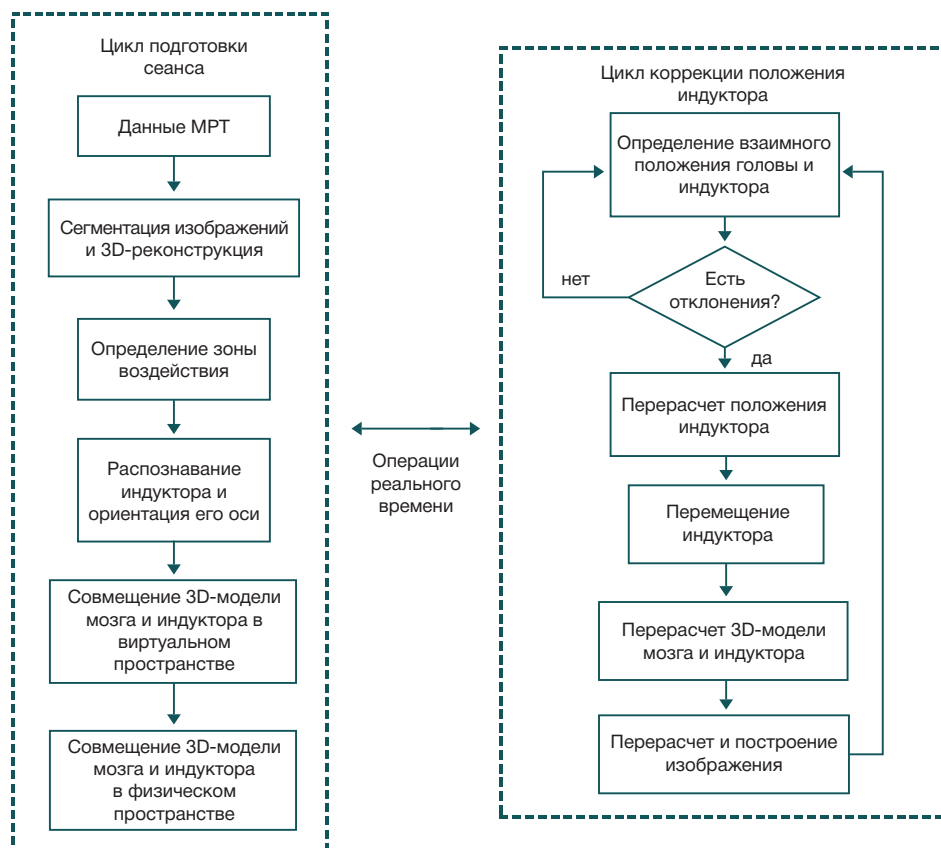


Рис. Алгоритм функционирования системы нТМС

используют в спортивной медицине как метод стимуляции двигательной системы [5], в психиатрии — при диагностике и лечении различных состояний и в других областях медицины [6]. Однако до сих пор имеется ряд не до конца решенных или спорных вопросов по локализации фокуса магнитного поля ТМС, желаемой силе воздействия и ряду других тем [5, 7].

Так, важной проблемой при картировании моторных зон методом ТМС является невозможность установки точного соотношения координат точки стимуляции с анатомическими образованиями центральной нервной системы [8]. Размер, форма головы, головного мозга и локализация анатомических структур индивидуальны. Это делает проблемным процесс установки индуктора относительно зоны стимуляции.

Индивидуальные вариации двигательных зон, согласно системе координат Таилараха, составляют 1,5–2 см; по отношению ко внешним ориентирам черепа они могут быть больше. Это утверждение также справедливо для расположения зоны Брока [9], т. е. индивидуальная макроанатомия головного мозга не может быть адекватно определена с помощью анатомического атласа и с использованием пропорциональных координатных сеток. Для решения проблемы позиционирования индуктора был предложен метод навигационной ТМС (нТМС), где пространственная ориентация индуктора устанавливается по результатам анализа данных магнитно-резонансной томографии (МРТ) [8, 10]. С помощью данного метода в существенной мере снимается проблема точного позиционирования койла при проведении терапевтической и/или диагностической ТМС.

Стандартным критерием для оценки эффективности действия ТМС на возбудимые структуры мозга является тест порога мобильного ответа, возникающего при

наименьшем уровне стимуляции и приводящего к сокращению соответствующих мышц. Показано, что даже небольшое смещение индуктора из оптимальной точки воздействия способно существенно снизить эффективность стимуляции [7, 8, 10, 11–13]. При этом любое серийное воздействие на пациента требует высокой воспроизводимости. Ручное удержание койла в заданном положении, с учетом его массогабаритных характеристик, при длительности сеанса 10 мин и более делает эти задачи практически невыполнимыми и они требуют технического исполнения [8, 10]. Однако анализ материалов в доступных базах данных и каталогах показал, что при многочисленности публикаций о клинических применениях нТМС данные о технических решениях метода, а также тенденции их развития малочисленны и фрагментарны. В представленном обзоре мы попытались обсудить имеющиеся решения и возможные перспективы развития метода нТМС с технической точки зрения.

### Основные принципы функционирования навигационной ТМС

Для совмещения положения точки воздействия в объеме мозга относительно характерных меток черепа, фокуса магнитного поля и пространственного положения индуктора самым действенным решением оказалось использование стереоскопической системы технического зрения, совмещенной с построением 3D-модели мозга по снимкам МРТ [14]. В основе работы этих авторов лежит трехмерное позиционирование индуктора с помощью стереоскопической видеосистемы относительно объемной модели мозга в единой сетке координат (рис. 1).

Для реализации этой схемы выполняют два блока процедур: первичный цикл подготовки сеанса нТМС и



повторяющийся цикл коррекции положения индуктора. Алгоритм первичного цикла показан в левой ветке (см. рис.) и состоит из следующих операций:

1) построение 3D-модели мозга. Для этого используют набор первичных изображений T1-взвешенной МРТ (T1W);

2) сегментация изображений МРТ и создание 3D-модели головного мозга пациента, при этом используют алгоритм BET [15]. Ложноположительные результаты автоматически удаляются, а ложноотрицательные добавляются в интерактивном режиме. Поверхность и структуры мозга реконструируются с использованием плоских контуров;

3) определение в объеме модели мозга зоны воздействия относительно черепа с учетом особенности фокусировки магнитного поля, а также расстояния от индуктора, дающего необходимую плотность магнитного поля;

4) распознавание и локализация головы пациента с помощью оптических меток или иным способом. Аналогичным образом распознаются локализация и положение катушки индуктора;

5) совмещение модели головного мозга, черепа и индуктора с ориентацией на область воздействия с помощью координатной сетки;

6) перемещение индуктора в исходную расчетную позицию в зависимости от положения головы пациента. Подготовка к сеансу нТМС закончена.

В реальных условиях необходимо учитывать изменение позы пациента и «уход» его головы из просчитанных координат. Исправление возникающих в этом случае ошибок в системе нТМС возлагается на программный модуль циклически повторяемой коррекции положения индуктора. Данный алгоритм показан в правой ветке (см. рис.) и состоит из следующих операций:

1) периодическое определение системой технического зрения положения индуктора и головы пациента и перерасчет текущих координат относительно исходных значений. Если расхождений между ними нет, никаких действий не предпринимается;

2) перерасчет координат и направления оси индуктора в случае возникновения несоответствия между начальным и текущим относительным положением индуктора и модели головного мозга для компенсации возникшей ошибки;

3) генерация сообщения о необходимости перемещения индуктора в новое положение;

4) контрольный перерасчет на соответствие нового положения индуктора относительно зоны воздействия;

5) перерасчет и вывод изображения в абсолютных координатах с новым расположением индуктора относительно смещения 3D-модели головного мозга.

Работоспособность приведенного алгоритма работы нТМС подтверждена экспериментами на фантомной модели человеческого черепа и данных МРТ головы здорового человека. Алгоритм показал тенденцию к гибкости, безопасности, точности и экономии времени [14]. В состав системы входили аппарат ТМС, электромиограф, электроэнцефалограф, штанга с индуктором и компьютеризированная навигационная система. Средние погрешности выбора координат обусловлены в основном ошибками снимков МРТ и по осям X, Y и Z они составляли 5 мм, 3 мм и 3 мм соответственно. Впоследствии этот подход был реализован в других моделях систем нТМС [16].

Показано, что ТМС-индуцированная электроэнцефалограмма (ЭЭГ) обладает хорошей воспроизводимостью (коэффициент корреляции  $r = 0,85$ ) на протяжении до 200 мс после окончания стимула при неизменных параметрах

воздействия. Смещение индуктора даже на 10 мм приводит к достоверному изменению ЭЭГ. Обеспечить стабильность вызванных эффектов, кроме как использованием нТМС, невозможно [7].

Вместе с тем существуют погрешности нТМС, которые являются следствием источников ошибок:

1) индивидуальные особенности распределения магнитного поля в коре, зависящие от состояния тканей мозга;

2) ошибки сканирования мозга на МРТ и соответствующие искажения его 3D-модели;

3) смещение фокуса из-за движений головы пациента после его установки;

4) погрешности формирования магнитного поля в катушке.

Было проанализировано влияние этих ошибок на совместное положение индуктора и головы, а также на магнитное поле по упрощенной и реалистичной моделям головы [11]. При моделировании использовали библиотеку компьютерных подпрограмм SimNIBS [12], а также наборы изображений МРТ по T1 с подавлением жировой ткани и T2, с разрешением 1 мм<sup>3</sup>/воксел. Средняя погрешность совместного пространственного положения находилась в диапазоне 2,2–3,6 мм и 1°. Ошибки были связаны с изображениями МРТ со средней погрешностью 1,5–1,9 мм при ошибке 0,2–0,4° и погрешностью 0,5–0,8 мм при ошибке 0,1–0,2° для использованных моделей. При оценке погрешности магнитного поля средняя точность определения местоположения, ориентации и величины пикового значения поля колебалась в пределах 1,5–5,0 мм, 0,9–4,8° и 4,4–8,5%. Результаты моделирования показали существенное снижение ошибки позиционирования индуктора в нТМС в сравнении с традиционными рекомендациями, например, «над областью проекции верхней трети двигательной зоны коры головного мозга», и смещение его положения относительно внешних ориентиров на голове, измеряемых в сантиметрах [13].

### Серийно выпускаемые комплексы нТМС

В настоящее время серийно производят следующие модели устройств нТМС, реализующих типовые решения (см. табл.). Устройства построены по близким схемам, в основе которых лежит система технического зрения (СТЗ). В качестве элементов ориентации используются оптические маркеры либо характерные области лица и головы. Прямое изменение положения индуктора производят роботизированным манипулятором, опосредованное — в ручном режиме, следуя сигналам системы управления нТМС.

Система нТМС VISOR 2 использует 3D-модель мозга на основе снимков МРТ [17]. Если ее нет, применяют упрощенные модели. СТЗ отслеживает оптические трекары, размещаемые на голове и индукторе, в результате чего 3D-модель мозга и индуктор «привязываются» к системе внешних ориентиров в трехмерной координатной сетке. Врач, следуя указаниям системы, позиционирует индуктор в пространстве. При определенном навыке погрешность установки его координат составляет порядка 2 мм. Система VISOR2 способна работать в комплекте с совместимыми комплексами ТМС, в том числе с отечественным «Нейро-МС/В».

Навигационная система TMS Navigator (LOCALITE; Германия) также основана на использовании технического зрения для привязки 3D-модели головного мозга,

Таблица. Сравнение некоторых существующих навигационных устройств для проведения ТКМС

Название системы	VISOR2	TMS Navigator	TMS Robot	Syneika One	NBS eXimia Nexstim	Brainsight TMS Navigation	PowerMAG View!
Разработчик	ANT Neuro, Нидерланды	LOCALITE, Германия	Axium Robotics, Франция	SYNEIKA, Франция	Nexstim Ltd., Финляндия	Brainbox, Британия	Jali Medical, США
Оптическая навигация (тип)	Да	Да, трекары	Другой тип датчика	Другой тип датчика	Да, трекары	Да, трекары	Да, трекары
Наличие манипулятора	Нет	Да	Да	Нет	Нет	Нет	Нет
Коррекция положения койла	Опосредовано	Прямая	Прямая		Опосредовано	Опосредовано	Опосредовано
Кресло для пациента	Нет	Да	Да	Нет	Да	Да	Да
Особенности					Моделирование распределения магнитного поля	Возможность компоновки из модулей	Возможно функциональное картографирование мозга

изображений головы пациента и индуктора, полученных с помощью видеокамер, к трехмерной навигационной сетке с помощью оптических трекаров [18]. Алгоритм точного совмещения этих объектов со звуковой индикацией отклонения положения индуктора обеспечивает удержание фокуса магнитного потока. Для прицельной стимуляции в системе допустима регистрация четырех индукторов разного типа. Возможно рассчитать дозу энергии, которая будет доставлена в точку прицеливания. В версии Robotic Edition системы автоматическое позиционирование индуктора для компенсации движений пациента производится с использованием оптической обратной связи.

Роботизированная система TMS Robot (Axilum Robotics; Франция) реализована в виде конструкции, в которой объединены манипулятор с 7 степенями свободы, индуктор, блок управления и кресло для пациента [19]. Принципы функционирования, определения координат головы пациента, зоны воздействия и индуктора близки к описанным выше. После построения 3D-модели мозга и оценки положения головы СТЗ манипулятор позиционирует индуктор для точной фокусировки воздействия. Движения головы пациента автоматически компенсируются перемещением индуктора. Манипулятор и кресло имеют девять датчиков положения, что обеспечивает исходную точность позиционирования не хуже 1 мм по всем осям; восстановление ориентации индуктора при движении головы происходит с точностью не менее 0,1 мм. Данную систему позиционирования используют совместно с системой нейронавигации Syneika One.

Система нейронавигации Syneika One (SYNEIKA; Франция) является интегрированным устройством, обеспечивающим навигацию койла по данным 3D-модели мозга пациента [20]. Позиционирование и ориентация койла производится с использованием возможностей ранее рассмотренного комплекса Axilum Robotics TMS-Robot [19]. Под управлением Syneika One роботизированный штатив TMS-Robot перемещает койл в пространстве, что обеспечивает точное наведение на зону стимуляции и компенсирует возможные движения головы. Данных о типе датчиков, используемых для оценки положения головы и индуктора, в доступных материалах не обнаружено.

Более простым и компактным решением, в сравнении с TMS Robot, является TMS-Cobot этой же фирмы, но реализованный в виде мобильного устройства [21]. Точность позиционирования индуктора составляет 2 мм. Возможность отслеживания положения головы оптической

системой сохраняется, но поддерживает только верхнюю полусферу головы пациента из-за меньших размеров манипулятора. Данное устройство не имеет собственной системы построения 3D-модели мозга и пространственной навигации и также должно функционировать под управлением внешнего нейронавигатора, например, Syneika One.

Комплекс NBS eXimia Nexstim (Nexstim Ltd.; Финляндия) разработан в середине 2000-х гг. и продолжает развиваться [22, 23]. Комплекс имеет развитое программное обеспечение, позволяющее построить 3D-модель головного мозга высокой точности, состоящую из более чем 20 тыс. элементов, и управлять ее отображением и целеуказанием воздействия с помощью сенсорного широкоформатного монитора. Отличительной особенностью системы является возможность моделирования распределения магнитного поля с учетом индивидуальных особенностей строения мозга. Использование роботизированных устройств для наведения и удержания койла при движениях пациента не предусмотрено — установку и пространственную ориентацию индуктора на штативе производят вручную по указаниям системы наведения. Погрешность прицеливания воздействия не превышает 10 мм.

Определенное распространение получила линейка нейронавигации Brainsight TMS Navigation (Brainbox; Великобритания), ориентированная на совместное использование с транскраниальным магнитным стимулятором серии DuoMAG XT, поддерживающим запись индуцированной ЭМГ [24]. На рынке представлены интегрированные системы Brainsight TMS Navigator и Brainsight TMS Chair. Интересная особенность продукции фирмы — возможность компоновки специализированных комплексов из отдельных блоков.

Для проведения научных и диагностических исследований применяют системы нейронавигации PowerMAG View! и ANT Neuro visor2 (Jali Medical; США), использующие в качестве ориентиров для стереоскопической системы оптические метки, закрепляемые на голове пациента с помощью эластичной повязки [25]. Объемная модель мозга традиционно строится по данным МРТ, возможно функциональное картографирование мозга. Пациента размещают в кресле в положении сидя с опорой головой на подголовник. Для крепления индуктора используют простой штатив.

Комплекс NetBrain Neuronavigator 9000 (EB Neuro; Италия) предназначен для работы совместно с

устройством TMS STM 9000 Magnetic Stimulator той же фирмы [26]. Изготовитель позиционирует комплекс как бюджетное устройство, обладающее, тем не менее, высокими характеристиками: погрешность совмещения 3D-модели мозга с координатами оптических меток на голове пациента с помощью стереоскопической системы может составлять менее 1 мм. Работой комплекса управляют с помощью программного обеспечения Galileo®, позволяющего, кроме взаимодействия с устройством TMS и построения 3D модели мозга, протоколировать ход работ и управлять данными пациента. Пациент располагается полулежа в кресле, индуктор TMS крепят на штативе. Установку положения койла и его ориентацию в пространстве производят по подсказкам, выдаваемым системой нейронавигации.

Программный комплекс нейронавигации SimGuide Navigated TMS (MagSim Co Ltd; Великобритания) ориентирован на работу с установками транскраниальной терапии Horizon 3.0, Horizon Performance и Horizon Lite этой же фирмы [27]. Для пространственного совмещения головы, 3D-модели головного мозга и индуктора, крепящегося на штативе, во всех случаях используют стереоскопическую систему высокого разрешения и эластичный шлем пациента с оптическими метками.

Схожими возможностями обладает система визуализации анатомических и функциональных особенностей по данным MPT Neuronavigated TMS (SEBERS Medical; США, Германия) [28]. Один комплект программного обеспечения позволяет взаимодействовать с пятью типами установок TMS M-серии этой же фирмы. Установку и ориентацию койла производят с помощью стереоскопической системы. Контроль воздействия организован с помощью регистрации вызванных ЭМГ-потенциалов, для чего используют беспроводной двужанальный блок электромиографа.

Заметим, что большинство серийных систем нТМС используют устройства магнитной стимуляции сторонних фирм. Анализ клинических данных [4–6] показывает, что использование нТМС увеличивает эффективность курса магнитотерапии, поскольку обеспечивает хорошую локализацию воздействия и его высокую повторяемость, хотя имеются и альтернативные мнения [29]. Однако распространение этих систем в отечественной практике пока невелико. Связано это, скорее всего, с тем, что системы нТМС имеют существенную стоимость, а их использование требует наличия у медицинского персонала определенных навыков и знаний в области компьютерной техники.

### Экспериментальные разработки систем нТМС

Наиболее простым решением для реализации нТМС является положение пациента полулежа, когда его голова расположена на подголовнике [7, 16, 13, 22, 23]. В результате этого ограничена подвижность головы, а ориентация и удержание индуктора могут быть обеспечены штативом или вручную. Однако данное решение препятствует воздействию со стороны затылочной части. Альтернатива — это положение сидя (по возможности), но здесь возникает проблема удержания фокуса воздействия TMS при неограниченной подвижности головы в ходе сеанса, что можно решить использованием роботизированной системы позиционирования койла [19, 20].

Экспериментальные разработки систем нТМС, отслеживающих движения пациента, появились примерно 15 лет назад [30]. Роботизированный манипулятор

перемещал индуктор по произвольной траектории по осям X и Y в диапазоне 90 см под углами  $\pm 45^\circ$ , а поворот по оси Z — в диапазоне  $360^\circ$ . Погрешность установки индуктора весом 1,5 кг составляла не более 1 мм по всем осям. Скорость индуктора не превышало 50 мм/мин в любой плоскости, и за время сеанса TMS продолжительностью 20 мин составляло 1 мм, что не было критичным.

Описана упрощенная система нТМС, где врач производит выбор положения индуктора TMS лишь по форме черепа пациента на основании результатов работы СТЗ [31]. Предложенный метод сокращает объем используемых данных при создании 3D-модели мозга примерно на порядок, однако при этом увеличивается риск ошибок фокусирования воздействия из-за индивидуальных анатомических особенностей строения.

Прецизионная система нТМС, описанная другими авторами, основана на схеме распознавания координат объектов на базе СТЗ высокого разрешения, светоотражающих трекеров и 3D-модели мозга пациента, построенной по данным MPT [32]. Отличительной особенностью стало применение инфракрасной подсветки с длиной волны 850 нм, что частично решило проблему влияния волосяного покрова на построение модели черепа.

Использование трекеров, размещаемых на голове пациента и индукторе, усложняет подготовку к проведению сеанса нТМС. В качестве альтернативы предложено оценивать положение головы по характерным зонам лица [33], однако это затрудняет построение СТЗ и сопутствующего программного обеспечения, связывающего данные с видеокамер, 3D-модели мозга и положения индуктора. В то же время данное решение ускоряет и упрощает проведение процедуры TMS, а также устраняет ошибки, связанные с погрешностью размещения трекеров.

Более простой вариант нТМС с ориентацией на характерные зоны лица, использует лишь модель черепа, построенную по данным СТЗ [34]. Вместо 3D-модели мозга, созданной с помощью MPT, ориентацию индуктора проводят по данным анатомического атласа с масштабирующими поправками.

При наличии густого волосяного покрова ошибка построения модели черепа, полученной средствами СТЗ, и установка соответствия созданной 3D-модели мозга может быть снижена с помощью плотно прилегающей к голове эластичной шапочки или ленты с изображением шахматного поля с известными размерами элементов [35]. Однако это решение, по нашему мнению, является вариантом использования оптических трекеров с сопутствующими погрешностями.

Для помощи врачу во время сеанса нТМС используют системы виртуальной реальности, объединяющие 3D-модели головного мозга, черепа и индуктора в единой координатной сетке [36]. Это позволяет управлять настройкой положения индуктора без специальных навыков, используя минималистичный графический и звуковой интерфейс. Представленный подход оказался значительно менее времязатратным во всех предложенных условиях по сравнению с обычной нейронавигацией. Однако последняя продемонстрировала более высокую точность прицеливания ( $p < 0,001$ ).

Если систему виртуальной реальности дополнить изображением индуктора с указанием вектора магнитного поля и его плотности [37], оператору остается «разместить» катушку индуктора в нужном положении и задать параметры стимуляции, остальные операции будут

выполнены автоматически. В результате можно наблюдать наглядность создаваемой схемы воздействия, снижение времени на подготовку сеанса и упрощение всех операций.

Немаловажная проблема — уменьшение побочных воздействий магнитного поля во время сеанса ТМС на прилегающие к фокусу воздействия структуры головного мозга. Эту задачу можно решить, используя восьмеркообразную катушку, где фокус максимальной напряженности поля находится в точке пересечения векторов магнитных потоков [38]. В итоге расширяется диапазон силы воздействия и повышается точность фокусировки, что снижает риск побочных осложнений. Однако система генерации магнитных полей оказывается достаточно громоздкой, требует прецизионного изготовления, и при расфокусировке источников форма пятна воздействия оказывается непредсказуемой, как и создаваемая в нем напряженность магнитного поля.

Показано, что сдвоенные centrosимметричные индукторы с фиксированным положением формируют область воздействия с двойной фокусировкой [39]. Это позволяет изменять и корректировать координаты фокуса в широком диапазоне, регулируя лишь угол их ориентации перед проведением сеанса ТМС.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Безусловно, в кратком обзоре сложно привести многочисленные предложения и примеры реализации, относящиеся к технической части навигационной ТМС. Тем не менее, здесь можно выделить несколько направлений развития технического обеспечения методики.

Во-первых, это совершенствование программной части построения 3D-моделей мозга и черепа (головы) пациента. Наиболее проблематичным представляется повышение точности построения 3D-картины тканей мозга по данным МРТ: разрешающая способность высокопольных МРТ позволяет различать на снимках объекты размером 1–2 мм с шагом 5 мм при ошибке угла  $\pm 1^\circ$ , что обусловлено точностью перемещения стола аппарата. Соответственно, на исправном и настроенном современном томографе можно получить серию срезов изображений мозга с точностью порядка 1 мм, и этого для большинства приложений достаточно. В тех редких случаях, когда требуется более высокое разрешение снимка, можно воспользоваться одним из известных методов нелинейной интерполяции изображения, но корректность такого решения остается под вопросом.

Во-вторых, повышение точности позиционирования и ориентации индуктора ТМС. На основании опыта построения 3D-модели головного мозга можно определить достаточным позиционирование оси индуктора с точностью угла  $\pm 1^\circ$  и с погрешностью координат  $\pm 1$  мм по всем осям. Следует учитывать, что «пятно» фокуса магнитного поля представляет пучок линий напряженности, имеющий у индуктора типа «восьмерка» круг диаметром 5–8 мм с размытой границей [40]. Соседние структуры мозга оказываются задетыми, но это можно воспринимать как неизбежные издержки метода. Повысить точность фокусировки можно при использовании попарно ориентированных индукторов

разного размера, магнитоотражающих экранов или магнитных репликаторов [41].

В-третьих, отказ от подручных элементов, упрощающих распознавание положения черепа пациента, к которым можно отнести различные оптические отражатели и зонды, размещаемые в заранее оговоренных местах на его голове. Помимо того, что при их размещении неизбежно возникают погрешности с точностью установки, это требует постоянного использования расходных материалов. Наиболее перспективно, на наш взгляд, совмещать объемные модели мозга и головы пациента, применяя хорошо различимые и присутствующие в обоих случаях элементы лица: нос, глазные впадины, надбровные дуги, а также ушные раковины.

В-четвертых, использование доступных вариантов реализации средств контроля и обеспечения безопасности при проведении сеанса ТМС. Сюда можно отнести предварительные расчеты напряженности поля в фокусе индуктора с его косвенным контролем во время воздействия. На наш взгляд, необходим также контур управления силой воздействия, который может быть реализован как в виде звена автоматической регулировки, опирающегося на показатели ЭЭГ и/или ЭМГ, так и в виде элемента вербальной биологической обратной связи посредством регулятора ручного изменения интенсивности магнитного потока самим пациентом в определенных пределах.

В-пятых, значительное упрощение и ускорение подготовки и проведения сеанса нТМС за счет появившихся предложений и опытных разработок систем виртуальной реальности, предоставляющих возможность наложения в едином трехмерном пространстве объемных моделей мозга, черепа и индуктора с указанием вектора воздействия магнитного поля.

И, наконец, потребность в надежной аппаратно-программной реализации роботизированного манипулятора для удержания фокуса индуктора в заданной области головного мозга вне зависимости от положения пациента. Подавляющее большинство имеющихся вариантов конструкций нТМС предусматривает положение пациента лежа или полулежа, что затрудняет размещение индуктора в затылочной части его головы. Использование кресла, где пациент располагается сидя, требует установки подголовника хотя бы для примерной фиксации головы в нужном положении. Однако его наличие неизбежно вносит искажения в форму магнитного поля, даже если он будет выполнен из немагнитных материалов. Единственным вариантом остается поза пациента с головой, склоненной на грудь, при этом возможность ее свободного перемещения делает задачу удержания фокуса индуктора через управление роботизированным манипулятором достаточно сложной.

В целом следует отметить, что за прошедшие полтора десятилетия метод нТМС получил существенное развитие как в методическом, так и в техническом плане. И хотя большинство изначально имеющихся задач было полностью или частично решено, требуется дальнейший поиск вариантов повышения эффективности метода, обеспечения его безопасности и снижения стоимости аппаратной части.

## Литература

- Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. 1985; (May 11): 1 (8437): 1106–7. DOI: 10.1016/s0140-6736(85)92413-4. PMID: 2860322.
- Бакулин И. С., Пойдашева А. Г., Лагода Д. Ю., Супонова Н. А., Пирадов М. А. Перспективы развития терапевтической транскраниальной магнитной стимуляции. *Нервные болезни*. 2021; 4: 3–17. DOI: 10.24412/2226-0757-2021-12371.
- Sorokina ND, Zherdeva AS, Selitsky GV et al. Neurophysiological methods for assessing different forms of migraine. *Neurosci Behav Physiol*. 2022; 52: 202–6. DOI: 10.1007/s11055-022-01224-4.
- Супонова Н. А., Бакулин И. С., Пойдашева А. Г., Пирадов М. А. Безопасность транскраниальной магнитной стимуляции: обзор международных рекомендаций и новые данные. *Нервно-мышечные болезни*. 2017; 7 (2): 21–36. DOI: 10.17650/2222-8721-2017-7-2-21-36.
- Комлев И. О., Кисленко А. С. Транскраниальная магнитная стимуляция: современное состояние и перспективы использования в спорте (обзор). *Актуальные вопросы физической культуры и спорта*. 2016; 16: 146–52.
- Мосолов С. Н., Цукарзи Э. Э., Егоров А. Ю., Горелик А. Л., Нарышкин А. Г. Транскраниальная магнитная стимуляция. В книге: Александровский Ю. А., Незнанов Н. Г., редакторы. *Психиатрия*. Краткое издание: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021; с. 749–53.
- Kuhnke P, Numssen O, Völler J, Weise K, Hartwigsen G. Dosage optimization for transcranial magnetic stimulation based on cortical field thresholds. *Clinical Neurophysiology*. 2023; 148: 87. DOI: 10.1016/j.clinph.2023.02.104.
- Червяков А. В., Пирадов М. А., Савицкая Н. Г., Черникова Л. А., Кремнева Е. И. Новый шаг к персонализированной медицине. Навигационная система транскраниальной магнитной стимуляции (NBS eXimia Nexstim). *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2012; 6 (3): 37–46.
- Мтуи Э., Грюнер Г., Докери П. *Клиническая нейроанатомия и неврология по Фицджеральду*. М.: Изд-во Панфилова, 2018; 388 с.
- Ruohonen J, Karhu J. Navigated transcranial magnetic stimulation. *Neurophysiol Clin*. 2010; 40 (1): 7–17. DOI: 10.1016/j.neucli.2010.01.006. PMID: 20230931.
- Makarov SN, Wartman WA, Daneshzand M, Fujimoto K, Raji T, Nummenmaa A. A software toolkit for TMS electric-field modeling with boundary element fast multipole method: An efficient MATLAB implementation. *Journal of Neural Engineering*. 2020; 17 (4). DOI: 10.1088/1741-2552/ab85b3.
- SimNIBS 4. 2020 Jun. [cited 2023 May 6]. Available from: <https://simnibs.github.io/simnibs/>.
- Рагимова А. А., Петелин Д. С., Захарова Н. В., Кожокару А. Б. и др. Применение транскраниальной магнитной стимуляции в психиатрической и психоневрологической практике. М.: Изд-во Сеченовского Университета, 2022; 150 с.
- Liu S, Shi L, Wang D, Chen J, Jiang Z, Wang W, et al. Mri-guided navigation and positioning solution for repetitive transcranial magnetic stimulation. *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*. 2013; 25 (1): 1350012. DOI: 10.4015/s1016237213500129.
- Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp*. 2002; 17 (3): 143–55. DOI: 10.1002/hbm.10062. PMID: 12391568; PMCID: PMC6871816.
- Nieminen AE, Nieminen JO, Stenroos M, Novikov P, Nazarova M, Vaalto S, et al. Accuracy and precision of navigated transcranial magnetic stimulation. *J Neural Eng*. 2022; 19 (6). DOI: 10.1088/1741-2552/aca71a. PMID: 36541458.
- VISOR2 система навигации при транскраниальной магнитной стимуляции [последнее цитирование 30 апреля 2023 г.]. Доступно по ссылке: <https://neurosoft.com/ru/catalog/equipment/90329>.
- TMS-Navigator. [cited 2023 May 6]. Available from: <https://www.localite.de/en/products/tms-navigator/>.
- Robotic Assistant for Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) [cited 2023 May 7]. Available from: <https://www.axilumrobotics.com/en/tms-robot/?noredirect=en-US>.
- Neuronavigation for Transcranial Magnetic Stimulation TMS. [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.syneika.fr/en/>.
- TMS-Cobot Features. Setting a new standard for Transcranial Magnetic Stimulation with collaborative robotics [cited 2023 May 7]. Available from: <https://www.axilumrobotics.com/en/tms-cobot-features/?noredirect=en-US>.
- Unmatched accuracy in TMS [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.nexstim.com>.
- Руководство пользователя Nexstim® NBS System 5. Nexstim Plc, 2014; 228 с.
- BRAINBOX TMS Transcranial Magnetic Stimulation [cited 2023 September 2]. Available from: <https://brainbox-neuro.com/techniques/tms>.
- Jali Medical Neuronavigation Applications [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.jalimedical.com/neuronavigation.php>.
- STM 9000 New Frontier in Magnetic Stimulation. Infomed Medzintech GmbH. 2018; 4.
- Magstim TMS Therapy [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.magstim.com/row-en/product-category/therapy/>.
- SEBERS Medical Neuronavigated TMS [cited 2023 September 2]. Available from: <https://sebersmedical.com/product/neuronavigated-tms/>.
- Jeltama H-R, Ohlerth A-K, Wit A, Wagemakers M, Rofes A, Bastiaanse R, et al. Comparing navigated transcranial magnetic stimulation mapping and “gold standard” direct cortical stimulation mapping in neurosurgery: a systematic review. *Neurosurgical Review*. 2021; 44 (4): 1903–20. DOI: 10.1007/s10143-020-01397-x.
- Okada A, Nishikawa A, Fukushima T, Taniguchi K, Miyazaki F, Sekino M, et al. Magnetic navigation system for home use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). 2012 ICME International Conference on Complex Medical Engineering (CME). Kobe, Japan. 2012; p. 112–8. DOI: 10.1109/iccme.2012.6275591.
- Shin S, Kim S, Seo Y, An J, Kim H, Chung S, et al. Development of stereo camera module using webcam for navigation Transcranial Magnetic Stimulation system. 5th International Conference on BioMedical Engineering and Informatics 16–18 October 2012. 2012; p. 113–6. DOI: 10.1109/bmei.2012.6513167.
- Bo W, Chjitsan C, Kun C, Bin Y, inventors; Shenyang Keen Technology Co. Ltd., assignee. The navigation positional device of a kind of transcranial magnetic stimulation device and localization method. China patent CN106110507A. 2016 Jul 26.
- Tsun S, Bo W, Shan C, inventors; Wuhan Capital Association Hong Kang Polytron Technologies Inc., assignee. Transcranial magnetic stimulation diagnosis and treatment navigation system based on camera. China patent CN110896611A. 2020 Mar 3.
- Gangliang Z, Tianzai J, Zhengyi Y, Xuefeng L, Liang M, inventors; Shenyang Institute of Automation of CAS, assignee. Position and posture positioning device, method and equipment of transcranial magnetic stimulation coil for brain atlas navigation. China patent CN114073820A. 2022 Feb 22.
- Schütz L, Weber E, Niu W, Daniel B, Mcnab J, Navab N, et al. Audiovisual augmentation for coil positioning in transcranial magnetic stimulation. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering Imaging & Visualization*. 2023; 11 (4): 1130–5. DOI: 10.1080/21681163.2022.2154277.
- Jijun W, Yingying T, Wenyao Z, Yifeng X, Tianhong Z, inventors; Shanghai Mental Health Center (shanghai Psychological Counseling Training Center), assignee. Accurate transcranial magnetic stimulation online navigation method based on augmented reality. China patent CN111249622A. 2020 Jan 17.
- Peng Z, Manhua L, Xin W, Jingxin W, Xiaotao L, inventors; Hunan Huayi Electromagnetic Medicine Research Institute Co Ltd., assignee. Transcranial magnetic stimulation device, transcranial magnetic stimulation system and transcranial magnetic stimulation method. China patent CN114225223A. 2021 Dec 31.
- Peng Z, Manhua L, Xin W, Jingxin W, Yibo L, inventors; Hunan Huayi Electromagnetic Medicine Research Institute Co Ltd., assignee. Transcranial magnetic stimulation system and method. China patent CN114146315A. 2021 Dec 31.

39. Qiyong G, Haoyang X, Xiaoqi H, Su L, inventors; West China Hospital of Sichuan University, assignee. Electromagnetic navigation system and method for TMS coil. China patent CN113350698A. 2021 Mar 31.
40. Квартальный М. А., Давыдов М. В., Лыньков Л. М., Сагай Маруф Г. Моделирующие условия транскраниальной магнитной стимуляции мозга в зависимости от вида

- индуктора. Доклады БГУИР — Белорусский государственный университет информатики и радиотехники. 2015; 94 (8): 57–63.
41. Самуйлов И. В., Кайдак М. Н., Сагай М. Г. Г., Белан В. А. Влияние экранов на распределения импульсных магнитных полей при транскраниальной магнитной стимуляции. Доклады белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники. 2016; 101 (7): 159–63.

## References

1. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. 1985; (May 11): 1 (8437): 1106–7. DOI: 10.1016/s0140-6736(85)92413-4. PMID: 2860322.
2. Bakulin IS, Poydasheva AG, Lagoda DYU, Suponeva NA, Piradov MA. Perspektivy razvitiya terapevticheskoy transkraniyal'noy magnitnoy stimulyatsii. *Nervnye bolezni*. 2021; 4: 3–17. DOI: 10.24412/2226-0757-2021-12371. Russian.
3. Sorokina ND, Zherdeva AS, Selitsky GV et al. Neurophysiological methods for assessing different forms of migraine. *Neurosci Behav Physi*. 2022; 52: 202–6. DOI: 10.1007/s11055-022-01224-4.
4. Suponeva NA, Bakulin IS, Poydasheva AG, Piradov MA. Safety of transcranial magnetic stimulation: review of international guidelines and new findings. *Neuromuscular Diseases*. 2017; 7 (2): 21–36. DOI: 10.17650/2222-8721-2017-7-2-21-36. Russian.
5. Komlev IO, Kislenco AS. Transkraniyal'naya magnitnaya stimulyatsiya: sovremennoe sostoyanie i perspektivy ispol'zovaniya v sporte (obzor). *Aktual'nye voprosy fizicheskoy kull'tury i sporta*. 2016; 16: 146–52. Russian.
6. Mosolov SN, Tsukarzi EE, Egorov AYU, Gorelik AL, Naryshkin AG. Transkraniyal'naya magnitnaya stimulyatsiya. In: Aleksandrovskiy Yu. A., Neznarov N. G., redaktory. *Psikhiatriya*. Kratkoe izdanie: natsional'noe rukovodstvo. M.: GEOTAR-Media, 2021; S. 749–53. Russian.
7. Kuhnke P, Numssen O, Völler J, Weise K, Hartwigsen G. Dosage optimization for transcranial magnetic stimulation based on cortical field thresholds. *Clinical Neurophysiology*, 2023; 148: 87. DOI: 10.1016/j.clinph.2023.02.104.
8. Chervyakov AV, Piradov MA, Savitskaya NG, Chernikova LA, Kremneva EI. Novyy shag k personifitsirovannoy meditsine. Navigatsionnaya sistema transkraniyal'noy magnitnoy stimulyatsii (NBS eXimia Nexstim). *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy nevrologii*. 2012; 6 (3): 37–46. Russian.
9. Mtuji E., Gryuner G., Dokeri P. *Klinicheskaya neuroanatomiya i nevrologiya po Fitsdzheral'du*. M.: Izd-vo Panfilova; 2018. 388 s. Russian.
10. Ruohonen J, Karhu J. Navigated transcranial magnetic stimulation. *Neurophysiol Clin*. 2010; 40 (1): 7–17. DOI: 10.1016/j.neucli.2010.01.006. PMID: 20230931.
11. Makarov SN, Wartman WA, Daneshzand M, Fujimoto K, Raji T, Nummenmaa A. A software toolkit for TMS electric-field modeling with boundary element fast multipole method: An efficient MATLAB implementation. *Journal of Neural Engineering*. 2020; 17 (4). DOI: 10.1088/1741-2552/ab85b3.
12. SimNIBS 4. 2020 Jun. [cited 2023 May 6]. Available from: <https://simnibs.github.io/simnibs/>.
13. Ragimova AA, Petelin DS, Zakharova NV, Kozhokaru AB, i dr. *Primenenie transkraniyal'noy magnitnoy stimulyatsii v psikiatricheskoy i psikhonevrologicheskoy praktike*. M.: Izd-vo Sechenovskogo Universiteta, 2022; 150 s. Russian.
14. Liu S, Shi L, Wang D, Chen J, Jiang Z, Wang W, et al. Mri-guided navigation and positioning solution for repetitive transcranial magnetic stimulation. *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*. 2013; 25 (1): 1350012. DOI: 10.4015/s1016237213500129.
15. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp*. 2002; 17 (3): 143–55. DOI: 10.1002/hbm.10062. PMID: 12391568; PMCID: PMC6871816.
16. Nieminen AE, Nieminen JO, Stenroos M, Novikov P, Nazarova M, Vaalto S, et al. Accuracy and precision of navigated transcranial magnetic stimulation. *J Neural Eng*. 2022; 19 (6). DOI: 10.1088/1741-2552/aca71a. PMID: 36541458.
17. VISOR2 navigation system for transcranial magnetic stimulation [cited 2023 Apr 30]. Available from: <https://neurosoft.com/ru/catalog/equipment/90329>. Russian.
18. TMS-Navigator. [cited 2023 May 6]. Available from: <https://www.localite.de/en/products/tms-navigator/>.
19. Robotic Assistant for Transcranial Magnetic Stimulation (TMS). [cited 2023 May 7]. Available from: <https://www.axilumrobotics.com/en/tms-robot/?noredirect=en-US>.
20. Neuronavigation for Transcranial Magnetic Stimulation TMS [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.syneika.fr/en/>.
21. TMS-Cobot Features. Setting a new standard for Transcranial Magnetic Stimulation with collaborative robotics [cited 2023 May 7]. Available from: <https://www.axilumrobotics.com/en/tms-cobot-features/?noredirect=en-US>.
22. Unmatched accuracy in TMS [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.nexstim.com>.
23. Rukovodstvo pol'zovatelya Nexstim® NBS System 5. Nexstim Plc. 2014; 228 c. Russian.
24. BRAINBOX TMS Transcranial Magnetic Stimulation [cited 2023 September 2]. Available from: <https://brainbox-neuro.com/techniques/tms>.
25. Jali Medical Neuronavigation Applications [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.jalimedical.com/neuronavigation.php>.
26. STM 9000 New Frontier in Magnetic Stimulation. Infomed Medzintechnik GmbH. 2018; 4.
27. Magstim TMS Therapy [cited 2023 September 2]. Available from: <https://www.magstim.com/row-en/product-category/therapy/>.
28. SEBERS Medical Neuronavigated TMS [cited 2023 September 2]. Available from: <https://sebersmedical.com/product/neuronavigated-tms/>.
29. Jeltama H-R, Ohlerth A-K, Wit A, Wagemakers M, Rofes A, Bastiaanse R, et al. Comparing navigated transcranial magnetic stimulation mapping and “gold standard” direct cortical stimulation mapping in neurosurgery: a systematic review. *Neurosurgical Review*. 2021; 44 (4): 1903–20. DOI: 10.1007/s10143-020-01397-x.
30. Okada A, Nishikawa A, Fukushima T, Taniguchi K, Miyazaki F, Sekino M, et al. Magnetic navigation system for home use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). 2012 ICME International Conference on Complex Medical Engineering (CME). Kobe, Japan. 2012; p. 112–8. DOI: 10.1109/icme.2012.6275591.
31. Shin S, Kim S, Seo Y, An J, Kim H, Chung S, et al. Development of stereo camera module using webcam for navigation Transcranial Magnetic Stimulation system. 5th International Conference on BioMedical Engineering and Informatics 16–18 October 2012. 2012; p. 113–6. DOI: 10.1109/bmei.2012.6513167.
32. Bo W, Chjitsan C, Kun C, Bin Y, inventors; Shenyang Keen Technology Co. Ltd., assignee. The navigation positional device of a kind of transcranial magnetic stimulation device and localization method. China patent CN106110507A. 2016 Jul 26.
33. Tsun S, Bo W, Shan C, inventors; Wuhan Capital Association Hong Kang Polytron Technologies Inc., assignee. Transcranial magnetic stimulation diagnosis and treatment navigation system based on camera. China patent CN110896611A. 2020 Mar 3.
34. Gangliang Z, Tianzai J, Zhengyi Y, Xuefeng L, Liang M, inventors; Shenyang Institute of Automation of CAS, assignee. Position and posture positioning device, method and equipment of transcranial magnetic stimulation coil for brain atlas navigation. China patent CN114073820A. 2022 Feb 22.
35. Schütz L, Weber E, Niu W, Daniel B, Mcnab J, Navab N, et al. Audiovisual augmentation for coil positioning in transcranial magnetic stimulation. *Computer Methods in Biomechanics and*

- Biomedical Engineering Imaging & Visualization. 2023; 11 (4): 1130–5. DOI: 10.1080/21681163.2022.2154277.
36. Jijun W, Yingying T, Wenyao Z, Yifeng X, Tianhong Z, inventors; Shanghai Mental Health Center (shanghai Psychological Counseling Training Center), assignee. Accurate transcranial magnetic stimulation online navigation method based on augmented reality. China patent CN111249622A. 2020 Jan 17.
  37. Peng Z, Manhua L, Xin W, Jingxin W, Xiaotao L, inventors; Hunan Huayi Electromagnetic Medicine Research Institute Co Ltd., assignee. Transcranial magnetic stimulation device, transcranial magnetic stimulation system and transcranial magnetic stimulation method. China patent CN114225223A. 2021 Dec 31.
  38. Peng Z, Manhua L, Xin W, Jingxin W, Yibo L, inventors; Hunan Huayi Electromagnetic Medicine Research Institute Co Ltd., assignee. Transcranial magnetic stimulation system and method. China patent CN114146315A. 2021 Dec 31.
  39. Qiyong G, Haoyang X, Xiaoqi H, Su L, inventors; West China Hospital of Sichuan University, assignee. Electromagnetic navigation system and method for TMS coil. China patent CN113350698A. 2021 Mar 31.
  40. Kwartalny MA, Davydov MV, Lynkov LM, Sagay Maruf G. Modeliruyushchie usloviya transkranial'noy magnitnoy stimulyatsii mozga v zavisimosti ot vida induktora. Doklady BGUIR — Belorusskiy gosudarstvennyy universitet informatiki i radiotekhniki. 2015; 94 (8): 57–63. Russian.
  41. Samuylov IV, Kaydak MN, Sagay MGG, Belan VA. Vliyanie ekranov na raspredeleniya impul'snykh magnitnykh poley pri transkranial'noy magnitnoy stimulyatsii. Doklady belorusskogo gosudarstvennogo universiteta informatiki i radioelektroniki. 2016; 101 (7): 159–63. Russian.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ И РИСК РАЗВИТИЯ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ

Е. А. Блинова<sup>1,2</sup>✉, М. А. Янишевская<sup>1</sup>, А. В. Аклеев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Факторы иммунной системы, в том числе секретируемые провоспалительные интерлейкины, обеспечивают противоопухолевый надзор, однако в случае длительного хронического воспаления могут приводить к активации онкогенеза. Полиморфные варианты, располагающиеся в кодирующих и регуляторных областях генов цитокинов, могут влиять на экспрессию гена, стабильность мРНК, структуру и активность белкового продукта, что в свою очередь отражается на клеточном и организменном уровнях. Целью работы было провести поиск связи полиморфных вариантов генов интерлейкинов *IL1b* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) с риском развития онкологических заболеваний, а также проанализировать влияние полиморфных локусов на концентрацию сывороточных интерлейкинов. В исследовании приняли участие 585 человек, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. Была выявлена связь полиморфного участка *IL4* (rs2070874) с концентрацией сывороточного *IL4* у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию в диапазоне доз на красный костный мозг (ККМ) от 1,17 до 3507 мГр. Содержание сывороточного *IL4* у носителей генотипов C/T и T/T в соответствии с доминантной моделью было статистически значимо ниже, чем у носителей генотипа C/C ( $p = 0,02$ ). Не выявлено связи полиморфных участков rs1143634, rs2069762, rs2070874, rs1800795, rs4073, rs1800871 с риском развития злокачественных новообразований у облученных лиц.

**Ключевые слова:** SNP, иммунная система, злокачественные новообразования, хроническое радиационное воздействие, отдаленные последствия

**Финансирование:** финансирование осуществлялось в рамках Федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 годы и на период до 2030 года» (Государственный контракт № 11.313.21.2 от 15 июня 2021 г.).

**Вклад авторов:** Е. А. Блинова — обобщение первичного материала, анализ и обсуждение результатов, подготовка текста статьи; М. А. Янишевская — статистическая обработка первичных данных; А. В. Аклеев — планирование исследования, редактирование статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 4 от 8 июня 2023 г.). Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют требованиям Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Каждый участник исследования подписал добровольное информированное согласие.

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

**Статья получена:** 09.06.2023 **Статья принята к печати:** 20.07.2023 **Опубликована онлайн:** 12.08.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.024

## POLYMORPHISM OF INTERLEUKIN CONTROL GENES AND RISK OF NEOPLASMS IN EXPOSED INDIVIDUALS

Blinova EA<sup>1,2</sup>✉, Yanishevskaya MA<sup>1</sup>, Akleyev AV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Urals Research Center for Radiation Medicine of Federal Medical and Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Factors of the immune system, including secreted pro-inflammatory interleukins, enable tumor control. However, against the background of prolonged chronic inflammation, they can trigger oncogenesis. Polymorphic variants in the coding and regulatory regions of cytokine genes can affect gene expression, mRNA stability, structure and activity of the protein product, with consequences on the levels of cells and body as a whole. This study aimed to search for the relation between polymorphic variants of interleukin genes *IL1b* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) and risk of cancer, and to analyze the effect of polymorphic loci on concentration of serum interleukins. The study involved 585 persons chronically exposed to radiation. We established association of polymorphic *IL4* site (rs2070874) with concentration of serum *IL4* in individuals with chronic low dose-rate exposure of the red bone marrow 1.17 to 3507 mGy (mean value — 566 mGy). The content of serum *IL4* in people with C/T and T/T genotypes (as per the dominant model) was significantly lower than in those with C/C genotype ( $p = 0.02$ ). Polymorphic sites rs1143634, rs2069762, rs2070874, rs1800795, rs4073, rs1800871 were not found to be associated with the risk of malignant neoplasms in exposed individuals.

**Keywords:** SNP, immune system, malignant neoplasms, chronic radiation exposure, long-term effects.

**Funding:** the study received funding in the context of the Federal Target Program "Ensuring nuclear and radiation safety in 2016-2020 and up to 2030" (State Contract #11.313.21.2 of June 15, 2021).

**Author contribution:** Blinova EA — generalization of primary material, analysis and discussion of results, article text authoring; Yanishevskaya MA — statistical processing of primary data; Akleyev AV — study planning, article editing.

**Compliance with the ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia (Minutes #4 of June 8, 2023). All procedures on humans performed in the context of the study conform to the requirements of the 1964 Helsinki Declaration and its subsequent amendments or comparable ethical standards. Each participant of the study signed the voluntary informed consent form.

✉ **Correspondence should be addressed:** Evgenia Andreevna Blinova  
Vorovskogo, 68, korp. A, Chelyabinsk, 454141, Russia; blinova@urcrm.ru

**Received:** 09.06.2023 **Accepted:** 20.07.2023 **Published online:** 12.08.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.024



Интерлейкины выполняют важную регуляторную роль в противоопухолевом иммунитете, они обеспечивают медиаторное взаимодействие клеток иммунной системы, а также регулируют такие процессы, как активация иммунокомпетентных клеток, апоптоз, клеточный цикл и дифференцировка иммунокомпетентных клеток. Например, IL1 усиливает пролиферацию CD4<sup>+</sup>-клеток и связывание натуральных киллеров (NK-клетки) с опухолевыми клетками, а также индуцирует продукцию IL2, который в свою очередь способствует пролиферации дендритных клеток, при этом инфильтрация опухоли дендритными клетками коррелирует с эффективностью противоопухолевого иммунитета [1]. Кроме того, противоопухолевый ответ, регулируемый Th1 посредством секреции провоспалительных цитокинов IL2, ФНО $\alpha$ , ИФН $\gamma$ , способствует не только премированию и активации цитотоксических Т-клеток, но и противоопухолевой активности макрофагов и NK-клеток [2]. IL4 играет важную роль в развитии провоспалительных реакций, способствует пролиферации NK-клеток и активированных Т-клеток, усиливая их противоопухолевое действие, регулирует активированные противовоспалительные макрофаги, которые способствуют элиминации раковых клеток [3]. Считается также, что он непосредственно способен подавлять рост опухоли за счет блокады клеточного цикла [1]. В то же время сами макрофаги могут секретировать IL10, что способствует иммуносупрессии, путем нарушения активности эффекторных Т-клеток и ингибирования созревания дендритных клеток [2]. Сильным провоспалительным свойством, а также способностью к подавлению опухолевого роста обладает IL6, однако в некоторых случаях его могут продуцировать опухолевые клетки и он способствует росту миеломы и некоторых типов опухолевых клеток [4]. Относительно противоопухолевой активности IL8 данных мало, однако известно, что он способен привлекать и функционально модулировать нейтрофилы и макрофаги в опухолевые очаги, при этом высокие уровни IL8 наоборот способствуют прогрессированию рака и метастазированию посредством различных механизмов, включая проангиогенез и поддержание условий для развития раковых стволовых клеток [5].

Провоспалительные факторы, в том числе секретируемые провоспалительные цитокины способствуют подавлению опухоли, однако в случае длительного хронического воспаления могут приводить к активации онкогенеза [6].

Известно, что воспаление играет важную роль в развитии рака на разных стадиях канцерогенеза, оно способствует геномной нестабильности, эпигенетическим модификациям, индукции пролиферации раковых клеток, усилению антиапоптотических сигналов, стимуляции ангиогенеза [7]. С хроническим воспалением связано не менее 25% случаев рака [2, 8].

Причинами хронического воспаления могут быть микробная инфекция, аутоиммунные нарушения, ожирение, иммунная дисфункция, а также факторы внешней среды. В ряде исследований показано, что радиационное облучение в отдаленном периоде способствует развитию хронического воспаления [9]. В частности, острое облучение, которому подверглись люди, пережившие бомбардировки в Хиросиме и Нагасаки, в отдаленном периоде способствовало развитию хронического воспаления за счет дисбаланса Th1/Th2 [10]. Кроме того, у облученных в Японии людей с увеличением дозы облучения регистрировали повышение уровня таких

провоспалительных маркеров, как С-реактивный белок, IL6, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$  и IL10 [11, 12]. У ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленном периоде наблюдали изменения в цитокиновом профиле: увеличивался уровень ИФН $\gamma$  и ФНО $\alpha$  [13]. Пролонгированное радиационное воздействие в диапазоне малых и средних доз тоже может вызывать хроническое воспаление. В частности, у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в результате загрязнения реки Течи радиоактивными отходами, спустя 65–70 лет обнаруживают изменения в количественных и функциональных показателях системного иммунитета [14], а также провоспалительные изменения в цитокиновом профиле [15].

Полиморфные варианты, располагающиеся в кодирующих, регуляторных и не кодирующих областях генов, а также в межгенных регионах, могут влиять на экспрессию гена, стабильность мРНК, структуру и активность белкового продукта, что в свою очередь отражается на функциональном состоянии клетки и организма в целом [16]. В ряде исследований установлена связь полиморфных участков в генах интерлейкинов с риском развития различных онкологических заболеваний. Показано, что полиморфизм rs2069762 (-330T>G) в промоторной области гена *IL2* связан с предрасположенностью к нескольким видам рака, таким как рак мочевого пузыря [17], карцинома носоглотки [18] и неходжкинская лимфома [19]. По результатам метаанализа установлено, что полиморфизм rs2070874 (-33T>C) в гене *IL4* ассоциирован с риском развития лейкоза и раком полости рта [20]. Показано, что полиморфизм rs1800795 в гене *IL6* играет важную роль в патогенезе нескольких типов рака, таких как рак шейки матки, колоректальный рак и рак молочной железы [21]. Для полиморфизма rs4073 (-251A>T) в гене противовоспалительного цитокина *IL8* также показана связь с повышенным риском развития рака желудка [22]. Все эти данные указывают на наличие модифицирующего эффекта полиморфных локусов в генах интерлейкинов в процессе онкотрансформации клетки. Однако, несмотря на имеющуюся связь с патологическим состоянием, достаточно сложно установить функциональную значимость выявленного полиморфизма для развития заболевания, особенно в случае такой мультифакторной патологии, как рак. Одним из возможных механизмов влияния полиморфизма на развитие патологии может быть изменение экспрессионной активности гена, что отражается на концентрации конечного продукта. В связи с этим цель работы — поиск связи полиморфных вариантов генов интерлейкинов *IL1b* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) с риском развития онкологических заболеваний, а также анализ влияния полиморфных локусов на концентрацию сывороточных интерлейкинов у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Характеристика обследуемых лиц

Поиск ассоциации полиморфных аллелей и генотипов *IL1b* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) с риском развития солидных злокачественных новообразований (ЗНО), а также их влияния на концентрацию сывороточных интерлейкинов проводили у лиц, подвергшихся низкоинтенсивному хроническому радиационному воздействию в период с

Таблица 1. Характеристика обследуемых групп

Показатель		Облученные с ЗНО (n = 207)	Облученные без ЗНО (n = 378)
Пол, n (%)	мужчины	81 (39,13)	127 (33,60)
	женщины	126 (60,87)	251 (66,40)
Этническая группа, n (%)	славяне	98 (47,34)	153 (40,48)
	тюрки	109 (52,66)	225 (59,52)
Возраст на время обследования, лет <sup>1</sup> M ± SD (min-max)		75,71 ± 7,32 (55-95)	77,79 ± 7,33 (57-98)
Поглощенная доза облучения ККМ, мГр M ± SE (min-max) <sup>2</sup>		566,27 ± 42,84 (1,17-3507,08)	700,39 ± 32,37 (0,70-3393,51)
Поглощенная доза облучения мягких тканей, мГр M ± SE (min-max) <sup>2</sup>		97,35 ± 8,67 (0,13-740,78)	99,90 ± 5,68 (0,05-622,40)

Примечания: <sup>1</sup> — среднее значение ± стандартное отклонение (min-max); <sup>2</sup> — среднее значение ± стандартная ошибка (min-max).

1949 по 1960 г. в результате сброса жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в реку Течу (Южный Урал, Россия) [23]. Облученные лица, вошедшие в исследование, на протяжении многих лет наблюдаются в клиническом отделении ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России» (УНПЦ РМ). При формировании обследованных групп были использованы следующие критерии включения: проживание в период с 1 января 1950 г. по 31 декабря 1960 г. в одном из сел, расположенных на побережье р. Течи; наличие рассчитанных индивидуальных доз облучения красного костного мозга (ККМ), тимуса и периферических лимфоидных органов. Критерии исключения: отсутствие информации об истории проживания на радиационно загрязненных территориях. Для группы лиц без ЗНО, у которых проводили анализ сывороточных интерлейкинов, были сформированы дополнительные критерии исключения: наличие диагностируемых на момент обследования аутоиммунных, острых или хронических (период обострения) воспалительных заболеваний, гемобластоза, почечной или печеночной недостаточности, острого нарушения мозгового кровообращения в течение последних трех месяцев, онкозаболеваний; прием антибиотиков, глюкокортикоидов, цитостатиков. В биофизической лаборатории УНПЦ РМ для всех лиц, включенных в исследование, был проведен расчет индивидуальных поглощенных доз облучения ККМ и мягких тканей с использованием дозиметрической системы «Techa River Dosimetry System» (TRDS 2016) [24].

Всего в исследование были включены 585 человек, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. Из числа обследованных были сформированы две группы: 207 человек, имеющие в анамнезе злокачественные новообразования (ЗНО) различных локализаций, вошли в группу «Облученные с ЗНО», и 378 практически здоровых человека вошли в группу сравнения «Облученные без ЗНО». Подробная характеристика исследуемых лиц представлена в табл. 1.

Среди диагностированных форм солидных ЗНО были следующие: органов пищеварительной системы — 70 человек (код по МКБ-10 C00.2, C02.1, C04.9, C06.9, C15.9, C16.9, C18.4, C19, C22.9, C25.9, Q15.9); органов женской репродуктивной системы — 66 человек (код по МКБ-10 C50, C53.9, C54.9, C57.4); органов дыхательной системы — 25 человек (код по МКБ-10 Z85.22, C32.9, C33, C34); мочевыделительной системы — 16 человек (код по МКБ-10 C67.9, C68.9); органов эндокринной системы — 10 человек (код по МКБ-10 C73); органов мужской репродуктивной системы — 9 человек (код по МКБ-10 C61); органов

покровной системы — 9 человек (код по МКБ-10 C43.9, C44.90), зрительной системы — 2 человека (C69.90).

### Выделение ДНК и генотипирование

Геномную ДНК (гДНК) выделяли из цельной крови колоночным методом с использованием коммерческого набора ExtractDNA Blood & Cells («Евроген»; Россия) по стандартному протоколу, основанному на рекомендациях производителя. Чистоту препарата гДНК оценивали по значению соотношения длин волн 260 и 280 нм (A260/280) спектрофотометрическим методом на анализаторе NanoDrop 2000 (Thermo Scientific; США).

Аmplификацию проводили методом ПЦР «в реальном времени» на приборе StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems; США) с использованием набора для генотипирования полиморфных маркеров IL1B (rs1143634), IL2 (rs2069762), IL4 (rs2070874), IL6 (rs1800795), IL8 (rs4073), IL10 (rs1800871) («ТестГен»; Россия). Реакционная смесь объемом 10 мкл содержала 4 мкл смеси для ПЦР, 3 мкл деионизированной воды, 2 мкл Taq-полимеразы и 1 мкл исследуемого образца гДНК. Анализ данных генотипирования проводили с помощью программы StepOne Software v2.1 (Applied Biosystems; США).

### Оценка концентрации сывороточных интерлейкинов

Концентрацию сывороточных интерлейкинов (IL1β, IL2, IL4, IL6, IL8, IL10) определяли методом иммуноферментного анализа, используя автоматический анализатор «Lazurite» (DYNEX Technologies; США) и соответствующие тест-системы («Вектор-Бест»; Россия). Забор крови у пациентов проводили натощак после пункции локтевой вены в вакуумную пробирку с активатором свертывания (SiO<sub>2</sub>) в количестве 9 мл. Сыворотку отделяли после инкубации крови при температуре 20–25 °С в течение 45–60 мин и последующего центрифугирования при 1500 об./мин в течение 10 мин. До проведения анализа сыворотка однократно замораживалась при температуре –20 °С. Концентрацию цитокинов в сыворотке выражали в пг/мл.

### Статистическая обработка данных

Статистическую обработку осуществляли с использованием программного комплекса STATISTICA v.12.0 (IBM; США), а также онлайн-калькуляторов medstatistics (<https://medstatistic.ru/>) и GeneCalc (<https://gene-calc.pl/hardyweinberg-page>). Статистическую значимость различий

Таблица 2. Встречаемость генотипов исследуемых SNP у облученных лиц с ЗНО и без ЗНО

Ген/SNP	Генотип	Группы								Сравниваемые модели (доминантная/рецессивная)	ОШ (95% ДИ)	p <sup>4</sup>		
		Облученные с ЗНО				Облученные без ЗНО								
		Частота генотипов, %												
		Кол-во (%)	Ho <sup>1</sup>	He <sup>2</sup>	pHWE <sup>3</sup>	Кол-во (%)	Ho	He	pHWE					
<i>IL1b</i> rs1143634	C/C	95 (59,75)	0,35	0,35	0,96	203 (61,52)	0,34	0,34	0,94	C/C vs C/T+T/T	1,08 (0,73–1,59)	0,71		
	C/T	55 (34,59)				113 (34,24)				C/T+C/C vs T/T			1,35 (0,57–3,20)	0,49
	T/T	9 (5,66)				14 (4,24)								
<i>IL2</i> rs2069762	A/A	37 (44,05)	0,46	0,44	0,88	131 (39,94)	0,47	0,46	0,98	A/A vs A/C+C/C	0,84 (0,52–1,37)	0,5		
	A/C	39 (46,43)				154 (46,95)				A/C+A/A vs C/C			0,70 (0,31–1,55)	0,36
	C/C	8 (9,52)				43 (13,11)								
<i>IL4</i> rs2070874	C/C	74 (47,44)	0,46	0,42	0,55	164 (50,00)	0,41	0,42	0,87	C/C vs C/T+T/T	1,11 (0,76–1,62)	0,6		
	C/T	71 (45,51)				133 (40,55)				C/T+C/C vs T/T			0,73 (0,36–1,49)	0,37
	T/T	11 (7,05)				31 (9,45)								
<i>IL6</i> rs1800795	G/G	34 (34,69)	0,48	0,48	0,99	106 (35,22)	0,48	0,48	0,99	G/G vs G/C+C/C	1,02 (0,63–1,65)	0,92		
	G/C	47 (47,96)				145 (48,17)				G/C+G/G vs C/C			1,05 (0,58–1,93)	0,87
	C/C	17 (17,35)				50 (16,61)								
<i>IL8</i> rs4073	T/T	36 (29,03)	0,51	0,49	0,96	101 (32,27)	0,47	0,49	0,67	T/T vs T/A+A/A	1,16 (0,74–1,83)	0,51		
	T/A	63 (50,81)				147 (46,96)				T/A+T/T vs A/A			0,96 (0,57–1,62)	0,89
	A/A	25 (20,16)				65 (20,77)								
<i>IL10</i> rs1800871	C/C	70 (47,95)	0,45	0,42	0,74	108 (52,43)	0,39	0,4	0,85	C/C vs C/T+T/T	1,20 (0,78–1,83)	0,41		
	C/T	65 (44,52)				80 (38,83)				C/T+C/C vs T/T			0,85 (0,39–1,86)	0,68
	T/T	11 (7,53)				18 (8,74)								

Примечания: <sup>1</sup> — наблюдаемая гетерозиготность; <sup>2</sup> — ожидаемая гетерозиготность; <sup>3</sup> — статистическая значимость отклонения от равновесия Харди–Вайнберга (достоверно при  $p < 0,05$ ); <sup>4</sup> — статистическая значимость показателя отношения шансов (ОШ).

частот распределения аллелей и генотипов в исследуемых группах оценивали с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса на множественные сравнения. Оценку межгрупповых различий по показателю концентрации сывороточных интерлейкинов проводили при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни ( $U$ -test). Поиск ассоциаций исследуемых полиморфизмов с риском развития ЗНО проводили в рамках двух генетических моделей: доминантной (объединенное сравнение гетерозиготного и вариантного гомозиготного генотипов с референтным гомозиготным генотипом) и рецессивной (объединенное сравнение гетерозиготного и референтного гомозиготного генотипов с вариантным гомозиготным генотипом). Для оценки связи полиморфных участков генов с риском развития ЗНО рассчитывали показатель отношения шансов (ОШ) и 95%-го доверительного интервала (95% ДИ) согласно формуле, предложенной в литературе [25]. Ассоциации со значениями  $p < 0,05$  считали статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты распределения генотипов полиморфных локусов rs1143634, rs2069762, rs2070874, rs1800795,

rs4073, rs1800871 представлены в табл. 2. Для всех изученных полиморфных локусов наблюдалось соответствие равновесию Харди–Вайнберга.

С целью установления возможного влияния полиморфных участков *IL1B* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) на концентрацию интерлейкинов в группе облученных лиц без ЗНО было проведено исследование концентрации соответствующих сывороточных интерлейкинов у носителей разных генотипов (табл. 3). В результате исследования у носителей минорного аллеля rs2070874\*Т (генотипы С/Т и Т/Т) было выявлено статистически значимое снижение содержания *IL4* в сыворотке крови по сравнению с носителями доминантного генотипа С/С по полиморфному участку rs2070874 в гене *IL4* ( $p = 0,02$ ). На уровне тенденции с 90%-й значимостью у носителей минорного аллеля rs1143634\*Т (генотипы С/Т и Т/Т) гена *IL1* обнаружено снижение концентрации сывороточного *IL1* по сравнению с носителями генотипа С/С ( $p = 0,054$ ). Для остальных полиморфных локусов статистически значимых изменений в концентрации сывороточных интерлейкинов у носителей разных генотипов не зарегистрировано.

Несмотря на то что в данной работе мы не выявили влияния остальных полиморфных участков

Таблица 3. Показатели системного иммунитета у носителей различных генотипов исследуемых SNP в группе облученных лиц без онкологических заболеваний

Показатель	Модель	Генотип1	Среднее значение показателя (SE)	$p^2$
IL1b rs1143634 (n = 246)				
Содержание IL1, пг/мл	Доминантная	C/C (160) C/T+T/T (86)	41,05 (8,88) 30,21 (8,61)	0,054
	Рецессивная	C/C+C/T (239) T/T (7)	38,00 (6,69) 12,06 (5,64)	0,39
IL2 rs2069762 (n = 234)				
Содержание IL2, пг/мл	Доминантная	A/A (98) A/C+C/C (136)	10,52 (1,07) 10,11 (1,09)	0,56
	Рецессивная	A/A+A/C (205) C/C (29)	10,38 (0,85) 9,58 (1,74)	0,92
IL4 rs2070874 (n = 240)				
Содержание IL4, пг/мл	Доминантная	C/C (130) C/T+T/T (110)	5,16 (0,50) 4,13 (0,56)	0,02*
	Рецессивная	C/T+C/C (217) T/T (23)	4,56 (0,37) 4,99 (1,74)	0,64
IL6 rs1800795 (n = 114)				
Содержание IL6, пг/мл	Доминантная	G/G (42) G/C+C/C (72)	24,00 (11,37) 16,24 (5,79)	0,84
	Рецессивная	G/C+G/G (93) C/C (21)	22,12 (6,73) 5,76 (2,89)	0,13
IL8 rs4073 (n = 231)				
Содержание IL8, пг/мл	Доминантная	T/T (79) T/A+A/A (152)	6,36 (1,45) 7,94 (1,55)	0,58
	Рецессивная	T/A+T/T (189) A/A (42)	7,82 (1,34) 5,53 (1,56)	0,67
IL10 rs1800871 (n = 166)				
Содержание IL10, пг/мл	Доминантная	C/C (88) C/T+T/T (78)	17,52 (2,02) 16,83 (2,61)	0,5
	Рецессивная	C/T+C/C (151) T/T (15)	16,50 (1,65) 24,23 (6,81)	0,4

Примечания: <sup>1</sup> — в круглых скобках после наименования генотипа указано число обследованных лиц, имеющих данный генотип; <sup>2</sup> — статистическая значимость показателя  $U$ -критерия Манна-Уитни; \* — уровень значимости  $p < 0,05$   $U$ -критерия Манна-Уитни содержания ИЛ (пг/мл) между носителями различных генотипов.

генов интерлейкинов на концентрации сывороточных интерлейкинов, следует заметить, что в ранее проведенных нами исследованиях у облученных лиц была установлена связь rs2069762 в гене *IL2* с количеством Т-лимфоцитов и Т-НК-клеток (фенотип CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>) и rs1800795 в гене *IL6* с количеством Т-хелперов [26]. В связи с этим нами было проведено исследование связи изученных полиморфных локусов с риском развития онкологических заболеваний у облученных лиц. Исследование проводили в соответствии с двумя генетическими моделями (рецессивная и доминантная). Однако ни для одного из изученных полиморфных локусов не была обнаружена связь с онкологическими заболеваниями (табл. 2).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Одним из механизмов, объясняющих связь конкретного полиморфного участка с риском развития заболевания, может быть влияние этого полиморфизма на структуру белка (в случае нахождения в кодирующей области гена) или изменение его концентрации (в случае расположения в интронной и промоторных областях гена). Так, например, полиморфизм rs2069762 располагается в сайте связывания транскрипционного фактора с промоторным регионом гена *IL2* и влияет на экспрессию *IL2* [27].

В приведенных нами исследованиях у лиц, подвергшихся низкоинтенсивному хроническому радиационному

воздействию в диапазоне доз на ККМ от 1,17 до 3507 мГр (среднее значение — 566 мГр), выявлено статистически значимое снижение содержания *IL4* в сыворотке крови у носителей генотипов *C/T* и *T/T* по сравнению с носителями доминантного генотипа *C/C* по полиморфному участку rs2070874.

Полиморфный участок rs2070874 находится в 5'-нетранслируемой области (5'UTR) гена *IL4*. Область 5'UTR связана с контролем эффективности трансляции белка, поскольку отвечает за связывания транскрипционного фактора, РНК-полимеразы и образования иницирующего рибосомного комплекса [28, 29]. Вероятно, замена в данной области может влиять на эффективность процесса трансляции и конечную концентрацию *IL4*.

Кроме того, с 90%-й значимостью у носителей минорного аллеля rs1143634\*Т (генотипы *C/T* и *T/T*) гена *IL1* обнаружено снижение концентрации сывороточного *IL1* по сравнению с носителями генотипа *C/C*. Полиморфный участок rs1143634 является синонимичным вариантом и может вызывать нарушение сплайсинга мРНК, что, вероятно, проявляется в изменении концентрации белкового продукта [30]. Влияние выявленных полиморфных участков на концентрацию сывороточных продуктов в доступной литературе найдено не было.

Согласно литературным данным, в ряде исследований обнаружена связь полиморфных локусов *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073) с риском

развития ЗНО различных локализаций. Так, rs2069762 связан с предрасположенностью к развитию рака мочевого пузыря [17], карциномы носоглотки [18] и неходжкинской лимфомы [19]; rs2070874 ассоциирован с риском развития лейкоза и рака полости рта [20]; rs1800795 — с раком шейки матки, колоректальным раком и раком молочной железы [21]; rs4073 — с повышенным риском развития рака желудка [22]. Кроме того, зарегистрировано совместное модифицирующее действие полиморфизма и онкогенного фактора, например при стаже курения менее 35 лет дополнительным фактором риска развития плоскоклеточного рака легкого у мужчин было наличие аллеля rs1800795\*G в гене *IL6* [16]. Однако в наших исследованиях не установлена связь локусов *IL1B* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) с риском развития ЗНО у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. Вероятно, это обусловлено гетерогенностью представленных в исследовании ЗНО. Важно учитывать, что канцерогенез является многостадийным процессом, в который вовлечены различные сигнальные пути и защитные системы

организма, регулируемые большим количеством генов и генных сетей, в связи с чем требуются дальнейшее исследование по поиску генетических маркеров развития ЗНО.

## ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования выявлена связь полиморфного участка *IL4* (rs2070874) с концентрацией сывороточного *IL4*. Содержание сывороточного *IL4*, у носителей генотипов С/Т и Т/Т в соответствии с доминантой моделью было статистически значимо ниже относительно носителей генотипа С/С. При этом у лиц с ЗНО, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в диапазоне доз на ККМ от 0,70 до 3393 мГр (среднее значение — 700 мГр), не выявлено связи полиморфных локусов *IL1b* (rs1143634), *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874), *IL6* (rs1800795), *IL8* (rs4073), *IL10* (rs1800871) с риском развития ЗНО. Однако, как показано нами, наличие полиморфных участков в генах интерлейкинов может влиять на отдельные показатели иммунной системы и тем самым модифицировать ответ на радиационное воздействие.

## Литература

1. Телетаева Г. М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет. Практическая онкология. 2007; 8 (4): 211–18.
2. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev.* 2018; 32 (19–20): 1267–84.
3. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017; 14 (7): 399–416.
4. Kumari N, Dwarakanath BS, Das A, Bhatt AN. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. *Tumour Biol.* 2016; 37 (9): 11553–72.
5. Teijeira A, Garasa S, Ochoa MC, Villalba M, Olivera I, Cirella A, et al. IL8, Neutrophils, and NETs in a collusion against cancer immunity and immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2021; 27 (9): 2383v93.
6. Briukhovetska D, Dörr J, Endres S, Libby P, Dinarello CA, Kobold S. Interleukins in cancer: from biology to therapy. *Nat Rev Cancer.* 2021; 21 (8): 481–99.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144: 646–74.
8. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002; 420: 860–7.
9. Lumniczky K, Impens N, Armengol G, Candeias S, Georgakilas AG, Hornhardt S, et al. Low dose ionizing radiation effects on the immune system. *Environment International.* 2021; 149: 106212.
10. I. Shigematsu C. Kamada Ito N. Effects of A-bomb radiation on the human body. Tokyo: Harwood academic publishers. Bunkodo Co., 1995; 419 s.
11. Hayashi T, Kusunoki Y, Hakoda M, Morishita Y, Kubo Y, Maki M, et al. Radiation dose-dependent increases in inflammatory response markers in A-bomb survivors. *International Journal of Radiation Biology.* 2003; 79 (2): 129–36.
12. Hayashi T, Morishita Y, Kubo Y, Kusunoki Y, Hayashi I, Kasagi F, et al. Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb survivors. *The American Journal of Medicine.* 2005; 118 (1): 83–86.
13. Senyuk OF, Kavsan VM, Müller WE, Schröder HC. Long-term effects of low-dose irradiation on human health. *Cellular and Molecular Biology.* 2002; 48 (4): 393–409.
14. Аклеев А. А. Иммунный статус человека в отдаленном периоде хронического радиационного воздействия. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2020; 65 (4): 29–35.
15. Козинцева Е. А., Аклеев А. А., Блинова Е. А. Цитокиновый профиль лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки после облучения. Радиационная биология. Радиозология. 2021; 61 (5): 506–14.
16. Гордеева Л. А., Мун С. А., Воронина Е. Н., Поленок Е. Г., Магатиная А. Д., Титов В. А. и др. Ассоциации полиморфизма в генах цитокинов с риском плоскоклеточного рака легкого у мужчин в зависимости от длительности курения. Экологическая генетика. 2018; 16 (1): 60–69.
17. Shen Y, Liu Y, Liu S, Zhang A. The association between –330T/G polymorphism of interleukin 2 gene and bladder cancer. *DNA and Cell Biology.* 2012; 31: 983–7.
18. Wei YS, Lan Y, Zhang L, Wang JC. Association of the interleukin-2 polymorphisms with interleukin-2 serum levels and risk of nasopharyngeal carcinoma. *DNA and cell biology.* 2010; 29 (7): 363–8.
19. Song H, Chen L, Cha Z, Bai J. Interleukin 2 gene polymorphisms are associated with non-Hodgkin lymphoma. *DNA Cell Biol.* 2012; 31 (7): 1279–84.
20. Jia Y, Xie X, Shi X, Li S. Associations of common IL4 gene polymorphisms with cancer risk: A meta-analysis. *Mol Med Rep.* 2017; 16 (2): 1927–45.
21. Peng X, Shi J, Sun W, Ruan X, Guo Y, Zhao L, et al. Genetic polymorphisms of IL-6 promoter in cancer susceptibility and prognosis: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2018; 9 (15): 12351–64.
22. Moghimi M, Alireza Dastgheib S, Heiranizadeh N, Zare M, Sheikhpour E, H. Neamatzadeh H. Association of IL-8 –251T>A (rs4073) polymorphism with susceptibility to gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on 33 case-control studies. *Gastroenterol.* 2020; 57 (01): 91–99.
23. Аклеев А. В., Киселев М. Ф., редакторы. Медико-биологические и экологические последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. М.: Вторая типография ФУ «Медбиоэкстрем», 2001; 531 с.
24. 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.
25. Bland JM. Statistics Notes: The odds ratio. *BMJ.* 2000; 320 (7247): 1468.

26. Аклев А. А., Блинова Е. А., Аклев А. В. Однонуклеотидные полиморфизмы как биомаркеры отдаленных радиационно-индуцированных изменений системного иммунитета. Патогенез. 2021; 19 (3): 38–49.
27. Jain J, Valge-Archer VE, Rao A. Analysis of the AP-1 sites in the IL-2 promoter. J Immunol. 1992; 148 (4): 1240–50.
28. Hinnebusch AG, Ivanov IP, Sonenberg N. Translational control

- by 5'-untranslated regions of eukaryotic mRNAs. Science. 2016; 352 (6292): 1413–6.
29. Robert F, Pelletier J. Exploring the impact of single-nucleotide polymorphisms on translation. Front Genet. 2018; 9: 507.
30. Mueller WF, Larsen LS, Garibaldi A, Hatfield GW, Hertel KJ. The Silent Sway of Splicing by Synonymous Substitutions. The Journal of biological chemistry. 2015; 290 (46): 27700–11.

## References

1. Teletaeva GM. Citokiny i protivopukhlevyj immunitet. Prakticheskaya onkologiya. 2007; 8 (4): 211–18. Russian.
2. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. Genes Dev. 2018; 32 (19–20): 1267–84.
3. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. Nat Rev Clin Oncol. 2017; 14 (7): 399–416.
4. Kumari N, Dwarakanath BS, Das A, Bhatt AN. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. Tumour Biol. 2016; 37 (9): 11553–72.
5. Teijeira A, Garasa S, Ochoa MC, Villalba M, Olivera I, Cirella A, et al. IL8, Neutrophils, and NETs in a collusion against cancer immunity and immunotherapy. Clin Cancer Res. 2021; 27 (9): 2383v93.
6. Briukhovetska D, Dörr J, Endres S, Libby P, Dinarello CA, Kobold S. Interleukins in cancer: from biology to therapy. Nat Rev Cancer. 2021; 21 (8): 481–99.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011; 144: 646–74.
8. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature. 2002; 420: 860–7.
9. Lumniczky K, Impens N, Armengol G, Candeias S, Georgakilas AG, Hornhardt S, et al. Low dose ionizing radiation effects on the immune system. Environment International. 2021; 149: 106212.
10. I. Shigematsu C, Kamada Ito N. Effects of A-bomb radiation on the human body. Tokyo: Harwood academic publishers. Bunkodo Co., 1995; 419 s.
11. Hayashi T, Kusunoki Y, Hakoda M, Morishita Y, Kubo Y, Maki M, et al. Radiation dose-dependent increases in inflammatory response markers in A-bomb survivors. International Journal of Radiation Biology. 2003; 79 (2): 129–36.
12. Hayashi T, Morishita Y, Kubo Y, Kusunoki Y, Hayashi I, Kasagi F, et al. Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb survivors. The American Journal of Medicine. 2005; 118 (1): 83–86.
13. Senyuk OF, Kavsan VM, Müller WE, Schröder HC. Long-term effects of low-dose irradiation on human health. Cellular and Molecular Biology. 2002; 48 (4): 393–409.
14. Aklev AA. Immunnyj status cheloveka v otdalennom periode xronicheskogo radiacionnogo vozdejstviya. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2020; 65 (4): 29–35. Russian.
15. Kodinceva EA, Aklev AA, Blinova EA. Citokinovyy profil' lic, podvergshixsya xronicheskomu radiacionnomu vozdejstviyu, v otdalennye sroki posle oblucheniya. Radiacionnaya biologiya. Radioehkologiya. 2021; 61 (5): 506–14. Russian.
16. Gordeeva LA, Mun SA, Voronina EN, Polenok EG, Magatina AD, Titov VA, i dr. Associacii polimorfizma v genax citokinov s riskom ploskokletochnogo raka legkogo u muzhchin v zavisimosti ot dlitel'nosti kureniya. Ehkologicheskaya genetika. 2018; 16 (1): 60–69. Russian.
17. Shen Y, Liu Y, Liu S, Zhang A. The association between –330T/G polymorphism of interleukin 2 gene and bladder cancer. DNA and Cell Biology. 2012; 31: 983–7.
18. Wei YS, Lan Y, Zhang L, Wang JC. Association of the interleukin-2 polymorphisms with interleukin-2 serum levels and risk of nasopharyngeal carcinoma. DNA and cell biology. 2010; 29 (7): 363–8.
19. Song H, Chen L, Cha Z, Bai J. Interleukin 2 gene polymorphisms are associated with non-Hodgkin lymphoma. DNA Cell Biol. 2012; 31 (7): 1279–84.
20. Jia Y, Xie X, Shi X, Li S. Associations of common IL4 gene polymorphisms with cancer risk: A meta-analysis. Mol Med Rep. 2017; 16 (2): 1927–45.
21. Peng X, Shi J, Sun W, Ruan X, Guo Y, Zhao L, et al. Genetic polymorphisms of IL-6 promoter in cancer susceptibility and prognosis: a meta-analysis. Oncotarget. 2018; 9 (15): 12351–64.
22. Moghimi M, Alireza Dastgheib S, Heiranizadeh N, Zare M, Sheikhpour E, H. Neamatzadeh H. Association of IL-8 –251T>A (rs4073) polymorphism with susceptibility to gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on 33 case-control studies. Gastroenterol. 2020; 57 (01): 91–99.
23. Aklev AV, Kiselev MF, redaktory. Mediko-biologicheskie i ehkologicheskie posledstviya radioaktivnogo zagryazneniya reki Techa. M.: Vtoraya tipografiya FU «Medbioehkstreml», 2001; 531 s. Russian.
24. Degteva MO, Nape BA, Tolstyx EI, Shishkina EA, Bugrov NG, Krestinina LYu, i dr. Raspredelenie individual'nyx doz v kogorte lyudej, obluchennyx v rezul'tate radioaktivnogo zagryazneniya reki Tech. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2019; 64 (3): 46–53. Russian.
25. Bland JM. Statistics Notes: The odds ratio. BMJ. 2000; 320 (7247): 1468.
26. Aklev AA, Blinova EA, Aklev AV. Odnokleotidnye polimorfizmy kak biomarkery otdalennyx radiacionno-inducirovannyx izmenenij sistemnogo immuniteta. Patogenez. 2021; 19 (3): 38–49. Russian.
27. Jain J, Valge-Archer VE, Rao A. Analysis of the AP-1 sites in the IL-2 promoter. J Immunol. 1992; 148 (4): 1240–50.
28. Hinnebusch AG, Ivanov IP, Sonenberg N. Translational control by 5'-untranslated regions of eukaryotic mRNAs. Science. 2016; 352 (6292): 1413–6.
29. Robert F, Pelletier J. Exploring the impact of single-nucleotide polymorphisms on translation. Front Genet. 2018; 9: 507.
30. Mueller WF, Larsen LS, Garibaldi A, Hatfield GW, Hertel KJ. The Silent Sway of Splicing by Synonymous Substitutions. The Journal of biological chemistry. 2015; 290 (46): 27700–11.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ БЕЛКА FOXP3 В ЛИЗАТАХ МИТОГЕН-СТИМУЛИРОВАННЫХ МОНОНУКЛЕАРОВ КРОВИ

Е. А. Козинцева<sup>1,2</sup> ✉, А. А. Аклев<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

<sup>3</sup> Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

Нарушения процессов дифференцировки и функционирования Treg могут быть одним из важнейших звеньев в патогенезе радиационно-индуцированных злокачественных новообразований у людей из когорты реки Теча, хронически облученных в диапазоне малых и средних доз с преимущественным поражением красного костного мозга (ККМ). Целью работы было определить влияние радиационного воздействия, пола, возраста на момент обследования и этнической принадлежности на концентрацию белка FOXP3 в лизатах митоген-стимулированных мононуклеарных клеток периферической крови у хронически облученных людей в период реализации канцерогенных эффектов. Основную группу составили 30 человек в возрасте 67–80 лет, среди них преобладали женщины и лица тюркской этнической группы. В группу сравнения вошли 10 необлученных человек аналогичного возраста, пола, этнической группы. В основной группе средняя доза облучения ККМ составила 867 мГр; тимуса и периферических лимфоидных органов — 125 мГр. После 24-часовой стимуляции ФГА *in vitro* мононуклеары лизировали, измеряли концентрацию общего белка и количественным иммуноферментным анализом — концентрацию FOXP3. Концентрация белка FOXP3 в митоген-стимулированных мононуклеарах статистически значимо не различалась у людей из разных дозовых групп (до стимуляции: 0 пг/мл в группе сравнения и  $3,50 \pm 1,50$  (0–27,19) пг/мл в основной группе при  $p = 0,349$ ; после стимуляции, соответственно:  $1,54 \pm 1,51$  (0–15,16) пг/мл и  $9,71 \pm 3,86$  (0–77,92) пг/мл,  $p = 0,512$ ). Вариабельность индивидуальных значений несколько выше у людей из основной группы, чем в группе сравнения. По предварительным результатам, статистически значимого влияния дозы облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов, возраста на момент обследования, а также пола, этнической принадлежности на концентрацию белка FOXP3 в лизатах митоген-стимулированных мононуклеаров периферической крови хронически облученных людей не выявлено.

**Ключевые слова:** хроническое радиационное воздействие, река Теча, внутриклеточная концентрация, фактор транскрипции FOXP3, мононуклеарные клетки периферической крови, фитогемагглютинин

**Финансирование:** научно-исследовательская работа выполнена в рамках государственного задания ФМБА России по теме «Состояние клеточного иммунитета человека в период реализации отдаленных эффектов хронического радиационного воздействия».

**Благодарности:** заведующему отделом Базы данных «Человек» ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России Н. В. Старцеву за предоставленные данные, старшему лаборанту лаборатории молекулярно-клеточной радиобиологии Н. П. Литвиненко ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России за помощь в проведении эксперимента.

**Вклад авторов:** Е. А. Козинцева — разработка концепции и дизайна исследования, экспериментальная работа, анализ и статистическая обработка данных, написание статьи; А. А. Аклев — разработка концепции исследования, интерпретация результатов, редактирование статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 3 от 8 июня 2023 г.). Участники исследования подписали добровольное информированное согласие в рамках Хельсинкской декларации 2013 г.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Александровна Козинцева  
ул. Воровского, д. 68А, г. Челябинск, 454141, Россия; ovcharova.cat@mail.ru

**Статья получена:** 31.07.2023 **Статья принята к печати:** 22.08.2023 **Опубликована онлайн:** 28.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.032

## THE EFFECT OF CHRONIC EXPOSURE ON THE FOXP3 CONCENTRATION IN LYSATES OF THE MITOGEN-STIMULATED MONONUCLEAR CELLS

Kodintseva EA<sup>1,2</sup> ✉, Akleyev AA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Urals Research Center for Radiation Medicine of Federal Medical and Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

<sup>3</sup> South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Disruptions of the Treg differentiation and functioning processes can play one of the crucial roles in the pathogenesis of radiation-induced malignant neoplasms in residents of the Techa riverside villages, who were chronically exposed in the low-to-medium dose range with predominant damage to the red bone marrow (RBM). This study aimed to determine the effect of radiation exposure, gender, age at the time of examination, and ethnicity on concentration of FOXP3 protein in lysates of mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells in chronically exposed individuals in the period of cancer effects development. The main group consisted of 30 people aged 67–80 years, predominantly female and Turks. The comparison group included 10 unexposed individuals of similar age, gender, and ethnicity. In the main group, the mean dose to RBM was 867 mGr, to the thymus and peripheral lymphoid organs — 125 mGr. After 24-hour *in vitro* PHA stimulation, mononuclears were lysed, and the concentrations of the total protein and FOXP3 (using quantitative enzyme immunoassay) were measured. Among the different dose groups, there were no significant differences in FOXP3 concentration in mitogen-stimulated mononuclears (prior to the stimulation: 0 pg/ml in the comparison group and  $3.50 \pm 1.50$  (0–27.19) pg/ml in the main group at  $p = 0.349$ ; after the stimulation, respectively:  $1.54 \pm 1.51$  (0–15.16) pg/ml and  $9.71 \pm 3.86$  (0–77.92) pg/ml,  $p = 0.512$ ). The variability of individual values is slightly higher in the main group than in the comparison group. Preliminary results allow concluding that the dose to RBM, thymus and peripheral lymphoid organs, age at the time of examination, gender, and ethnicity have no statistically significant effect on the concentration of FOXP3 protein in the lysates of the mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells of chronically exposed people.

**Keywords:** chronic radiation exposure, the Techa River, intracellular concentration, FOXP3 transcription factor, peripheral blood mononuclear cells, Phytohemagglutinin

**Funding:** this study was carried out in the framework of state assignment of the FMBA of Russia, subject "State of human cellular immunity during realization of long-term effects of chronic radiation exposure."

**Acknowledgments:** authors thank Startsev NV, Head of the "Human Being" Database Department of the Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia, for the data provided; Litvinenko NP, senior laboratory assistant at the Laboratory of Molecular Cellular Radiobiology of the Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia, for assistance in conducting the experiment.

**Author contribution:** Kodintseva EA — study concept and design, experimental work, analysis and statistical processing of the data, article authoring; Akleyev AA — study concept, interpretation of the results, article editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia (Minutes #3 of June 8, 2023). Participants of the study signed a voluntary informed consent in conformity with the 2013 Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina A. Kodintseva  
Vorovskogo, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; ovcharova.cat@mail.ru

**Received:** 31.07.2023 **Accepted:** 22.08.2023 **Published online:** 28.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.032

Актуальной задачей современной радиобиологии является поиск маркеров индивидуальной радиочувствительности в контексте реализации отдаленных эффектов облучения [1–3]. Одним из наиболее значимых эффектов воздействия ионизирующих излучений на человека является радиационно-индуцированный канцерогенез, патогенетические механизмы которого в настоящее время активно исследуют. Повышенный риск онкопатологии в отдаленные сроки после радиационного воздействия отмечается в разных когортах людей: у лиц, переживших атомные бомбардировки [4], ликвидаторов радиационных аварий [5], в когортах профессионалов [6], у проживающего на радиационно загрязненных территориях населения [7, 8]. В частности, в когорте облученных на реке Тече лиц выявлены повышенные риски заболеваемости и смертности от злокачественных опухолей и лейкозов [9].

Идентификация и верификация маркеров предрасположенности к развитию радиационно-индуцированной онкопатологии важна для оптимизации подходов к формированию групп повышенного риска в когортах людей, пострадавших в результате облучения, с целью максимально полного медицинского наблюдения за лицами с повышенным риском развития злокачественных новообразований (ЗНО) [2]. Показатели иммунитета, в первую очередь, характеризующие состояние Т-клеток, в отдаленные сроки после радиационного воздействия могут быть рассмотрены в качестве таких маркеров. Так, у жителей сел, расположенных вдоль побережья реки Течи, перенесших хронический лучевой синдром (ХЛС), через 65 лет после начала облучения отмечено снижение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов в периферической крови и повышение сывороточных концентраций IL4 и ФНО $\alpha$  по сравнению с людьми аналогичного возраста и пола, облученными в сопоставимых дозах, но не имевших ХЛС в анамнезе [10].

В контексте патогенетических механизмов радиационно-индуцированного канцерогенеза гетерогенная субпопуляция Т-регуляторных клеток (Трег или CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>-лимфоциты [11]) представляет особый интерес. Фактор транскрипции FOXP3 специфичен для Трег и обеспечивает контроль дифференцировки и функционирования этой субпопуляции лимфоцитов [12]. Определение уровней этого белка может быть перспективно в качестве одного из потенциальных маркеров предрасположенности к развитию радиационно-индуцированной онкопатологии человека в отдаленном периоде после хронического радиационного воздействия с преимущественным поражением центрального органа гемопозеза — красного костного мозга (ККМ). Ген FOXP3 доминантно контролирует функцию Трег, а его непрерывная экспрессия гарантирует сохранение полной супрессивной способности этих клеток [11]. Фактор транскрипции FOXP3 репрессирует транскрипцию IL2, повышает экспрессию CD25 и других маркеров Трег. Механизмы Трег-опосредованной супрессии до сих пор обсуждают, но известно, что регуляция экспрессии белка FOXP3 критически важна для контроля иммунных реакций, включая противоопухолевый надзор [12].

В норме белок FOXP3 взаимодействует с ключевыми транскрипционными факторами Т-лимфоцитов, включая NFAT, NF $\kappa$ B и AML1/Runx1 и др. Экспрессию гена FOXP3 контролирует транскрипционная и эпигенетическая регуляция. Изменение экспрессии гена FOXP3 приводит к смене фенотипа Т-клеток и изменению их функций [12]. У человека экспрессия гена FOXP3 в большинстве CD4<sup>+</sup>-Т-

клетках может быть вызвана продолжительной стимуляцией Т-клеточного рецептора. При этом большинство FOXP3<sup>+</sup> Т-клеток имеют низкий уровень фактора FOXP3 [12]. Транскрипция гена FOXP3 может быть инициирована в эффекторных Т-клетках при распознавании антигена в процессе воспаления [13]. За счет способности к ингибированию противоопухолевого иммунитета Трег способствуют развитию и прогрессированию опухолей. Высокая инфильтрация опухолевой ткани Трег клетками связана с плохой выживаемостью пациентов при различных типах ЗНО [14]. Регуляторные функции Трег, инфильтрирующих опухоль, осуществляются посредством сигнального пути COX2 / PGE2 [15]. В настоящее время Трег активно изучают как потенциальные терапевтические мишени при онкотерапии [14], однако исследования модулирующих эффектов ионизирующих излучений на фенотип и функции Трег-клеток, включая экспрессию гена FOXP3, концентрации и функциональную активность фактора транскрипции FOXP3, в доступной научной литературе представлены в ограниченном объеме [16].

Пластичность субпопуляции Трег, участие фактора транскрипции FOXP3 в дифференцировке Трег, а также роль регуляторных Т-клеток в радиационно-индуцированном канцерогенезе определяют актуальность количественного исследования белка FOXP3 в мононуклеарах периферической крови у людей из когорты реки Течи.

Целью данной работы было исследование влияния радиационного воздействия, пола, возраста на момент обследования и этнической принадлежности на концентрацию белка FOXP3 в лизатах митоген-стимулированных мононуклеарных клеток периферической крови у хронически облученных жителей прибрежных сел реки Течи в период реализации канцерогенных эффектов.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование образцов крови сельских жителей, постоянно проживающих в прибрежной зоне реки Течи и подвергшихся хроническому низкоинтенсивному облучению преимущественно за счет остетропных радионуклидов (ККМ — орган-мишень), проводили во ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России. Доза облучения каждого пациента была оценена с помощью дозиметрической системы TRDS-2016 [17].

Перед взятием крови пациенты в установленном порядке проходили медицинский осмотр. Критерии включения в исследование: отсутствие острых и хронических воспалительных заболеваний в стадии обострения; отсутствие почечной или печеночной недостаточности. Критерии исключения: приступы острого нарушения мозгового кровообращения или черепно-мозговые травмы в течение трех месяцев до исследования; наличие подтвержденных онкологических и аутоиммунных заболеваний; наличие курсов гормоно-, антибиотико-, химио- и (или) радиотерапии; проведение медицинских процедур с применением ионизирующих излучений в течение шести месяцев перед исследованием.

В группу облученных людей (основная группа) были включены 30 человек в возрасте 67–80 лет, средний возраст которых составил  $72,4 \pm 0,5$  года. Средняя накопленная доза облучения, рассчитанная на ККМ, у людей из данной группы составила  $876 \pm 136$  мГр с диапазоном значений 87–3716 мГр. Средняя накопленная доза облучения, рассчитанная на тимус и периферические



Таблица. Концентрации фактора транскрипции FOXP3 в лизатах МНК после митогенной стимуляции

Концентрация, пг/мл		Группа сравнения, доза облучения ККМ: менее 0,07 Гр, n = 10	Основная группа, доза облучения ККМ: от 0,07 до 3,72 Гр, n = 30	Подгруппы основной группы, доза облучения ККМ:		
				от 0,07 до 0,49 Гр, n = 10	от 0,50 до 0,84 Гр, n = 10	от 0,85 до 3,72 Гр, n = 10
FOXP3 через 24 ч инкубации	без ФГА	0	3,50 ± 1,50 (0–27,19)	2,63 ± 2,63 (0–26,33)	6,78 ± 3,52 (0–27,19)	1,09 ± 0,78 (0–7,32)
	с ФГА	1,54 ± 1,51 (0–15,16)	9,71 ± 3,86 (0–77,92)	5,97 ± 4,88 (0–48,84)	13,42 ± 8,00 (0–77,92)	9,73 ± 7,28 (0–73,2)

Примечание: данные представлены в формате  $M \pm m$  (min–max).

лимфоидные органы (ТиПЛО) —  $125 \pm 20$  МГр с разбросом значений от 28 до 446 МГр.

Для изучения дозовых зависимостей основная группа пациентов была разбита на три группы пациентов с минимальными (0,07–0,49 Гр включительно), средними (0,50–0,84 Гр включительно) и высокими (0,85–3,72 Гр включительно) дозами облучения, рассчитанными на ККМ, по десять человек аналогичного возраста, пола и этноса в каждой группе. Статистически значимых различий по качественным характеристикам между тремя дозовыми группами и группой сравнения не обнаружено.

Группу сравнения составили 10 человек в возрасте 63–82 лет, не подвергавшихся радиационному воздействию в результате деятельности промышленных предприятий. Средний возраст людей в этой группе был равен  $71,2 \pm 2,0$  года. Средняя накопленная доза облучения ККМ у людей из этой группы составила  $27 \pm 4$  МГр с диапазоном значений 15–49 МГр. Средняя накопленная доза облучения ТиПЛО —  $12 \pm 3$  МГр с интервалом значений 2–34 МГр.

В каждой группе преобладали женщины: 73,3% (22 человека) — в основной группе и 90,0% (9 человек) — в группе сравнения. В основной группе присутствовало 80,0% (24 человека) людей тюркской этнической группы, в группе сравнения — 70,0% (7 человек). Статистически значимые различия в возрасте, поле, этническом составе основной группы и группы сравнения не выявлены.

Образцы крови (4 мл) получали по стандартной технологии [18] из локтевой вены утром натощак в вакуэты, содержащие гепарин натрия. Фракцию мононуклеарных клеток (МНК) выделяли на градиенте плотности  $1,077$  г/см<sup>3</sup> («Биолот»; Россия), дважды отмывали модифицированным по Дульбекко фосфатно-солевым буфером («Биолот»; Россия). Для инкубации МНК в течение 24 ч при  $37,0 \pm 0,5$  °С использовали среду RPMI-1640 (HEPES 25 мМ, NaHCO<sub>3</sub> 24 мМ) («Панэко»; Россия) с витаминами («Панэко»; Россия), L-глутамином 2 мМ («Панэко»; Россия), в которую добавляли 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Биолот»; Россия). В тестовую пробу МНК вносили фитогемагглютинин-П (ФГА) («Панэко»; Россия) в конечной концентрации 20 мкг/мл, в контрольную пробу МНК — равное раствору митогена количество воды очищенной. После стимуляции МНК осаждали, удаляли супернатант и хранили при минус 80 °С до следующего этапа. Оттаивание МНК проводили при температуре 2–8 °С, гемолиз примеси эритроцитов индуцировали охлажденным хлоридом аммония раствором pH 7,27,4 [19]. МНК отмывали холодным фосфатно-солевым буфером (pH 7,4) (Sigma-Aldrich; США). Оценивали концентрацию клеток с помощью счетчика клеток «Countess II FL» (Thermo Scientific; США). Лизировали МНК, трижды замораживая при температуре минус 20 °С и размораживая пробы при комнатной температуре согласно рекомендациям производителя тест-системы для иммуноферментного анализа (ИФА). Количественно общий белок в лизатах клеток

анализировали в реакции с бидинхониновой кислотой (тест-система фирмы «Merck»; США) в 96-луночном планшете с помощью анализатора «Lazurite» (Dynex Technologies Inc.; США). Содержание фактора транскрипции FOXP3 в пробах определяли методом количественного ИФА (тест-система фирмы «Blue gene»; Китай) на том же анализаторе с последующим пересчетом результата на 1 мкг общего белка в пробе.

При статистическом анализе данных использовали программное обеспечение SigmaPlot (демоверсия; SYSTAT Software, США). Гипотезу о нормальном распределении частот в выборках проверяли по критерию Колмогорова–Смирнова. Фактическое распределение частот отличалось от нормального во всех выборках. Для максимальной наглядности (медианное значение равно нулю в случаях, когда концентрация фактора транскрипции FOXP3 во всех или в большинстве исследуемых проб выборки была ниже предела количественного определения ИФА тест-системы) данные описательной статистики выражали как среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего (m) и диапазон значений (min–max). Выборки данных сравнивали при помощи U-критерия Уилкоксона–Манна–Уитни. Качественные показатели — методом  $\chi^2$ . Корреляционный анализ выполняли методом Спирмена. Статистическую значимость различий или связей оценивали при 95%-м уровне доверительной вероятности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты количественного определения фактора транскрипции FOXP3 в лизатах лимфоцитов после 24 ч инкубации с ФГА и без митогена представлены в таблице.

Не установлено статистически значимых различий при сравнении концентраций белка FOXP3 в лизатах МНК после 24 ч инкубации с ФГА и без митогена у обследованных людей из основной группы (до стимуляции:  $p = 0,349$ , после стимуляции  $p = 0,512$ ), из трех дозовых подгрупп (до стимуляции:  $p = 0,706$ ,  $p = 0,257$ ,  $p = 0,450$ ; после стимуляции:  $p = 0,940$ ,  $p = 0,326$ ,  $p = 0,597$  в порядке возрастания дозы облучения ККМ в подгруппе) и группы сравнения.

Вариация индивидуальных значений внутриклеточной концентрации фактора транскрипции FOXP3 в группах хронически облученных лиц с разными накопленными дозами облучения после митогенной стимуляции МНК *in vitro* несколько выше, чем в группе сравнения.

При анализе дозовых зависимостей не выявлено статистически значимых связей между концентрацией фактора транскрипции FOXP3 в исследуемых лизатах стимулированных (SR = 0,13;  $p = 0,414$ ) и не стимулированных (SR = 0,18;  $p = 0,263$ ) митогеном МНК в течение 24 ч и дозами облучения, рассчитанными на ККМ, а также на тимус и периферические лимфоидные органы (до стимуляции: SR = 0,23,  $p = 0,183$ ; после стимуляции: SR = 0,09,  $p = 0,602$ ).

Корреляционный анализ Спирмена не выявил влияния пола (до стимуляции:  $SR = -0,08$ ,  $p = 0,609$ , после стимуляции:  $SR = -0,03$ ,  $p = 0,856$ ), возраста на момент обследования (до стимуляции:  $SR = 0,02$ ,  $p = 0,915$ ; после стимуляции:  $SR = 0,11$ ,  $p = 0,484$ ), этнической принадлежности (до стимуляции:  $SR = 0,05$ ,  $p = 0,767$ ; после стимуляции:  $SR = -0,01$ ,  $p = 0,966$ ) на исследуемые показатели у обследованных людей из основной группы и из группы сравнения.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Особенностью радиационно-индуцированного канцерогенеза является длительный период реализации эффекта, что может быть обосновано дополнительным влиянием комплекса факторов нерадиационной природы на организм облученного человека, в том числе и факторов риска развития ЗНО. В организме, облученном в сублетальных дозах, включаются компенсаторно-приспособительные механизмы, адекватное функционирование которых препятствует, в частности, онкотрансформации нормальных клеток [10]. Иммунокомпетентные клетки являются основными эффекторами противоопухолевого иммунного надзора, нарушение их функций — один из ключевых аспектов патогенеза ЗНО [20].

У практически здоровых жителей сел, расположенных вдоль техногенно загрязненной радионуклидами поймы реки Течи и подвергшихся многолетнему низкоинтенсивному воздействию ионизирующих излучений вследствие производственной деятельности ПО «Маяк», в отдаленном периоде после начала облучения обнаружены стойкие изменения иммунного статуса, наиболее выраженные со стороны Т-звена иммунитета. Сообщается о снижении количества лейкоцитов (в основном, за счет нейтрофилов и лимфоцитов) в периферической крови, повышении лизосомной активности нейтрофилов, некоторой супрессии внутриклеточного кислород-зависимого метаболизма моноцитов [1] и смещении баланса системы цитокинов в сторону провоспалительного ответа [21].

Регуляторные Т-клетки, с одной стороны, могут напрямую ингибировать активность цитотоксических Т-клеток, с другой стороны — эти клетки могут быть рекрутированы или индуцированы онкотрансформированными клетками и клетками микроокружения опухоли, что позволяет им избегать иммунной атаки. Трег-лимфоциты могут препятствовать активации и дифференцировке  $CD4^+$ - и  $CD8^+$ -Т-клеток, индуцируют реактивность против аутологических и опухолевых антигенов [11].

В микроокружении опухоли индукция и дифференцировка Трег происходят из Т-лимфоцитов с сильной иммунодепрессивной функцией, которые подавляют противоопухолевый иммунитет, способствуя возникновению и развитию опухолей. Трег из опухолевого микроокружения, в свою очередь, могут подавлять функцию иммунных эффекторных клеток с помощью различных механизмов и являются важными факторами уклонения опухоли от иммунного надзора [22–25]. Трег микроокружения опухоли могут секретировать TGF $\beta$ , IL10 и IL35 [26], которые угнетают противоопухолевый иммунный ответ, подавляют антигенную презентацию в дендритных клетках, функцию Т-хелперов и генерируют опухолеспецифичные  $CD8^+$ -цитотоксические Т-лимфоциты. Цитокины IL10 и IL35 поразному экспрессируются субпопуляциями Трег клеток микроокружения опухоли и синергически способствуют истощению внутриопухолевых Т-клеток, регулируя

экспрессию нескольких ингибирующих рецепторов [27]. Трег способны к непосредственному цитолизу других клеток за счет секреции перфорина и гранзимов, а также синтезируют и продуцируют циклический аденозинфосфат, влияя на метаболизм других клеток [11, 14].

Экспериментальные данные, полученные на мышах, свидетельствуют об увеличении доли опухолевых и селезеночных Трег после локального облучения в дозах 10 и 20 Гр и снижении общего количества  $CD4^+FOXP3^+$ -Трег в лимфатических узлах после общего облучения мышей в дозе 1,25 Гр [28].

При воздействии ионизирующего излучения жизнеспособность  $CD4^+$ -лимфоцитов человека дозозависимо уменьшается. Отмечена более высокая радиорезистентность Трег по сравнению с  $CD4^+$ -лимфоцитами и зависимое от дозы снижение экспрессии гена *FOXP3* в Трег человека при дозах облучения 0,940 Гр и 1,875 Гр. Натуральные (нТрег) и TGF $\beta$ -индуцированные (iTрег) регуляторные Т-клетки проявляют повышенную устойчивость к облучению в дозе 10 Гр по сравнению с обычными  $CD4^+$ -лимфоцитами. Через 48 ч после облучения клеток в дозе 10 Гр экспрессия гена *FOXP3* снижается в нТрег и в iTрег (более выражено). Пониженная после облучения *in vitro* экспрессия гена *FOXP3* в iTрег не влияет на дифференцировку в Т-хелперы первого или второго типа. В  $CD4^+CD25^+$ -iTрег экспрессия гена *T-BET*, участвующего в процессе дифференцировки клеток в Т-хелперы первого типа, была низкой до и после облучения в дозе 10 Гр, а экспрессия гена *GATA3*, участвующего в дифференцировке лимфоцитов в Т-хелперы второго типа, снижалась через 48 ч после такого облучения. Облучение изменяет экспрессию характерных молекул iTрег. При воздействии ионизирующего излучения в iTрег увеличивается экспрессия гена *LAG-3*, снижается экспрессия молекул *CD25*, *CTLA-4*, а также способность клеток угнетать пролиферацию  $CD3^+CD8^+$ -лимфоцитов [16].

Полученные в настоящем исследовании данные позволяют говорить о сохранности в отдаленном периоде функционала Трег-клеток, циркулирующих в периферической крови практически (или «условно») здоровых хронически облученных людей, в том числе процессов их дифференцировки, реализуемых посредством гена *FOXP3* и его ключевого фактора транскрипции — белка FOXP3. Это может быть обусловлено высоким адаптационным потенциалом иммунной и гемопозитической системы человека, реализуемым в отдаленные сроки после хронического низкоинтенсивного радиационного воздействия с преимущественным поражением ККМ [1, 10, 21]. Однако представленные данные не позволяют исключать возможность aberrантных местных иммунных ответов с участием Трег на этапе инициации ЗНО у облученных пациентов из групп повышенного онкологического риска. Данная проблема требует более детального изучения.

Результаты выполненного исследования не противоречат современным научным данным, но позволяют пополнить их сведениями о реакции МНК, выделенных из периферической крови хронически облученных людей на митогенную стимуляцию *in vitro* в период реализации канцерогенных эффектов облучения у изучаемой когорты населения.

## ВЫВОДЫ

Значения концентрации факторов транскрипции FOXP3 в лизатах МНК через 24 ч инкубации с митогеном и без добавления ФГА статистически значимо не различались в

группах хронически облученных и необлученных людей. Не выявлено влияния доз облучения ККМ, а также тимуса и периферических лимфоидных органов на внутриклеточные концентрации фактора транскрипции FOXP3 в МНК периферической крови человека после стимулирования митогеном. Статистически значимых взаимосвязей между полом, возрастом на момент обследования, этнической принадлежностью обследованных людей на концентрацию белка FOXP3 в лизатах митоген-стимулированных МНК не обнаружено. Высокая вариация у практически здоровых хронически облученных людей индивидуальных значений внутриклеточной концентрации фактора транскрипции FOXP3 после стимуляции МНК митогеном *in vitro* косвенно

подтверждает гипотезу о наличии латентных и, по-видимому, компенсированных функциональных изменений в зрелых иммунокомпетентных клетках. Показатель может быть рассмотрен в качестве одного из потенциальных маркеров при оценке индивидуальной радиочувствительности человека в условиях хронического облучения в диапазоне малых и средних доз с преимущественным поражением ключевых факторов транскрипции, участвующих в дифференцировке иммунокомпетентных клеток и обеспечивающих их функционирование в норме у хронически облученного населения, а также изучение их роли при радиационно-индуцированном канцерогенезе.

## Литература

1. Аклев А. А. Иммунный статус человека в отдаленном периоде хронического радиационного воздействия. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2020; 4 (65): 29–35. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35.
2. Akleyev AV. Specific features of medical care provision to the population of the Techa riverside settlements. Journal of Radiological Protection. 2021; 41 (4): S342. DOI: 10.1088/1361-6498/ac0c02.
3. Rybkina VL, Bannikova MV, Adamova GV, Dörr H, Scherthan H, Azizova TV. Immunological Markers of Chronic Occupational Radiation Exposure. Health Physics. 2018; 115 (1): 108–13. DOI: 10.1097/HP.0000000000000855.
4. Ozasa K, Cullings HM, Ohishi W, Hida A, Grant EJ. Epidemiological studies of atomic bomb radiation at the Radiation Effects Research Foundation. International Journal of Radiation Biology. 2019; 95 (7): 879–91. DOI: 10.1080/09553002.2019.1569778.
5. Bazyka DA, Prisyazhnyuk AY, Gudzenko NA, Fuzik MM, Trotsyuk NK, Babkina NG, et al. Late oncological aftereffects of radiation exposure caused by the chornobyl accident. Probl Radiac Med Radiobiol. 2022; 27: 138–49. English, Ukrainian. DOI: 10.33145/2304-8336-2022-27-138-149.
6. Adliene D, Grieciene B, Skovorodko K, Laurikaitiene J, Puiso J. Occupational radiation exposure of health professionals and cancer risk assessment for Lithuanian nuclear medicine workers. Environmental Research. 2020; 183: 109–44. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109144.
7. Крестинина Л. Ю., Силкин С. С., Микрюкова Л. Д., Епифанова С. Б., Аклев А. В. Риск заболеваемости солидными злокачественными новообразованиями в Уральской когорте аварийно-облученного населения: 1956–2017. Радиационная гигиена. 2020; 13 (3): 6–17. DOI: 10.21514/1998-426X-2020-13-3-6-17.
8. Drozdovitch V. Radiation exposure to the thyroid after the chernobyl accident. Frontiers in Endocrinology (Lausanne). 2021 Jan [cited 2023 Apr 20]; 11: 569041. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33469445/>. DOI: 10.3389/fendo.2020.569041.
9. Крестинина Л. Ю., Силкин С. С., Дегтева М. О., Аклев А. В. Риск смерти от болезней системы кровообращения в Уральской когорте аварийно-облученного населения за 1950–2015 годы. Радиационная гигиена. 2019; 12 (1): 52–61. DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-1-52-61.
10. Аклев А. А., Долгушин И. И. Особенности иммунного статуса у людей, перенесших хронический лучевой синдром, в отдаленные сроки. Радиация и риск. 2018; 27 (2): 7666–85. DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-76-85.
11. Li C, Jiang P, Wei S, Xu X, Wang J. Regulatory T cells in tumor microenvironment: new mechanisms, potential therapeutic strategies and future prospects. Molecular Cancer. 2020 Jul [cited 2023 Apr 20]; 19 (1): 116. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32680511/> DOI: 10.1186/s12943-020-01234-1.
12. Ono M. Control of regulatory T–cell differentiation and function by T–cell receptor signalling and Foxp3 transcription factor complexes. Immunology. 2020; 160 (1): 24–37. DOI: 10.1111/imm.13178
13. Bending D, Paduraru A, Ducker CB, Prieto Martin P, Crompton T, Ono M. A temporally dynamic Foxp3 autoregulatory transcriptional circuit controls the effector Treg programme. EMBO Journal. 2018 Aug [cited 2023 Apr 20]; 37: e99013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29991564/>. DOI: 10.15252/embj.201899013.
14. Ohue Y, Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target? Cancer Science. 2019; 110 (7): 2080–9. DOI:10.1111/cas.14069.
15. Emel S, Mehmet S. Epigenetical targeting of the FOXP3 gene by S-adenosylmethionine diminishes the suppressive capacity of regulatory T cells ex vivo and alters the expression profiles. Journal of Immunotherapy. 2019; 42 (1): 11–22. DOI: 10.1097/CJI.0000000000000247.
16. Beauford SS, Kumari A, Garnett-Benson C. Ionizing radiation modulates the phenotype and function of human CD4+ induced regulatory T cells. BMC Immunology. 2020 Apr [cited 2023 Apr 20]; 21 (1): 18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32299365/> DOI: 10.1186/s12865-020-00349-w, DOI: 10.1186/s12865-020-00363-y.
17. Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бургов Н. Г., Крестинина Л. Ю. и др. В. 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.
18. Кишкун А. А. Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019; 1000 с.
19. Клаус Дж., редактор. Лимфоциты: методы. М.: Мир, 1990; 395 с.
20. Слепов Ю. К., Лаушкин М. А., Деев Р. В. Гипотеза о роли иммунной системы в канцерогенезе. Гены & Клетки. 2021; 16 (1): 82–91. DOI: 10.23868/202104013.
21. Козинцева Е. А., Аклев А. А., Блинова Е. А. Цитокиновый профиль лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки после облучения. Радиационная биология. Радиоэкология. 2021; 5 (61): 506–14. DOI: 10.31857/S0869803121050076.
22. Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, Tanaka A, Ichiyama K, Ohkura N. Regulatory T cells and human disease. Annual Review of Immunology. 2020; 38: 541–66. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042718-041717.
23. Toker A, Ohashi PS. Expression of costimulatory and inhibitory receptors in FoxP3(+) regulatory T cells within the tumor microenvironment: implications for combination immunotherapy approaches. Advances in Cancer Research. 2019; 144: 193–261. DOI: 10.1016/bs.acr.2019.05.001.
24. Campbell C, Rudensky A. Roles of regulatory T cells in tissue pathophysiology and metabolism. Cell Metabolism. 2020; 31: 18–25. DOI: 10.1016/j.cmet.2019.09.010.
25. Cuadrado E, van den Biggelaar M, de Kivit S, Chen YY, Slot M, Doubal I, Meijer A, van Lier RAW, Borst J, Amsen D. Proteomic analyses of human regulatory T cells reveal adaptations in signaling pathways that protect cellular identity. Immunity. 2018;

- 48: 1046–6. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.04.008.
26. Sullivan JA, Tomita Y, Jankowska-Gan E, Lema DA, Arvedson MP, Nair A et al. Treg-cell-derived IL-35-coated extracellular vesicles promote infectious tolerance. *Cell Reports*. 2020; 30: 1039–51. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.081.
27. Sawant DV, Yano H, Chikina M, Zhang Q, Liao M, Liu C et al. Adaptive plasticity of IL-10(+) and IL-35(+) Treg cells cooperatively promotes tumor T cell exhaustion. *Nature Immunology*. 2019; 20: 724–35. DOI: 10.1038/s41590-019-0346-9.
28. Muroyama Y, Nirschl TR, Kochel CM, Lopez-Bujanda Z, Theodoros D, Mao W, et al. Stereotactic Radiotherapy Increases Functionally Suppressive Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment. *Cancer Immunology Research*. 2017; 5 (11): 992–1004. DOI: 10.1158/2326-6066.

## References

- Akleev AA. Immunnyj status cheloveka v otdalennom periode xronicheskogo radiacionnogo vozdejstviya. *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'*. 2020; 4 (65): 29–35. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-4-29-35. Russian.
- Akleyev AV. Specific features of medical care provision to the population of the Techa riverside settlements. *Journal of Radiological Protection*. 2021; 41 (4): S342. DOI: 10.1088/1361-6498/ac0c02.
- Rybkina VL, Bannikova MV, Adamova GV, Dörr H, Scherthan H, Azizova TV. Immunological Markers of Chronic Occupational Radiation Exposure. *Health Physics*. 2018; 115 (1): 108–13. DOI: 10.1097/HP.0000000000000855.
- Ozasa K, Cullings HM, Ohishi W, Hida A, Grant EJ. Epidemiological studies of atomic bomb radiation at the Radiation Effects Research Foundation. *International Journal of Radiation Biology*. 2019; 95 (7): 879–91. DOI: 10.1080/09553002.2019.1569778.
- Bazyka DA, Prysazhnyuk AY, Gudzenko NA, Fuzik MM, Trotsyuk NK, Babkina NG, et al. Late oncological aftereffects of radiation exposure caused by the chornobyl accident. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2022; 27: 138–49. English, Ukrainian. DOI: 10.33145/2304-8336-2022-27-138-149.
- Adliene D, Gričienė B, Skovorodko K, Laurikaitienė J, Puiso J. Occupational radiation exposure of health professionals and cancer risk assessment for Lithuanian nuclear medicine workers. *Environmental Research*. 2020; 183: 109–44. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109144.
- Krestinina LYu, Silkin SS, Mikryukova LD, Epifanova SB, Akleev AV. Risk zabolevaemosti solidnymi zlokachestvennymi novoobrazovaniyami v Ural'skoj kogorte avarijno-obluchennogo naseleniya: 1956–2017. *Radiacionnaya gigiena*. 2020; 13 (3): 6–17. DOI: 10.21514/1998-426X-2020-13-3-6-17. Russian.
- Drozdvovitch V. Radiation exposure to the thyroid after the chernobyl accident. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. 2021 Jan [cited 2023 Apr 20]; 11: 569041. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33469445/>. DOI: 10.3389/fendo.2020.569041.
- Krestinina LYu, Silkin SS, Degteva MO, Akleev AV. Risk smerti ot boleznej sistemy krovoobrashcheniya v Ural'skoj kogorte avarijno-obluchennogo naseleniya za 1950-2015 gody. *Radiacionnaya gigiena*. 2019; 12 (1): 52–61. DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-1-52-61. Russian.
- Akleev AA, Dolgushin II. Osobennosti immunnogo statusa u lyudej, perenessih hronicheskij luchevoj sindrom, v otdalennye sroki. *Radiaciya i risk*. 2018; 27 (2): 7666–85. DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-76-85. Russian.
- Li C, Jiang P, Wei S, Xu X, Wang J. Regulatory T cells in tumor microenvironment: new mechanisms, potential therapeutic strategies and future prospects. *Molecular Cancer*. 2020 Jul [cited 2023 Apr 20]; 19 (1): 116. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32680511/> DOI: 10.1186/s12943-020-01234-1.
- Ono M. Control of regulatory T-cell differentiation and function by T-cell receptor signalling and Foxp3 transcription factor complexes. *Immunology*. 2020; 160 (1): 24–37. DOI: 10.1111/imm.13178
- Bending D, Paduraru A, Ducker CB, Prieto Martin P, Crompton T, Ono M. A temporally dynamic Foxp3 autoregulatory transcriptional circuit controls the effector Treg programme. *EMBO Journal*. 2018 Aug [cited 2023 Apr 20]; 37: e99013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29991564/>. DOI: 10.15252/embj.201899013
- Ohue Y, Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target? *Cancer Science*. 2019; 110 (7): 2080–9. DOI:10.1111/cas.14069.
- Emel S, Mehmet S. Epigenetical targeting of the FOXP3 gene by S-adenosylmethionine diminishes the suppressive capacity of regulatory T cells ex vivo and alters the expression profiles. *Journal of Immunotherapy*. 2019; 42 (1): 11–22. DOI: 10.1097/CJI.0000000000000247.
- Beauford SS, Kumari A, Garnett-Benson C. Ionizing radiation modulates the phenotype and function of human CD4+ induced regulatory T cells. *BMC Immunology*. 2020 Apr [cited 2023 Apr 20]; 21 (1): 18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32299365/> DOI: 10.1186/s12865-020-00349-w, DOI: 10.1186/s12865-020-00363-y.
- Degteva MO, Napier BA, Tolstyk EI, Shishkina EA, Bougrov NG, Krestinina LYu, i dr. Raspredelenie individual'nyh doz v kogorte lyudej, obluchennyh v rezul'tate radioaktivnogo zagryazneniya reki Tечи. *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'*. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article\_5cf2364cb49523.98590475. Russian.
- Kishkun AA. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: uchebnoe posobie*. M.: GEHOTAR-Media, 2019; 1000 s. Russian.
- Klaus Dzh, redaktor. *Limfocyt: metody*. M.: Mir, 1990; 395 s. Russian.
- Slepov YuK, Laushkin MA, Deev RV. Gipoteza o roli immunnnoj sistemy v kancerogeneze. *Geny & Kletki*. 2021; 16 (1): 82–91. DOI: 10.23868/202104013. Russian.
- Kodintseva EA, Akleyev AA, Blinova EA. Citokinovyy profil' lic, podvergshihsia hronicheskomu radiacionnomu vozdejstviyu, v otdalennye sroki posle oblucheniya. *Radiacionnaya biologiya. Radioehkologiya*. 2021; 5 (61): 506–14. DOI: 10.31857/S0869803121050076. Russian.
- Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, Tanaka A, Ichiyama K, Ohkura N. Regulatory T cells and human disease. *Annual Review of Immunology*. 2020; 38: 541–66. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042718-041717.
- Toker A, Ohashi PS. Expression of costimulatory and inhibitory receptors in FoxP3(+) regulatory T cells within the tumor microenvironment: implications for combination immunotherapy approaches. *Advances in Cancer Research*. 2019; 144: 193–261. DOI: 10.1016/bs.acr.2019.05.001.
- Campbell C, Rudensky A. Roles of regulatory T cells in tissue pathophysiology and metabolism. *Cell Metabolism*. 2020; 31: 18–25. DOI: 10.1016/j.cmet.2019.09.010.
- Cuadrado E, van den Biggelaar M, de Kivit S, Chen YY, Slot M, Doubal I, Meijer A, van Lier RAW, Borst J, Amsen D. Proteomic analyses of human regulatory T cells reveal adaptations in signaling pathways that protect cellular identity. *Immunity*. 2018; 48: 1046–6. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.04.008.
- Sullivan JA, Tomita Y, Jankowska-Gan E, Lema DA, Arvedson MP, Nair A et al. Treg-cell-derived IL-35-coated extracellular vesicles promote infectious tolerance. *Cell Reports*. 2020; 30: 1039–51. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.081.
- Sawant DV, Yano H, Chikina M, Zhang Q, Liao M, Liu C et al. Adaptive plasticity of IL-10(+) and IL-35(+) Treg cells cooperatively promotes tumor T cell exhaustion. *Nature Immunology*. 2019; 20: 724–35. DOI: 10.1038/s41590-019-0346-9.
- Muroyama Y, Nirschl TR, Kochel CM, Lopez-Bujanda Z, Theodoros D, Mao W, et al. Stereotactic Radiotherapy Increases Functionally Suppressive Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment. *Cancer Immunology Research*. 2017; 5 (11): 992–1004. DOI: 10.1158/2326-6066.

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

П. А. Шарагин<sup>1</sup>✉, Е. А. Шишкина<sup>1,2</sup>, Е. И. Толстых<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Остеотропные бета-излучающие изотопы стронция (<sup>89,90</sup>Sr) были основными источниками внутреннего облучения красного костного мозга (ККМ) для жителей прибрежных территорий реки Течи, подвергшейся радиоактивному загрязнению в 1950-е годы. Именно с дозой этих частиц связан повышенный риск лейкозов в когорте жителей ее прибрежных территорий. Важной задачей является совершенствование внутренней дозиметрии облучения ККМ. Она включает в себя разработку вычислительных фантомов, представляющих собой трехмерные модели участков скелета. Имитация переноса излучения в гетерогенной модели кости позволяет оценить коэффициенты перехода от активности радионуклида в кости к дозе на ККМ. Эта статья является продолжением работы по созданию набора вычислительных фантомов скелета людей разного возраста. Целью работы было разработать вычислительный фантом скелета годовалого ребенка для внутренней дозиметрии ККМ от инкорпорированных бета-излучателей. С помощью оригинальной методики SPSPD (stochastic parametric skeletal dosimetry) создавали трехмерные модели участков скелета в воксельной форме. Участки скелета с активным гемопоэзом моделировали как набор фантомов простой геометрической формы. Распределение ККМ в скелете, а также параметры фантомов оценивали на основе опубликованных результатов измерений реальных костей детей в возрасте от 9 месяцев до 2 лет. Для годовалого ребенка был сгенерирован вычислительный фантом, состоящий из 39 сегментов. Он имитирует структуру костной ткани и положение ККМ, а также популяционную вариабельность параметров микроструктуры и размеров скелета.

**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 интерпретацию данных, написание и редактирование 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:** 14.06.2023 **Статья принята к печати:** 23.08.2023 **Опубликована онлайн:** 26.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.030

## COMPUTATIONAL RED BONE MARROW DOSIMETRY PHANTOM OF A ONE-YEAR-OLD CHILD ENABLING ASSESSMENT OF EXPOSURE DUE TO INCORPORATED BETA EMITTERS

Sharagin PA<sup>1</sup>✉, Shishkina EA<sup>1,2</sup>, Tolstykh EI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Urals Research Center for Radiation Medicine of Federal Medical and Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

For residents of territories along the Techa River that was contaminated with radioactive substances in the 1950s, bone-seeking beta-emitting <sup>89,90</sup>Sr were the main source of internal exposure of active (red) bone marrow (AM). The dose of these radionuclides conditions the severity of leukemia risk for them. Improvement of the methods of internal AM dosimetry is an important task. Computational 3D phantoms of the skeleton sites are a component of the solution for this task. Simulation of radiation transfer in a heterogeneous bone model allows estimating the dose conversion factors from radionuclide activity to AM dose. This manuscript continues the series of papers covering the development of a set of computational phantoms of a reference human being of different age. The objective of the study was to develop a computational phantom of a one-year-old child skeleton for internal AM dosimetry (exposure due to incorporated beta emitters). Using the original SPSPD (stochastic parametric skeletal dosimetry) model, we develop voxel 3D models of skeletal sites. Skeleton sites with active hematopoiesis were modeled as a set of phantoms of simple geometries. Distribution of AM throughout the skeleton and parameters of the phantoms were assessed on the basis of the published results of measurement done in real bones of children aged 9 months to 2 years. The generated computational phantom of a one-year-old child consisted of 39 segments. It simulates the structure of the bone tissue, location of AM, and population variability of the skeleton microstructure and size parameters.

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

**Funding:** the work was part of the Federal Target Program "Ensuring Nuclear and Radiation Safety for 2016-2020 and up to 2035", with financial support from the Federal Medical Biological Agency of Russia.

**Author contribution:** Sharagin PA — data generation, analysis, interpretation, manuscript authoring and editing; Tolstykh EI — study methodology development, manuscript editing; Shishkina EA — conceptualization, manuscript editing.

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

**Received:** 14.06.2023 **Accepted:** 23.08.2023 **Published online:** 26.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.030

Попадание радионуклидов в организм человека может приводить к внутреннему облучению тканей и органов. Один из наиболее радиочувствительных органов — красный костный мозг (ККМ). Находясь внутри полостей скелета, клетки ККМ являются основной мишенью облучения для остеотропных радионуклидов, которые

накапливаются в минерализованной костной ткани. Наиболее опасны из таких элементов <sup>89,90</sup>Sr. Именно эти изотопы были основными источниками облучения ККМ для жителей прибрежных территорий реки Течи, загрязненной радионуклидами в 1950-е годы. Так, накопленные за время жизни поглощенные дозы на ККМ в когорте реки Теча

в среднем составляли 0,35 Гр, но у ряда лиц они превышали 1 Гр и могли достигать 7 Гр, что приводило к возникновению хронического лучевого синдрома и увеличивало риск развития лейкозов [1–4]. При этом вклад в дозу на ККМ составлял 61–94% — для  $^{90}\text{Sr}$ , и 2,5–3,2% — для  $^{89}\text{Sr}$  [5]. Облучению подверглись люди различного возраста, в том числе маленькие дети. Оценка доз для облученного населения может помочь подготовиться к потенциальным радиационным ситуациям. Предыдущие оценки доз на ККМ базировались на устаревших методах дозиметрического моделирования [6]. Уточнение доз на ККМ позволит с большей надежностью оценить радиационные риски лейкозов в Уральской когорте аварийно-облученного населения [7]. Для оценки доз на ККМ необходимо оценить удельную активность радионуклида в ткани-источнике, коэффициенты перехода (DF) от удельной активности источника излучения к мощности поглощенной дозы в мишени. Для расчета удельной активности радионуклида используют биокинетические модели, которые описывают распределение и транспорт радионуклида по тканям организма после его поступления [5]. Для расчета DF используют дозиметрическое моделирование, которое включает имитацию переноса излучений, возникающих при радиоактивном распаде изотопов стронция в костной ткани-источнике (кость), и поглощение энергии в ККМ — ткани-мишени, с соблюдением геометрии облучения. Поэтому важным этапом работы по дозиметрическому моделированию является создание вычислительных фантомов кости, которые представляют собой суррогат реальных тканей организма (ККМ и кость), репрезентативно описывающий геометрию тканей-источников и мишеней, в котором имитируется транспорт излучений. Следует отметить, что существующие сегодня подходы для моделирования формы и структуры кости основаны на анализе изображений компьютерной томографии (КТ) отдельных участков кости, полученных посмертно [6, 8–12]. Использование аутопсийного материала ограничивает количество объектов, используемых для оценок параметров фантомов и не позволяет учитывать индивидуальную вариабельность размеров костей человека.

В ФГБУН УНПЦ РМ был разработан оригинальный параметрический метод стохастического моделирования костных структур, SPSPD-моделирование (от англ. stochastic parametric skeletal dosimetry) [13]. Согласно методу, параметры фантомов определяют по многочисленным опубликованным результатам измерений костей. Таким образом SPSPD-моделирование позволяет оценивать неопределенности, связанные с вариабельностью параметров скелета у разных людей. Вычислительный фантом кости внутри заполнен спонгиозой, представляющей собой совокупность трабекулярной кости и ККМ, а снаружи покрыт плотным слоем кортикальной кости. Трабекулярная кость моделируется как сеть стержневидных тяжей — трабекул. Несмотря на то что такая модель является упрощенным представлением реальной кости, она хорошо подходит для внутренней дозиметрии остеотропных бета-излучателей [13]. Адекватность модели продемонстрирована в опубликованных численных экспериментах [14, 15], в результате которых были получены энергетические зависимости для SPSPD-фантомов, которые сопоставляли с опубликованными данными [12].

Представленная работа посвящена созданию вычислительного фантома скелета годовалого ребенка, т. е. она является очередным этапом работы по созданию

набора вычислительных фантомов стандартного человека для разных возрастных групп. Ранее опубликовано исследование, посвященное созданию вычислительного фантома скелета новорожденного [16].

Цель исследования — разработка вычислительного фантома скелета годовалого ребенка для дозиметрии ККМ от инкорпорированных в кости бета-излучающих радионуклидов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

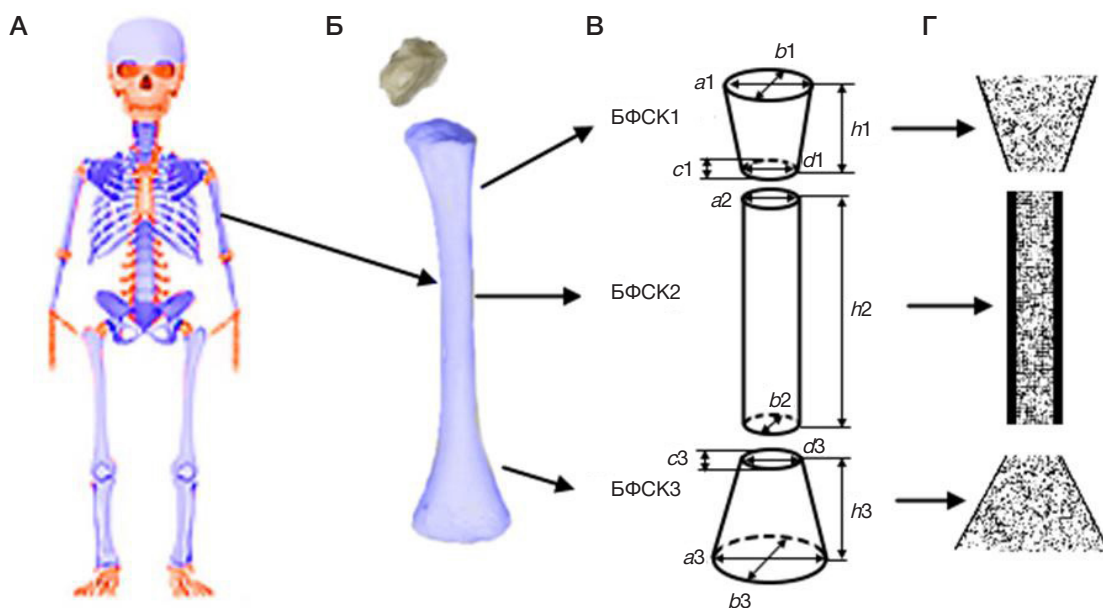
Для создания фантомов использовали оригинальную методику SPSPD. Дозиметрическое моделирование проводили только для участков скелета с активным гемопоэзом (гемопоэтических сайтов). Набор гемопоэтических сайтов определяли согласно опубликованным данным о распределении ККМ внутри скелета [17]. SPSPD-фантом гемопоэтических сайтов скелета состоит из набора меньших фантомов — базовых фантомов сегментов кости (БФСК) простой геометрической формы, описывающих отдельные участки костей скелета. Определение параметров базовых фантомов сегментов кости по данным литературы представлено ниже.

Для оценки размерных характеристик кости годовалого ребенка рассматривали статьи в рецензируемых изданиях, атласы, руководства, монографии и диссертации. Кроме того, учитывали электронные ресурсы, содержащие коллекции рентгеновских снимков. Для анализа собирали результаты измерений людей/образцов, которые авторы определили, 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 — от 9 месяцев до 2 лет.

Для каждого гемопоэтического сайта по опубликованным данным оценивали линейные размеры, толщину кортикального слоя кости ( $Ct.Th.$ ) и характеристики микроархитектуры кости: толщину трабекул ( $Tb.Th.$ ), размер межтрабекулярного пространства ( $Tb.Sp.$ ), долю костной ткани в объеме спонгиозы ( $BV/TV$ ). В рассмотрение принимались данные измерений линейных размеров костей скелета с помощью различных техник: микрометров, анатомических боксов, ультразвуковых и рентгенологических исследований, а также КТ. Данные гистоморфометрии и микро-КТ использовали для оценки параметров трабекулярной кости ( $Tb.Th.$ ,  $Tb.Sp.$ ,  $BV/TV$ ) и толщины кортикального слоя.

В качестве параметров цифровых фантомов принимали усредненные оценки 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 [18–21].

После получения набора средне популяционных характеристик размеров и формы костей, каждый гемопоэтический сайт был разбит на небольшие сегменты, описываемые простой геометрической формой с гомогенной микроархитектурой кости и толщиной кортикального слоя. Такая сегментация позволяет учесть неоднородную структуру трабекулярной и кортикальной



**Рис. 1.** Сегментация гемопоэтического сайта скелета годовалого ребенка на примере плечевой кости. **А.** Скелет годовалого ребенка (синим цветом выделены участки скелета с активным гемопоэзом). **Б.** Плечевая кость. **В.** Схема разделения кости на БФСК и их размерные характеристики. **Г.** БФСК плечевой кости в воксельном представлении в разрезе (черным цветом показаны воксели, имитирующие кость, белым — ККМ)

кости внутри одного гемопоэтического сайта, а также упрощает процесс моделирования. Процесс сегментации подробно описан [18, 19].

Каждый фантом включает в себя описание моделируемых сред и описание геометрии тканей источников и мишеней. ККМ и минерализованная костная ткань (в составе трабекулярной и кортикальной кости) являются средами, составляющими БФСК. Химический состав и плотность моделируемых сред определяли согласно опубликованным данным [22] и применяли для всех фантомов годовалого ребенка.

Для каждого сегмента в оригинальной программе Trabecula [23] был сгенерирован БФСК в воксельной форме. Воксели в составе БФСК имитируют либо минерализованную кость, либо костный мозг (КМ), в зависимости от положения центра вокселя в фантоме. Трабекулярную (ТК) и кортикальную (КК) кость рассматривали в качестве тканей-источников, а костный мозг — в качестве ткани-детектора. КМ был равномерно распределен между трабекулами внутри БФСК. Размер вокселя отличался для разных фантомов и не превышал 70% от толщины трабекулы [23, 24]. Размер вокселя в

смоделированных фантомах варьировал от 50 до 200 мкм. Расчет объемов тканей-источников и ткани-детектора автоматически происходил в программе «Trabecula» для каждого БФСК.

Гемопоэтические сайты годовалого ребенка, процесс сегментации, а также смоделированные БФСК представлены на примере плечевой кости (рис. 1).

С целью имитации популяционной вариабельности размеров и характеристик микроструктуры для каждого БФСК, сгенерированного со средними значениями параметров, было сгенерировано 12 дополнительных фантомов сегментов кости (ДФСК) с параметрами, случайно разыгранными в пределах их индивидуальной вариабельности (в границах минимальных и максимальных измеренных значений).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные гемопоэтические сайты скелета ребенка в возрасте 1 год и массовая доля ККМ в них были определены согласно данным МРТ-исследований [17] и представлены в табл. 1.

**Таблица 1.** Массовая доля ККМ (% от общей массы ККМ в скелете) в основных гемопоэтических сайтах скелета ребенка в возрасте 1 год [15]

№	Гемопоэтический сайт	Массовая доля ККМ, %
1	Бедро	8,1
2	Плечо	5,2
3	Крестец	5,1
4	Берцовые кости	8,7
5	Тазовые кости	13,1
6	Череп	28,7
7	Ключица	0,9
8	Лопатка	2,7
9	Рёбра	8,2
10	Лучевая и локтевая кость	2,6
11	Шейные позвонки	2,1
12	Грудные позвонки	8,3
13	Поясничные позвонки	6,4

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	–

Согласно данным табл. 1, скелет годовалого ребенка включает в себя 13 гемопоэтических сайтов для моделирования. Доля ККМ от общего содержания в скелете в них варьирует от 0,9 до 28,7%.

Так же как и для новорожденного [16], для годовалого ребенка в рамках SPSPD-подхода не были смоделированы следующие участки скелета: эпифизы трубчатых костей, грудина, кости лицевого отдела черепа и отростки грудных, поясничных и шейных позвонков, поскольку, по данным литературы, они содержат очень мало ККМ либо образованы хрящевой тканью [26–31].

Химический состав моделируемых сред был выбран на основе данных МКПЗ [22] для взрослых (табл. 2).

Плотность минерализованной костной ткани принимали на основе результатов измерений плотности кортикальной кости детей в возрасте 1 год [25] и считали равной 1,70 г/см<sup>3</sup>. Плотность красного костного мозга принимали равной плотности воды и считали равной 1 г/см<sup>3</sup> [16].

Параметры спонгиозы оценивали на основе опубликованных данных, анализ опубликованных данных и расчет среднепопуляционных значений параметров спонгиозы подробно описаны ранее [21]. Значения параметров микроархитектуры БФСК годовалого ребенка представлены в табл. 3.

Линейные размеры и толщина кортикального слоя, принятые для БФСК годовалого ребенка, представлены в табл. 4.

Фантом гемопоэтических сайтов скелета новорожденного состоит из 39 БФСК (табл. 4). В зависимости от формы моделируемых гемопоэтических

сайтов для их описания использовали разное число БФСК: от 1 (ребра) до 9 (крестец).

Большая часть БФСК представлена цилиндрами и прямоугольными параллелепипедами. Размеры фантомов варьируют в широких пределах: от 2,7 до 35,8 мм. Фантомы, описывающие позвоночник, не покрыты кортикальным слоем, что связано с незавершенным процессом окостенения (табл. 4). Наибольшее значение *St.Th.* для БФСК годовалого ребенка характерно для тела бедренной и берцовой костей (2,3 мм). В первый год жизни происходит интенсивное окостенение костей свода черепа, закрываются роднички, и, как следствие, БФСК для свода черепа годовалого ребенка, в отличие от новорожденного, покрыты слоем кортикальной кости. Параметры спонгиозы для разных БФСК значительно различались. Отношение *BV/TV* в БФСК варьирует от 14 до 52%, *Tb.Th.* — от 0,09 до 0,29 мм, *Tb.Sp.* — от 0,48 до 0,98 мм (табл. 3).

Индивидуальная вариабельность размерных параметров БФСК в среднем составила 14%, наибольшее значение вариабельности оценено для тела акромиона лопатки (42%), а наименьшее — для вертлужной части лобковой кости (3%). Вариабельность толщины кортикального слоя в среднем равна 20%, с максимальным значением 47% — для крыла подвздошной кости. Вариабельность параметров спонгиозы в среднем составила 25% при минимальном значении, равном 9%, и максимальном — 52%.

Значения вариабельности были использованы для моделирования ДФСК. Объемы ДФСК варьируют в широких пределах и могут отличаться от объема БФСК

Таблица 3. Параметры спонгиозы, принятые для БФСК годовалого ребенка [32–42] (в скобках дан CV, %)

Гемопоэтический сайт	<i>BV/TV</i> , %	<i>Tb.Th.</i> , мм	<i>Tb.Sp.</i> , мм
Бедро	22 (32)	0,16 (38)	0,54 (20)
Плечо	22 (32)	0,17 (17)	0,58 (47)
Ребра	29 (34)	0,23 (35)	0,51 (14)
Берцовые	20 (15)	0,09 (9)	0,74 (11)
Тазовые кости	23 (13)	0,12 (20)	0,48 (23)
Череп	52 (10)	0,29 (31)	0,57 (35)
Ключица*	29 (31)	0,15 (13)	0,80 (25)
Локтевая, лучевая*	16 (31)	0,13 (15)	0,77 (16)
Лопатка*	22 (36)	0,19 (52)	0,96 (23)
Шейные позвонки	20 (20)	0,18 (13)	0,60 (20)
Грудные позвонки + поясничные позвонки + крестец	14 (29)	0,10 (42)	0,60 (20)

Примечание: \* — параметры спонгиозы рассчитаны по результатам измерений схожих костей или по данным для других возрастов, способ расчета описан ранее [20].



Таблица 4. Линейные размеры и кортикальная толщина, принятые для БФСК годовалого ребенка

Гемопозитический сайт	Сегмент	Форма <sup>1</sup>	Параметры фантома, мм (в скобках дан CV, %) <sup>2</sup>						Источники данных
			<i>h</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>Ct.Th.</i>	
Бедро	Трубка диафиза <sup>4</sup>	ц	30	11,2 (7)	11,2 (7)			2,3 (17)	43–47
	Проксимальный конец	дц	35,8 (4)	34 (12)	18 (8)	11,2 (7)	11,2 (7)	0,7 (17)	
	Дистальный конец	дц	35,8 (4)	34 (12)	18 (8)	11,2 (7)	11,2 (7)	0,6 (17)	
Плечо	Трубка диафиза <sup>4</sup>	ц	30	9,1 (13)	9,1 (13)			1,6 (19)	43, 45, 47, 48
	Проксимальный конец	дц	16 (13)	19,8 (13)	19,8 (13)	9,1 (13)	9,1 (13)	0,5 (20)	
	Дистальный конец	дц	16 (13)	19,8 (16)	9,1 (13)	9,1 (13)	9,1 (13)	0,4 (20)	
Ребра	Ребра <sup>4</sup>	п	8,7 (32)	30	3,9(35)			0,5 (33)	49, 50
Крестец	Тело 1-го позвонка	п	9,2 (20)	25,2 (10)	12,5 (10)				51–55
	Тело 2-го позвонка	п	9,2 (20)	20,2 (10)	10 (10)				
	Тело 3-го позвонка	п	8,3 (20)	15,1 (10)	8,8 (10)				
	Тело 4-го позвонка	п	5,5 (20)	15,1 (10)	8,8 (10)				
	Тело 5-го позвонка	п	5,5 (20)	12,6 (10)	5 (10)				
	Крыло 1-го позвонка	п	9,2 (20)	10,7 (10)	12,5 (10)				
	Крыло 2-го позвонка	п	9,2 (20)	8 (10)	10 (10)				
	Крыло 3-го позвонка	п	8,3 (20)	8 (10)	8,8 (10)				
Берцовые	Крыло 4-го позвонка	п	5,5 (20)	5,4 (9)	8,8 (10)				
	Малая берцовая кость <sup>4</sup>	ц	30	4,4 (11)	4,4 (11)			1,2 (17)	56
	Трубка диафиза б.б. <sup>4</sup>	ц	30	9 (13)	9 (13)			2,3 (9)	55–58
	Проксимальный конец б.б.	дц	38,9 (6)	27,2 (12)	15,2 (18)	9 (13)	9 (13)	0,5 (14)	
Тазовые кости	Дистальный конец б.б.	дц	22,3 (6)	16,8 (23)	16,8 (23)	9 (13)	9 (13)	0,5 (14)	
	Подвздошная кость часть 1 <sup>3</sup>	п	5 (18)	30	30			1,2 (33) 0,5 (47)	59–64
	Подвздошная кость часть 2	п	5 (18)	30	30			0,4 (30)	
	Подвздошная кость вертлужная часть	дц	14,5 (10)	26,1 (9)	10 (30)	23,6 (22)	17,8 (40)	0,4 (30)	
	Вертлужная часть лобковой кости	ц	4,8 (15)	15,5 (3)	10,9 (7)	7,7 (11)	7,7 (11)	0,4 (30)	
	Лобковая кость (верхняя ветвь)	ц	19,3 (15)	7,7 (11)	7,7 (11)			0,4 (30)	
	Вертлужная часть седалищной кости	п	17,5 (15)	17,5 (15)	17,8 (30)	17,5(15)		0,4 (3)	
Бугристость седалищной кости	ц	13 (15)	11,7 (15)	11,9 (15)			0,4 (3)		
Череп	Плоские кости свода <sup>4</sup>	п	2,7 (30)	30	30			0,7 (29)	65–68
Ключица	Тело	ц	42,2 (11)	7,2 (10)	5,2 (10)			0,9 (10)	69–72
	Грудинный конец	дц	7,4 (11)	14,1 (10)	12,7 (9)	7,2 (10)	5,2 (10)	0,4 (10)	
	Акромиальный конец	дц	7,4 (11)	12,1 (10)	7,2 (19)	7,2 (10)	5,2 (10)	0,4 (10)	
Локтевая, лучевая	Трубка диафиза <sup>4</sup>	ц	30	5,3 (6)	5,3 (6)			1,1 (13)	46, 56, 57
	Конец	дц	16,2 (6)	8 (6)	5,3 (6)	5,3 (6)	5,3 (6)	0,4 (29)	
Лопатка	Гленоид	ц	6,8 (26)	17,5 (18)	10,2 (29)			0,5 (29)	73–77
	Акромион	п	7 (19)	16 (41)	13 (42)			0,4 (13)	
	Тело <sup>4</sup>	п	2,7 (13)	30	30			0,4 (13)	
Шейные позвонки	Тело позвонка	ц	5,8 (9)	9,7 (7)	12,6 (7)				78, 79
Грудные позвонки	Тело позвонка	ц	8 (15)	11,9 (13)	15 (23)				78, 80
Поясничные позвонки	Тело позвонка	ц	9,6 (16)	9,6 (16)	21 (3)				78, 53

**Примечание:** <sup>1</sup> — форму фантома обозначали следующим образом: ц — цилиндр, дц — деформированный цилиндр, п — прямоугольный параллелепипед, э — эллипсоид; <sup>2</sup> — 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 эллипсоида (э) *a*, *b*, *c* обозначают оси эллипсоида; <sup>3</sup> — толщину кортикального слоя принимали разной для внутренней (медиальной) и внешней (ягодичной) поверхностей данного сегмента подвздошной кости (см. рис. 1); <sup>4</sup> — 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 [13, 16].

более чем в 3 раза как в меньшую, так и в большую сторону. В дальнейшей работе как для БФСК, так и для ДФСК будут рассчитаны *DF*. Среднеквадратическое отклонение *DF*, рассчитанных для ДФСК, от *DF*, рассчитанных для БФСК, будет характеризовать популяционную вариабельность *DF*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе, посвященной новорожденному [16], было показано, что массы сгенерированных фантомов соответствуют массам реальных костей. Мы не смогли

Таблица 5. Сравнение объемов БФСК новорожденного и годовалого ребенка

БФСК	Моделируемая среда	Объем моделируемой структуры, см <sup>3</sup>		
		Новорожденный	1 год	1 год / новорожденный
Дистальный конец бедренной кости	КМ	1,36	6,53	4,8
	ТК	0,79	1,88	2,38
	КК	0,37	1,41	3,81
	Весь БФСК	2,52	9,82	3,9
Ключица, грудинный конец	КМ	0,19	0,35	1,84
	ТК	0,08	0,14	1,75
	КК	0,05	0,09	1,8
	Весь БФСК	0,32	0,58	1,81
Тело поясничного позвонка	КМ	0,36	1,32	3,67
	ТК	0,29	0,2	0,69
	Весь БФСК	0,65	1,52	2,34
Тело шейного позвонка	КМ	0,06	0,45	7,5
	ТК	0,08	0,11	1,38
	Весь БФСК	0,14	0,56	4

провести подобное сравнение для фантома годовалого, так как в доступной литературе нами не было найдено результатов измерений сырых костей для скелета детей в возрасте 1 год. Однако интересно сравнить фантомы скелетов годовалого ребенка и новорожденного. В целом, вычислительный фантом скелета годовалого ребенка состоит из большего количества БФСК, чем фантом новорожденного (34 БФСК), и обусловлен окостенением и увеличением размера крестца, что потребовало применить дополнительную сегментацию подвздошной кости. В то же время уже в первый год жизни происходит замещение ККМ желтым костным мозгом в костях кистей и стоп, таким образом, эти участки не моделируются в рамках создания фантома годовалого ребенка.

Естественно, что объем аналогичных БФСК увеличивается с возрастом вместе с размерами костей. Сравнение объемов фантомов участков скелета новорожденного и годовалого ребенка на примере дистального участка бедренной кости, ключицы, тел шейного и поясничного позвонков представлено в табл. 5.

Объем БФСК в составе фантома годовалого ребенка существенно выше, чем у новорожденного (табл. 5). Объемы моделируемых сред также увеличиваются в подавляющем большинстве фантомов. Причем, если увеличение объема тканей источников (ТК и КК) в различных БФСК в среднем составляет 1,5 раза, то приращение объема ткани-мишени в среднем составило 4,5 раза. Уменьшение объема трабекулярной кости (ТК) для фантомов тел поясничных позвонков определяется уменьшением параметра  $BV/TV$  с 0,45 до 0,14, согласно литературным данным (табл. 3). Для большинства БФСК можно наблюдать существенное

увеличение объема КК за первый год жизни (за исключением БФСК тел позвонков), в среднем объем КК за этот период увеличился в 2,3 раза. Общий объем БФСК для ребенка в возрасте 1 год, в среднем, больше объема фантома новорожденного в 2,4 раза.

## ВЫВОДЫ

В результате данной работы были разработаны вычислительные фантомы основных участков скелета с активным гемопозом для годовалого ребенка. Разработку данных фантомов проводили по той же методологии, что и для новорожденного. Смоделированные фантомы имитируют структуру костной ткани, а также популяционную вариабельность размеров структур отдельных костей. Представленный фантом для годовалого 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 поможет усовершенствовать дозовые оценки для жителей Уральского региона. Следует отметить, что SPSPD-фантом может быть использован для расчетов  $DF$  для других остеотропных бета-излучателей, в том числе применяемых в радионуклидной терапии, таких как  $^{89}Sr$ ,  $^{32}P$ ,  $^{186}Re$ ,  $^{188}Re$ ,  $^{117}mSn$ . В качестве направления дальнейшей работы мы также планируем создать SPSPD-фантомы скелета для других возрастных групп: 5 лет, 10 лет, а также 15-летних детей и взрослых. SPSPD-фантомы могут быть использованы для дозиметрии инкорпорированных остеотропных бета-излучателей у населения при попадании радионуклидов в окружающую среду.

## Литература

1. Degteva MO, Shagina NB, Vorobiova MI, Shishkina EA, Tolstykh EI, Akleyev AV. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949-1956. *Radiats Biol Radioecol*. 2016; 56 (5): 523–34. PMID: 30703313. Russian.
2. 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.
3. Аклеев А. В. Хронический лучевой синдром у жителей прибрежных сел реки Теча. Челябинск: Книга, 2012; 464 с.
4. 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.
5. 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.
  6. 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.
  7. 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.
  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 Dec 21; 61 (24): 8794–824. 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.
  13. Degteva MO, Tolstykh EI, Shishkina EA, Sharagin PA, Zalyapin VI, Volchkova AYU, et al. *PLoS One*. 2021; 16 (10): e0257605. DOI: 10.1371/journal.pone.0257605. PMID: 34648511; PMCID: PMC8516275.*PlosOne*.
  14. Дёгтева М. О., Шишкина Е. А., Толстых Е. И., Залыпин 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.
  15. Volchkova AYU, 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.
  16. 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.
  17. Cristy M. Active bone marrow distribution as a function of age in humans. *Phys Med Biol*. 1981; 26 (3): 389–400.
  18. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI, Volchkova AYU, Smith MA, Degteva MO. Segmentation of hematopoietic sites of human skeleton for calculations of dose to active marrow exposed to bone-seeking radionuclides. *RAD Conference Proceedings*. 2018; (3): 154–8. DOI: 10.21175/RadProc.2018.33.
  19. 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; с. 200–204.
  20. Толстых Е. И., Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Дегтева М. О. Формирование доз облучения красного костного мозга человека от 89,90Sr, оценка параметров трабекулярной кости для дозиметрического моделирования. В сборнике: *Материалы международной научной конференции “Современные проблемы радиобиологии”*. Беларусь, Гомель, 23-24 сентября 2021; с. 176–179.
  21. 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.
  22. Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. *Annals of the ICRP*. 2002; 32 (3–4): 1–277.
  23. 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.
  24. 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.
  25. Robinson RA. Chemical analysis and electron microscopy of bone. In: Rodahl K, Nicholson JT, Brown EM editors. *Bone as a tissue*. New York: McGraw-Hill, 1960; p. 186–250.
  26. Vogler JB 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology*. 1988; 168 (3): 679–93.
  27. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiology*. 1998; 27: 471–83.
  28. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol*. 1998; 8 (8): 1327–34.
  29. 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.
  30. 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.
  31. Cunningham C, Scheuer L, Black S. *Developmental juvenile osteology*. Elsevier Academic Press, 2016.
  32. Ryan TM, Krovitz GE. Trabecular bone ontogeny in the human proximal femur. *J Hum Evol*. 2006; 51 (6): 591–602.
  33. 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.
  34. Saers JP, Cazorla-Bak Y, Shaw CN, Stock JT, Ryan TM. Trabecular bone structural variation throughout the human lower limb. *J Hum Evol*. 2016; 97: 97–108. DOI: 10.1016/j.jhevol.2016.05.012.
  35. Ryan TM, Raichlen DA, Gosman JH. Structural and mechanical changes in trabecular bone during early development in the human femur and humerus. In: *Building bones: bone formation and development in anthropology*. Cambridge University Press, 2017; p. 281–302. Available from: <https://doi.org/10.1017/9781316388907.013>.
  36. 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.
  37. 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.
  38. Volpato V. Bone endostructure morphogenesis of the human ilium. *Comptes rendus Palévol*. 2008; 7: 463–71. DOI: 10.1016/j.crvp.2008.06.001.
  39. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, et al. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*. 2000; 26 (2): 103–9.
  40. Rodriguez-Florez N, Ibrahim A, Hutchinson JC, Borghi A, James G,

- Arthurs OJ, et al. Cranial bone structure in children with sagittal craniosynostosis: relationship with surgical outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2017; 70 (11): 1589–97. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.06.017.
41. 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.
  42. Acquah F, Robson Brown KA, Ahmed F, Jeffery N, Abel RL. Early trabecular development in human vertebrae: overproduction, constructive regression, and refinement. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015; 6: 67. DOI: 10.3389/fendo.2015.00067. eCollection 2015.
  43. 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.
  44. 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.
  45. Maresh MM. Measurements from roentgenograms. In: McCammon RW, editor. *Human Growth and Development.* Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1970; p. 157–200.
  46. Dhavale N, Halcrow SE, Buckley HR, Tayles N, Domett KM, Gray AR. Linear and appositional growth in infants and children from the prehistoric settlement of Ban Non Wat, Northeast Thailand: evaluating biological responses to agricultural intensification in Southeast Asia. *Journal of Archaeological Science: Reports.* 2017; 11: 435–46.
  47. Svadovsky VS. Age-related bone remodeling. Moscow, 1961.
  48. 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.
  49. Beresheim AC, Pfeiffer S, Grynopas M. Ontogenetic changes to bone microstructure in an archaeologically derived sample of human ribs. *J Anat.* 2019. DOI: 10.1111/joa.13116
  50. Pfeiffer S. Cortical Bone Histology in Juveniles. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/303179375\\_Cortical\\_bone\\_histology\\_in\\_Juveniles](https://www.researchgate.net/publication/303179375_Cortical_bone_histology_in_Juveniles)
  51. 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>.
  52. Кузнецов Л. Е. Переломы таза у детей: морфология, биомеханика, диагностика. М.: Фолиум, 1994.
  53. Mavrych V, Bolgova O, Ganguly P, Kashchenko S. Age-related changes of lumbar vertebral body morphometry. *Austin J Anat.* 2014; 1 (3): 7.
  54. Dimeglio A, Bonnel F, Canavese F. The Growing Spine. In: Jean Marc Vital, Derek Thomas Cawley, editors. *Spinal Anatomy. Modern Concepts.* Springer, 2020; p. 25–52.
  55. Андроневский А. Анатомия ребенка. Бухарест: Меридиан, 1970.
  56. Bernert Zs, Évgyen 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.
  57. 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.
  58. 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 Aug 20. PubMed PMID: 21862250.
  59. Blake KAS. An investigation of sex determination from the subadult pelvis: a morphometric analysis. Doctoral Dissertation, University of Pittsburgh. 2011.
  60. Cunningham CA, Black SM. Iliac cortical thickness in the neonate - the gradient effect. *J Anat.* 2009; 215 (3): 364–70. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01112.x.
  61. Cunningham CA, Black SM. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J Anat.* 2009; 214 (6): 817–29. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01073.x
  62. 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.
  63. 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.
  64. 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.
  65. De Boer HH, Van der Merwe AE, Soerdjbalie-Maikoe WV. 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.
  66. Margulies S, Coats B. Experimental injury biomechanics of the pediatric head and brain. Chapter 4. In: Crandall JR, Myers BS, Meaney DF, Schmidtke SZ, editors. *Pediatric Injury Biomechanics Springer Science + Business Media New York.* 2013; p. 157–190.
  67. Li Z, Park BK, Liu W, Zhang J, Reed MP, Rupp JD, et al. A statistical skull geometry model for children 0–3 years old. *PLoS One.* 2015 May 18; 10 (5): e0127322. DOI: 10.1371/journal.pone.0127322. eCollection 2015.
  68. Rodriguez-Florez N, Ibrahim A, Hutchinson JC, Borghi A, James G, Arthurs OJ, et al. Cranial bone structure in children with sagittal craniosynostosis: Relationship with surgical outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2017; 70 (11): 1589–97. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.06.017.
  69. 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.
  70. Bleuze MM, Wheeler SM, Williams LJ, Dupras TL. Growth of the pectoral girdle in a sample of juveniles from the kellis 2 cemetery, Dakhleh Oasis, Egypt. *Am J Hum Biol.* 2016; 28 (5): 636–45.
  71. Black SM, Scheuer JL. Age changes in the clavicle: from the early neonatal period to skeletal maturity. *International Journal of Osteoarchaeology.* 1996; 6: 425–34.
  72. 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.
  73. Vallois HV. L'omoplate humaine. *Bulletin de la Société d'Anthropologie de Paris.* 1946; 7: 16–99.
  74. 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.
  75. Rissech C, Black S. Scapular development from neonatal period to skeletal maturity. A preliminary study. *Int J Osteoarchaeol.* 2007; 17: 451–64.
  76. Cardoso HFV, Spake L, Humphrey LT. Age estimation of immature human skeletal remains from the dimensions of the girdle bones in the postnatal period. *Am J Phys Anthropol.* 2017; 163 (4): 772–83. DOI: 10.1002/ajpa.23248. Epub 2017 May 24. PubMed PMID: 28542741.
  77. 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.
  78. Kneissel M, Roschger P, Steiner W, Schamall D, Kalchauer G, Boyde A, et al. Cancellous Bone Structure in the Growing and Aging Lumbar Spine in a Historic Nubian Population. *Calcif Tissue Int.* 1997; 61: 95–100.
  79. Johnson KT, Al-Holou WN, Anderson RC, Wilson TJ, Karnati T, Ibrahim M, 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.
  80. 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.

## References

1. Degteva MO, Shagina NB, Vorobiova MI, Shishkina EA, Tolstykh EI, Akleyev AV. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949-1956. *Radiats Biol Radioecol.* 2016; 56 (5): 523–34. PMID: 30703313. Russian.
2. 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.
3. Akleev AV. Hronicheskij luchevoj sindrom u zhitelej pribrezhnyh sel reki Techa. Chelyabinsk: Kniga, 2012; 464 s. Russian.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Silkin SS, Krestinina LY, Starcev NV, Akleev AV. Ural'skaya kogorta avarijno-obluchennogo naseleniya. *Medicina ehkstreml'nyh situacij.* 2019; 21 (3): 393–402. Russian.
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 Dec 21; 61 (24): 8794–824. 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.
13. Degteva MO, Tolstykh EI, Shishkina EA, Sharagin PA, Zalyapin VI, Volchkova AY, et al. *PLoS One.* 2021; 16 (10): e0257605. DOI: 10.1371/journal.pone.0257605. PMID: 34648511; PMCID: PMC8516275. *PlosOne.*
14. Dyogteva MO, Shishkina EA, Tolstykh EI, Zalyapin VI, Sharagin PA, Smit MA, i dr. Metodologicheskij podhod k razrabotke dozimetricheskikh modelej skeleta cheloveka dlya beta-izluchayushhih radionuklidov. *Radiacionnaya gigiena.* 2019; 12 (2). DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-2-66-75. Russian.
15. 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.
16. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI. Vychislitel'nyj fantom dlya dozimetrii krasnogo kostnogo mozga novorozhdenного rebenka ot inkorporirovannyh beta-izluchatelej. *Medicina ehkstreml'nyh situacij.* 2022; (4): 74–82. DOI: 10.47183/mes.2022.045. Russian.
17. Cristy M. Active bone marrow distribution as a function of age in humans. *Phys Med Biol.* 1981; 26 (3): 389–400.
18. 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. *RAD Conference Proceedings.* 2018; (3): 154–8. DOI: 10.21175/RadProc.2018.33.
19. Sharagin PA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Degteva MO. Dozimetriceskoe modelirovanie kosti dlya osteotropnyh beta-izluchayushhih radionuklidov: razmernye parametry i segmentaciya. V sbornike: *Materijaly mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii "Sovremennye problemy radiobiologii"*. Belarus', Gomel', 23-24 sentyabrya 2021; s. 200–204. Russian.
20. Tolstykh EI, Sharagin PA, Shishkina EA, Degteva MO. Formirovanie doz oblucheniya krasnogo kostnogo mozga cheloveka ot 89,90Sr, ocenka parametrov trabekulyarnoj kosti dlya dozimetricheskogo modelirovaniya. V sbornike: *Materijaly mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii "Sovremennye problemy radiobiologii"*. Belarus', Gomel', 23–24 sentyabrya 2021; s. 176–179. Russian.
21. Tolstykh EI, Sharagin PA, Shishkina EA, Volchkova AY, Degteva MO. Anatomico-morfologicheskij bazis dlya dozimetricheskogo modelirovaniya trabekulyarnoj kosti cheloveka s ispol'zovaniem stoxasticheskogo parametricheskogo podhoda. *Klinicheskij vestnik GNC FMBC im. A. I. Burnazyana.* 2022; 3: 25–40. Russian.
22. Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. *Annals of the ICRP.* 2002; 32 (3–4): 1–277.
23. 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.
24. 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.
25. Robinson RA. Chemical analysis and electron microscopy of bone. In: Rodahl K, Nicholson JT, Brown EM editors. *Bone as a tissue.* New York: McGraw-Hill, 1960; p. 186–250.
26. Vogler JB 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology.* 1988; 168 (3): 679–93.
27. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiology.* 1998; 27: 471–83.
28. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol.* 1998; 8 (8): 1327–34.
29. 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.
30. 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.
31. Cunningham C, Scheuer L, Black S. *Developmental juvenile osteology.* Elsevier Academic Press, 2016.
32. Ryan TM, Krovitz GE. Trabecular bone ontogeny in the human proximal femur. *J Hum Evol.* 2006; 51 (6): 591–602.
33. 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.
34. Saers JP, Cazorla-Bak Y, Shaw CN, Stock JT, Ryan TM. Trabecular bone structural variation throughout the human lower limb. *J Hum Evol.* 2016; 97: 97–108. DOI: 10.1016/j.jhevol.2016.05.012.
35. Ryan TM, Raichlen DA, Gosman JH. Structural and mechanical changes in trabecular bone during early development in the human femur and humerus. In: *Building bones: bone formation and development in anthropology.* Cambridge University Press, 2017; p. 281–302. Available from: <https://doi.org/10.1017/9781316388907.013>.
36. 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.
37. 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.
  38. Volpato V. Bone endostructure morphogenesis of the human ilium. *Comptes rendus Palévol*. 2008; 7: 463–71. DOI: 10.1016/j.crvp.2008.06.001.
  39. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, et al. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*. 2000; 26 (2): 103–9.
  40. Rodriguez-Florez N, Ibrahim A, Hutchinson JC, Borghi A, James G, Arthurs OJ, et al. Cranial bone structure in children with sagittal craniosynostosis: relationship with surgical outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2017; 70 (11): 1589–97. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.06.017.
  41. 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.
  42. Acquaah F, Robson Brown KA, Ahmed F, Jeffery N, Abel RL. Early trabecular development in human vertebrae: overproduction, constructive regression, and refinement. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015; 6: 67. DOI: 10.3389/fendo.2015.00067. eCollection 2015.
  43. 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.
  44. 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.
  45. Maresh MM. Measurements from roentgenograms. In: McCammon RW, editor. *Human Growth and Development*. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1970; p. 157–200.
  46. Dhavale N, Halcrow SE, Buckley HR, Tayles N, Domett KM, Gray AR. Linear and appositional growth in infants and children from the prehistoric settlement of Ban Non Wat, Northeast Thailand: evaluating biological responses to agricultural intensification in Southeast Asia. *Journal of Archaeological Science: Reports*. 2017; 11: 435–46.
  47. Svadovsky VS. Age-related bone remodeling. Moscow, 1961.
  48. 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.
  49. Beresheim AC, Pfeiffer S, Grynypas M. Ontogenetic changes to bone microstructure in an archaeologically derived sample of human ribs. *J Anat*. 2019. DOI: 10.1111/joa.13116
  50. Pfeiffer S. Cortical Bone Histology in Juveniles. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/303179375\\_Cortical\\_bone\\_histology\\_in\\_Juveniles](https://www.researchgate.net/publication/303179375_Cortical_bone_histology_in_Juveniles)
  51. 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>.
  52. Kuznecov LE. *Perelomy taza u detej: morfologiya, biomexanika, diagnostika*. M.: Folium, 1994. Russian.
  53. Mavrych V, Bolgova O, Ganguly P, Kashchenko S. Age-related changes of lumbar vertebral body morphometry. *Austin J Anat*. 2014; 1 (3): 7.
  54. Dimiglio A, Bonnel F, Canavese F. The Growing Spine. In: Jean Marc Vital, Derek Thomas Cawley, editors. *Spinal Anatomy. Modern Concepts*. Springer, 2020; p. 25–52.
  55. Andronevsky A. *Anatomy rebenka*. Buharest: Meridian, 1970.
  56. 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.
  57. 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.
  58. 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.forsciint.2011.07.038. Epub 2011 Aug 20. PubMed PMID: 21862250.
  59. Blake KAS. An investigation of sex determination from the subadult pelvis: a morphometric analysis. Doctoral Dissertation, University of Pittsburgh. 2011.
  60. Cunningham CA, Black SM. Iliac cortical thickness in the neonate - the gradient effect. *J Anat*. 2009; 215 (3): 364–70. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01112.x.
  61. Cunningham CA, Black SM. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J Anat*. 2009; 214 (6): 817–29. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01073.x
  62. Corron L, Marchal F, Condemni 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.
  63. 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.
  64. 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.
  65. De Boer HH, Van der Merwe AE, Soerdjbalie-Maikoe WV. 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.
  66. Margulies S, Coats B. Experimental injury biomechanics of the pediatric head and brain. Chapter 4. In: Crandall JR, Myers BS, Meaney DF, Schmidtke SZ, editors. *Pediatric Injury Biomechanics* Springer Science + Business Media New York. 2013; p. 157–190.
  67. Li Z, Park BK, Liu W, Zhang J, Reed MP, Rupp JD, et al. A statistical skull geometry model for children 0–3 years old. *PLoS One*. 2015 May 18; 10 (5): e0127322. DOI: 10.1371/journal.pone.0127322. eCollection 2015.
  68. Rodriguez-Florez N, Ibrahim A, Hutchinson JC, Borghi A, James G, Arthurs OJ, et al. Cranial bone structure in children with sagittal craniosynostosis: Relationship with surgical outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2017; 70 (11): 1589–97. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.06.017.
  69. 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.
  70. Bleuze MM, Wheeler SM, Williams LJ, Dupras TL. Growth of the pectoral girdle in a sample of juveniles from the kellis 2 cemetery, Dakhleh Oasis, Egypt. *Am J Hum Biol*. 2016; 28 (5): 636–45.
  71. Black SM, Scheuer JL. Age changes in the clavicle: from the early neonatal period to skeletal maturity. *International Journal of Osteoarchaeology*. 1996; 6: 425–34.
  72. 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.
  73. Vallois HV. L'omoplate humaine. *Bulletin de la Société d'Anthropologie de Paris*. 1946; 7: 16–99.
  74. 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.
  75. Rissech C, Black S. Scapular development from neonatal period to skeletal maturity. A preliminary study. *Int J Osteoarchaeol*. 2007; 17: 451–64.
  76. Cardoso HFV, Spake L, Humphrey LT. Age estimation of immature human skeletal remains from the dimensions of the girdle bones in the postnatal period. *Am J Phys Anthropol*. 2017; 163 (4): 772–83. DOI: 10.1002/ajpa.23248. Epub 2017 May 24. PubMed PMID: 28542741.
  77. 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.

78. Kneissel M, Roschger P, Steiner W, Schamall D, Kalchhauser G, Boyde A, et al. Cancellous Bone Structure in the Growing and Aging Lumbar Spine in a Historic Nubian Population. *Calcif Tissue Int.* 1997; 61: 95–100.
79. Johnson KT, Al-Holou WN, Anderson RC, Wilson TJ, Karnati T, Ibrahim M, 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.
80. 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.

## РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ПЕПТИДОВ И ФУЛЛЕРЕНА

А. А. Галкина<sup>1</sup>✉, Д. К. Болякина<sup>1</sup>, А. В. Шатилова<sup>1</sup>, А. А. Шатилов<sup>1</sup>, М. О. Бабихина<sup>1</sup>, А. К. Голомидова<sup>2</sup>, С. М. Андреев<sup>1</sup>, Н. Н. Шершакова<sup>1</sup>, М. Р. Хаитов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия

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

Инфекции кожи и мягких тканей при хирургических манипуляциях обычно вызваны широким спектром бактериальных микроорганизмов, и служат основной причиной септических осложнений и госпитальной смертности. Лечение таких ран является очень сложной проблемой, часто обусловленной переходом воспалительного процесса в хроническую стадию в связи с наличием устойчивой патогенной микрофлоры в раневой ткани. Целью работы было проанализировать ранозаживляющую активность мазевой композиции на основе водной дисперсии фуллера C60 (ВДФ) на модели кожной травмы *in vivo*, оценить влияние ВДФ на экспрессию цитокинов как маркеров регенеративных процессов, определить антибактериальную активность разработанных нами катионных пептидов. ВДФ получали методом тангенциальной ультрафильтрации, а затем на ее основе готовили мазевую композицию. Моделирование кожной травмы проводили с использованием мышей линии BALB/c. Синтез катионных пептидов (КП) осуществляли твердофазным методом, используя Fmoc-технологии. Антибактериальную активность КП и ВДФ оценивали методом подсчета колоний. Установлено, что мазь на основе ВДФ обладала ранозаживляющей и противовоспалительной активностью. У наиболее активных КП, АВ-1, АВ-2, АВ-3 и ST-10 минимальная бактерицидная концентрация (МБК) в отношении бактериального штамма *E. coli* Dh5α составляла 1,15, 0,11, 0,74 и 0,74 мМ, соответственно, при МБК ампициллина 0,7 мМ. Мы предполагаем, что создание гибридных соединений/конъюгатов фуллера C60 с активными КП будет перспективным направлением в разработке лекарственных средств для терапии раневых поражений, осложненных бактериальной инфекцией.

**Ключевые слова:** водный раствор фуллера C60, ранозаживляющая активность, катионные пептиды, антибактериальная активность

**Финансирование:** исследование выполнено в рамках государственного задания ФМБА «Фуллерен-21» (код 612.017.1:616.9).

**Вклад авторов:** А. А. Галкина — постановка методики, лабораторные исследования, написание статьи; Д. К. Болякина — лабораторные исследования; А. В. Шатилова, А. А. Шатилов, М. О. Бабихина — лабораторные исследования; А. К. Голомидова — постановка методики; Н. Н. Шершакова — постановка методики, концепция исследования, написание статьи, научное руководство; С. М. Андреев — постановка методики, концепция исследования, научное руководство; М. Р. Хаитов — концепция исследования, научное руководство.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено комиссией по биоэтике Института иммунологии ФМБА России (приказ № 102 ноябрь 2015 г.), проведено в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/ЕС для экспериментов на животных и Правилами исследовательской работы с лабораторными животными в ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России.

✉ **Для корреспонденции:** Анастасия Андреевна Галкина  
Каширское ш., д. 24, г. Москва, 115522, Россия; anastasia.a.galkina@gmail.com

**Статья получена:** 28.07.2023 **Статья принята к печати:** 05.09.2023 **Опубликована онлайн:** 29.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.036

## DEVELOPING AND EVALUATING THE EFFECTIVENESS OF WOUND-HEALING COMPOUNDS BASED ON CATIONIC PEPTIDES AND FULLERENE

Galkina AA<sup>1</sup>✉, Bolyakina DK<sup>1</sup>, Shatilova AV<sup>1</sup>, Shatilov AA<sup>1</sup>, Babikhina MO<sup>1</sup>, Golomidova AK<sup>2</sup>, Andreev SM<sup>1</sup>, Shershakova NN<sup>1</sup>, Khaitov MR<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> National Research Center — Institute of Immunology of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Skin and soft tissue infections following surgical procedures are usually caused by a broad range of bacteria and are the major cause of septic complications and hospital mortality. Treatment of such wounds is a challenge often resulting from the transition from acute to chronic inflammation due to persistence of pathogenic microflora in the wound tissue. The study was aimed to assess the wound-healing activity of the ointment composition based on the dispersion of fullerene C60 (AFD) in the *in vivo* model of skin wound, to estimate the effects of AFD on the expression of cytokines as markers of regenerative processes, to determine antibacterial activity of the developed cationic peptides. AFD was obtained by tangential ultrafiltration and used to make an ointment composition. The BALB/c mice were used to model the skin injury. The cationic peptides (CPs) were synthesized by the solid-phase method using the Fmoc technology. Antibacterial effects of CPs and AFD were estimated by colony counting. It was found that the AFD-based ointment exerted wound-healing and anti-inflammatory activity. The minimum bactericidal concentrations (MBC) of the CPs most active against the *E. coli* Dh5α strain, AB-1, AB-2, AB-3, and ST-10, were 1.15, 0.11, 0.74, and 0.74 mM, respectively, while MBC of ampicillin was 0.7 mM. We assume that constructing the hybrid compounds/fullerene C60 conjugates with active CPs will be a promising area of the development of drugs for treatment of wounds complicated by bacterial infection.

**Keywords:** fullerene C60 aqua dispersion, regenerative activity, cationic peptides, antibacterial activity

**Funding:** the study was conducted as part of the State Assignment of FMBA "Fullerene-21" (code 612.017.1:616.9).

**Author contribution:** Galkina AA — setting up methodology, laboratory tests, manuscript writing; Bolyakina DK — laboratory tests; Shatilova AV, Shatilov AA, Babikhina MO — laboratory tests; Golomidova AK — setting up methodology; Shershakova NN — setting up methodology, study concept, manuscript writing, research supervision; Andreev SM — setting up methodology, study concept, research supervision; Khaitov MR — study concept, research supervision.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Bioethics Commission of the Institute of Immunology of FMBA of Russia (order № 102 of November 2015) and conducted in accordance with the Directive 2010/63/EU for animal experiments and the Regulations Regarding Research Involving Laboratory Animals in the National Research Center — Institute of Immunology of FMBA of Russia.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anastasia A. Galkina  
Kashirskoe sh., 24, Moscow, 115522, Russia; anastasia.a.galkina@gmail.com

**Received:** 28.07.2023 **Accepted:** 05.09.2023 **Published online:** 29.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.036



Заживление кожных ран представляет собой сложный процесс, в котором задействованы различные типы клеток и множество регуляторных факторов, а сбой в нормальном процессе заживления может приводить к образованию рубцов и переходу воспаления в хронический процесс. Рубцы могут ограничивать движение, вызывать боль, зуд, а также быть причиной физиологического стресса в том случае, когда рубцы на коже остаются видимыми и не могут быть скрыты одеждой или косметикой, что серьезно влияет на самооценку и качество жизни человека. Удаление и коррекция шрамов и рубцов остаются актуальной проблемой, поскольку, несмотря на разнообразие доступных методов лечения, их эффективность весьма ограничена. Объем мирового рынка в данной сфере в 2019 г. составил 19,6 млрд долларов, и ожидается, что в следующем десятилетии он вырастет на 11,5% [1].

Эффективному лечению осложнений раневого процесса могут препятствовать сопутствующие заболевания, такие как сахарный диабет, гипертоническая болезнь, а также другие сосудистые и аутоиммунные заболевания [2]. Важную роль в хронизации воспаления играют бактериальные суперинфекции.

Все раны в той или иной степени контаминированы микроорганизмами, входящими в состав сапрофитной микрофлоры кожи. Вид и количество этих микроорганизмов варьируют в зависимости от типа раны [3]. Самыми распространенными видами бактерий, вызывающими раневые инфекции, являются *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* и *Acinetobacter baumannii* [4]. Известно, что раневые инфекции составляют треть случаев нозокомиальных инфекций среди хирургических больных и являются причиной 70–80% смертельных случаев при раневых поражениях [5]. Хронические раны влияют на качество жизни пациентов наряду с повышенной заболеваемостью и смертностью и являются огромным финансовым бременем для систем здравоохранения во всем мире, поскольку связаны с затратами на длительную госпитализацию, диагностические тесты, антибиотики и, иногда, инвазивную хирургию [6, 7]. Поэтому заживление ран представляет собой серьезную медицинскую проблему и требует разработки безопасных и эффективных лечебных средств.

Основу доступных препаратов для заживления ран составляют адсорбенты, противовоспалительные компоненты, антибиотики или декспантенол, стимулирующие процессы регенерации. В связи с тревожным ростом резистентности к классическим противомикробным препаратам, актуальной задачей становится поиск новых подходов к лечению ран, осложненных бактериальной инфекцией. Среди альтернативных противомикробных агентов особое внимание уделяется катионным антимикробным пептидам (КАМП) [8].

Катионные пептиды (КП) как транспортеры и как биологически активные субстанции привлекают огромное внимание ввиду их высокого сродства к клеточным мембранам, наличия определенной структуры с возможностью анализа масс-спектрометрией и широкими возможностями для разнообразного дизайна таких молекул. КП широко распространены в природе, они присутствуют у всех млекопитающих, особенно в коже, где играют защитную роль против патогенных микроорганизмов. Катионные антимикробные пептиды, или пептиды защиты хозяина (host defense peptides), представляют собой гетерогенную группу коротких положительно заряженных

пептидов преимущественно амфифильной природы, секретируемых иммунными (например, нейтрофилами и макрофагами [9]) и эпителиальными клетками позвоночных и беспозвоночных для защиты от микробных инвазий [10]. К недостаткам применения пептидов в качестве потенциальных противомикробных препаратов для терапии относят очень сложную для синтеза структуру, а также протеолитическую неустойчивость КП. Предполагается, что конъюгирование КАМП с иными биологически активными молекулами, такими как другие пептиды, полипептиды, белки и, в целом, антибиотики может способствовать улучшению противомикробных свойств, а также лежать в основе создания препаратов с мультибиологической активностью. В частности, создание малотоксичных эффективных препаратов, сочетающих антибактериальную и противовоспалительную активности, с низкой вероятностью развития резистентности, внесло бы существенный вклад как в фундаментальную науку, так и в практическое здравоохранение.

Поскольку КАМП протеолитически неустойчивы, в качестве несущей платформы для пептидов представляется перспективным, на наш взгляд, использование такой молекулы, как фуллерен C60.

Фуллерен C60 представляет собой молекулярное образование углерода в форме усеченного икосаэдра, обладающее сильной антиоксидантной активностью. Известно, что водорастворимые формы фуллерена C60 проявляют множественные биологические эффекты, включая противовирусные, противовоспалительные, противоаллергические и регенеративные свойства [11, 12]. При моделировании раневого процесса *in vivo* было показано, что некоторые ковалентные производные фуллерена C60 ускоряют заживление ран и предотвращают инфильтрацию воспалительными клетками [13].

Известно, что фуллерен C60 не растворим в водных средах, что, безусловно, является существенным препятствием его широкого применения в медицине. Ранее нами была разработана уникальная масштабируемая технология получения стабильной водной дисперсии фуллерена C60, что позволило провести исследования его биологической активности [14]. Следует отметить, что данная технология не включает применения органических растворителей, ультразвуковой обработки и нагревания, что обуславливает биосовместимость и безопасность получаемого раствора. Наша методика позволяет получать высококонцентрированную стабильную ВДФ с концентрацией не менее 1 г/л.

Основной целью настоящей работы был анализ ранозаживляющей активности мазевой композиции на основе ВДФ в экспериментальной модели раневого воспалительного процесса, а также оценка влияния ВДФ на экспрессию генов-маркеров, участвующих в регенеративном процессе, анализ антибактериальной активности КП и оценка перспективности создания комплексов на основе КП и фуллерена C60 для терапии раневых поражений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Композиция на основе ВДФ

Для терапии раневых поражений *in vivo* была приготовлена мазь, содержащая ВДФ (состав: ВДФ, вазелин, пальмитат сахарозы в соотношении 40 : 36 : 24 (по массе)), с использованием цифрового гомогенизатора

КА 25 в качестве перемешивающего устройства («ВДФ мазь»). Водный раствор фуллера C60 был получен с использованием диализного метода [14]. Этот метод совместим и не включает использование токсичных органических растворителей, ультразвуковой обработки и нагревания. При этом обеспечивается высокий выход фуллера C60 из кристаллического состояния в раствор (концентрация стерильного раствора фуллера C60 составляла 1 мг/мл). Гидродинамический размер частиц, определенный методом динамического светорассеяния, составлял 100–200 нм.

### Моделирование раневого воспалительного процесса *in vivo*

Моделирование раневого процесса [15] осуществляли на самках мышей линии BALB/c в возрасте 4–6 недель (питомник «Столбовая»; Москва, Россия). Животных содержали в следующих условиях: температура воздуха 18–26 °C; автоматическая смена 12-часового светового периода при относительной влажности 30–70%. Все животные имели неограниченный доступ к питьевой воде и корму. Перед выполнением раневых разрезов животных анестезировали 4% раствором изофлурана в течение 2 мин через дыхательные пути, после чего местно вводили 0,5%-й раствор лидокаина. С целью воспроизведения хирургической раны у мышей линии BALB/c вырезали фрагмент кожи (1 × 1 см) со спины. Мазь ВДФ наносили на раневую поверхность (40 мкг C60/мышь) через 24 ч после операции (группа «мазь ВДФ»). В качестве положительного контроля использовали широко применяемое терапевтическое средство — крем для лечения хирургических ран (группа «К+»). Мазь, содержащая изотонический раствор — фосфатно-солевой буфер (phosphate buffered saline, PBS) вместо ВДФ, использовали в качестве отрицательного контроля (группа «PBS»). Группа «интактные» (без повреждения кожи) также использовалась в качестве отрицательного контроля. Перечисленные составы применяли один раз в сутки в течение 11 дней. На 12-й день мышей умерщвляли методом цервикальной дислокации и собирали образцы кожи для количественного ПЦР-анализа.

### Оценка эффективности заживления ран

Скорость заживления кожи оценивали, измеряя площадь раны в продольном и поперечном направлениях (мм), ежедневно, после чего рассчитывали площадь раны по формуле:

$$S_{el} = \pi ab,$$

где  $S_{el}$  — площадь эллипса,  $a$  — большая полуось (половина длинного диаметра или поперечного размера),  $b$  — полуось (половина короткого диаметра или продольного размера).

Эффективность заживления раны (X) рассчитывали в процентах по формуле:

$$X = (1 - S_f/S_i) \times 100\%,$$

где  $S_k$  — конечная площадь раны,  $S_i$  — начальная площадь раны [16].

### Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

Суммарную РНК из образцов кожи экстрагировали с использованием набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, Courtaboeuf; Франция) в соответствии с инструкциями

производителя; кДНК синтезировали с использованием набора «Реверта-Л» («Интерлабсервис»; Россия). Продукт реакции обратной транскрипции амплифицировали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием системы определения ПЦР-РВ iCycler iQ (Bio-Rad Laboratories; США) и набора PCR Mix («Синтол»; Россия).

Расчеты для определения относительного уровня экспрессии генов были выполнены с использованием сравнительного Ct метода ( $\Delta Ct$ ) относительно mHPRT.

Относительную количественную оценку ПЦР-РВ использовали для выявления изменений в экспрессии генов-мишеней по отношению к эталонному гену, которым является ген *hprt* мыши. Количественные результаты ПЦР для экспрессии мРНК сравнивали в виде значений  $\Delta Ct$ , рассчитанных по формуле: отношение (эталон/мишень) =  $2^{Ct(hprt) - Ct(целевой\ ген)}$  [17].

### Оценка антибактериальной активности ВДФ и катионных пептидов

Антибактериальную активность ВДФ и синтезированных пептидов оценивали *in vitro* на примере штамма *E. coli Dh5a* методом подсчета колоний в сравнении с известным антибиотиком ампициллином, который был выбран в качестве положительного контроля. В рамках метода бактериальную суспензию инкубировали с различными концентрациями КАМП в жидкой питательной среде LB в течение 4 ч при 37 °C, а затем в виде капель наносили на поверхность подсушенной агаровой среды. Посев инкубировали в течение ночи при 37 °C.

Важно отметить, что вышеупомянутый штамм *E. coli* не является патогенным и неустойчив к антибиотикам. Активность пептидов в отношении выбранного штамма оценивали, основываясь на определении минимальной бактерицидной концентрации.

### Синтез катионных пептидов

Синтез пептидов проводили твердофазным методом, используя автоматический синтезатор пептидов PS3 Peptide Synthesizer (Gyros Protein Technologies Inc.; США) по протоколу Fmoc-химии, используя смесь N-гидроксисбензотриазола с диизопропилкарбодиимидом (HOBT/DIC) как конденсирующий агент. В синтезе использовали стартовые Fmoc-аминоацил-полимеры, смолу гелевого типа Rink Amide Chem Matrix. Боковые карбоксильные и гидроксильные группы аминокислот несли защиту в форме третбутильной группы (t-Bu), ε-аминогруппа лизина — в форме Boc, SH-группа цистеина — Trt, гуанидиновая функция аргинина — Pbf, карбоксильные и гидроксильные группы аминокислот имели защиту в форме трет-бутиловых эфиров. Стандартный цикл включал: промывку (DMFA), удаление Fmoc-защиты (20% 4-метил-пиперидин в DMFA), предварительное активирование Fmoc-аминокислоты (DIC/HOBT) и реакцию конденсации в среде DMFA/N-метилпирролидон при двухкратном избытке карбоксильного компонента (~0,5–1 ч). Контроль за полнотой реакции осуществляли методом Кайзера (нингидриновый тест) и при необходимости реакцию конденсации повторяли (0,5 ч). Конечные пептиды отщепляли от полимера трифторуксусной кислотой в присутствии скавенджеров (триизопропилсилан, этандиол, вода, диметилсульфид). Сырой продукт осаждали сухим метил-третбутиловым эфиром, затем

пептид экстрагировали водной уксусной кислотой и экстракт лиофилизировали (сублимитатор VirTis AdVantage 2.0 EL; SP Scientific, США). Пептиды очищали препаративной ВЭЖХ-хроматографией (LC-20 Shimadzu; Япония) на колонке с обращенной фазой (C18), используя ацетонитрил — 0,1% водная трифторуксусная кислота в качестве подвижной фазы (градиентная элюция). Полученные пептиды анализировали на гомогенность методом зонного капиллярного электрофореза на приборе Капель-105M (Люмекс; Россия) с фотометрической детекцией при 226 нм. Молекулярную массу анализировали, используя масс-спектрометр Microflex™ LT MALDI-TOF (Bruker Daltonic; США).

### Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft Inc.; США). Статистическую значимость определяли по критерию Стьюдента. Данные считали значительно различающимися, если  $p < 0,05$ . Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Оценка регенеративных эффектов ВДФ на модели раневого воспалительного процесса *in vivo*

На модели раневого поражения проведен анализ регенеративной активности мази на основе ВДФ в сравнении с коммерческим лекарственным средством («К+», положительный контроль). Визуальную оценку процесса заживления ран проводили индивидуально для каждой мыши путем измерения площади поражения. Исходная средняя площадь повреждения составила  $143,5 \pm 6,1$  мм<sup>2</sup> (группа «до лечения»). В последний день эксперимента площадь поражения по группам составила: «без лечения» —  $44,4 \pm 6,5$  мм<sup>2</sup>, «мазь ВДФ» —  $14,8 \pm 2,7$  мм<sup>2</sup>, «К+» —  $26,0 \pm 2,6$  мм<sup>2</sup>. Эти цифры показывают, что заживление при обработке ран ВДФ было эффективным, и скорость заживления была сравнима с группой положительного контроля и даже несколько превосходила последний. Поскольку визуальная оценка заживления является субъективным параметром, был проведен статистический анализ площади раны между группами, показавший статистическую значимость различий между значениями групп «мазь ВДФ» и «К+», которые, в свою очередь, достоверно отличались от значений группы «PBS». Установлено, что если для обработки хирургической раны использовали мазь ВДФ, то остаточная площадь раны была наименьшей.

#### Оценка уровня экспрессии патогенетически значимых генов

Для оценки способности ВДФ влиять на патогенетически значимые факторы регенеративного процесса был проведен анализ уровня экспрессии ряда генов. Величину экспрессии генов в коже мышей с раневым поражением с/без обработки ВДФ определяли методом ПЦР-РВ. Было показано, что во всех экспериментальных группах, где животные получали ВДФ, уровень экспрессии такого провоспалительного фактора, как *tnf $\alpha$* , который продуцируется в ответ на внедрение патогенов и повреждение тканей, а также стимулирует развитие

местной воспалительной реакции, был значительно снижен по сравнению с группой животных, не проходивших терапию («PBS»). Уровень экспрессии генов других провоспалительных цитокинов, таких как *il6* и *il1a*, также был значительно снижен у мышей с раневым поражением, которых лечили ВДФ, по сравнению с животными без терапии. Кроме того, нами было выявлено наличие способности фуллерена C60 усиливать экспрессию фактора HMGB1, который нарушает синтез коллагена и может обуславливать безрубцовое заживление ткани, наблюдаемое при обработке ВДФ.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют о способности фуллерена C60 ингибировать экспрессию генов провоспалительных цитокинов, что обуславливает наличие у данного вещества противовоспалительного эффекта, который, вероятно, способствует ускорению процесса заживления.

### Дизайн катионных пептидов

КП широко распространены в природе и продуцируются практически всеми организмами как часть неспецифической иммунной системы. Эти соединения первоначально рассматривали как потенциальные заменители антибиотиков, но оказалось, что они имеют более широкий спектр терапевтических эффектов, включая воздействия на вирусы, бактерии, микробные биопленки. Природные КП представляют собой линейные молекулы, содержащие до 50 аминокислот, с высокой долей гидрофобных и катионных остатков, что заставляет молекулы сворачиваться в амфипатические структуры с образованием  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -листов. За счет высокого содержания цистеина и образования дисульфидных связей такие пептиды формируют специфические петлевые конформации. Подавляющее большинство природных антимикробных КП имеют заряды от +3 до +9. Механизм их действия связан, в первую очередь, с повреждением клеточной мембраны [18]. В настоящее время технологии позволяют создавать структуры, сильно отличающиеся в топологическом отношении от природных конструкций, включая дендримерные структуры, не встречающиеся в природе. Конструирование аминокислотной последовательности включало создание конструкции с низкой токсичностью, стабильной в сывороточной среде, при этом структура должна демонстрировать значительную эффективность в стимуляции трансфекции. План также предполагал создание модульных конструкций. Одним из таких модулей является N-концевой суперкатионный участок, представленный остатками аргинина и/или лизина, он необходим для взаимодействия с НК и с поверхностью клетки. Центральный модуль представлен гидрофобным ядром из остатков лизина и короткими гидрофобными/амфифильными вставками. С-концевой модуль формирует также гидрофобный участок, обеспечивающий дополнительное сродство с мембраной клетки, и содержит остаток цистеина со свободной тиольной группой, предназначенной для присоединения репортерной метки.

В механизме повреждения мембраны важную роль играют гидрофобные взаимодействия между алифатическими цепями липидных мембран и гидрофобными остатками пептида, что способствует его включению в бислой мембраны через различные пути взаимодействия, например, путем образования пор. В модели «ковра» (carpet) катионный пептид, взаимодействуя с внешним фосфолипидным слоем

Таблица. Перечень катионных пептидов, продемонстрировавших антибактериальную активность в отношении *E. coli Dh5α*

Наименование пептида	Структура	Заряд	Молекулярная масса, Да
AB-1	Линейная	+ 8	1736
AB-3	Линейная	+ 12	3328
AB-4	Дендримерная	+ 11	2758
ST-10	Дендримерная	+ 8	2749

мембраны, располагается параллельно клетке, покрывая ее насыщающим образом. При достигнутом пороговом значении пептиды начинают вращаться, внедряются в мембрану, вызывая ее пермебиализацию. Особый интерес представляют разветвленные структуры — дендримерные КП. Следует отметить, что они обладают значительно большей устойчивостью к протеолитическим ферментам, в то же время меньшей токсичностью по сравнению с линейными пептидами аналогичного аминокислотного состава. При этом связывание с клетками у них сильнее благодаря кооперативным эффектам ввиду наличия у молекулы нескольких цепей. Наши ранние эксперименты демонстрировали их высокую проникаемость через клеточные мембраны, благодаря чему их можно использовать как носители для трансфекции клеток, для переноса генов и других биологически активных соединений [19].

#### Оценка антибактериальной активности ВДФ и катионных пептидов

В рамках изучения антибактериальной активности ВДФ и КП нами было показано, что ВДФ не имела бактерицидной активности и не обладала способностью ингибировать рост бактерий. Далее нами был проведен анализ ряда КП, которые, исходя из своих структурных характеристик, должны были обладать потенциальной антибактериальной активностью. Так, из 35 синтезированных нами линейных и дендримерных КАМП с молекулярной массой не более 4,5 кДа, четыре катионных пептида, а именно линейные пептиды AB-1, AB-3 и дендримерные пептиды AB-4, ST-10, продемонстрировали разную степень ингибирования роста бактериальной культуры *E. coli Dh5α*, а также определенную бактерицидную активность в отношении данного штамма (см. табл.).

Методом подсчета колоний нами была определена минимальная бактерицидная концентрация катионных пептидов, т. е. минимальная концентрация, вызывающая полную гибель бактерий в стандартных условиях опыта.

Таким образом, МБК для пептида AB-1 составила 1,15 мМ. При этом следует отметить, что в концентрации 0,23 мМ (в пять раз ниже бактерицидной) пептид AB-1 не показал какой-либо существенной активности в отношении данной бактериальной культуры, что указывает на крайне узкий рабочий диапазон концентраций пептида (рис. 1).

Пептид AB-3 обладал более выраженной, по сравнению с AB-1, бактерицидной активностью в отношении штамма *E. coli Dh5α* (рис. 2).

МБК для данного пептида составляла 0,11 мМ. При этом активность ампициллина в соответствующих дозах была примерно в 6 раз ниже. МБК ампициллина составляла 0,74 мМ.

Исследуемый пептид AB-4 проявлял существенную бактерицидную активность, сравнимую с контрольным антибиотиком ампициллином. МБК для данного пептида составляла 0,74 мМ (рис. 3).

МБК для дендримерного пептида ST-10 составила 0,74 мМ (рис. 4).

Указанная концентрация является минимальной, при которой наблюдается близкая к 100% гибель клеток. Следует отметить, что уровень проявленной пептидом ST-10 активности был несколько выше относительно контрольного образца антибиотика ампициллина. Так, при сопоставимых концентрациях 0,15 мМ и одинаковом разведении *E. coli* (1 : 10) видно, что количество обнаруживаемых бактериальных колоний культуры, обработанной пептидом ST-10, существенно меньше, чем при обработке ампициллином, и составляет 16 и 95 соответственно. Таким образом, под действием 0,15 мМ пептида и антибиотика эффект

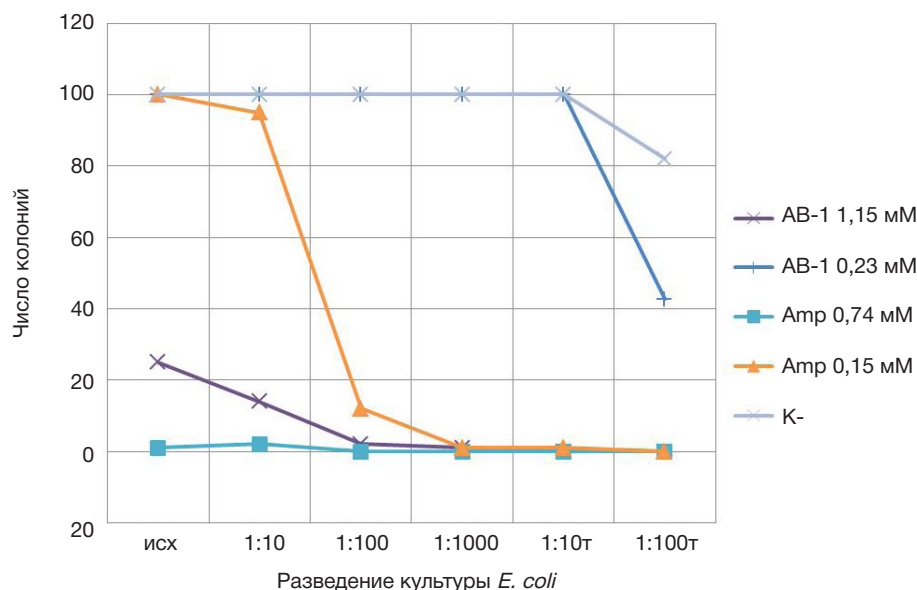
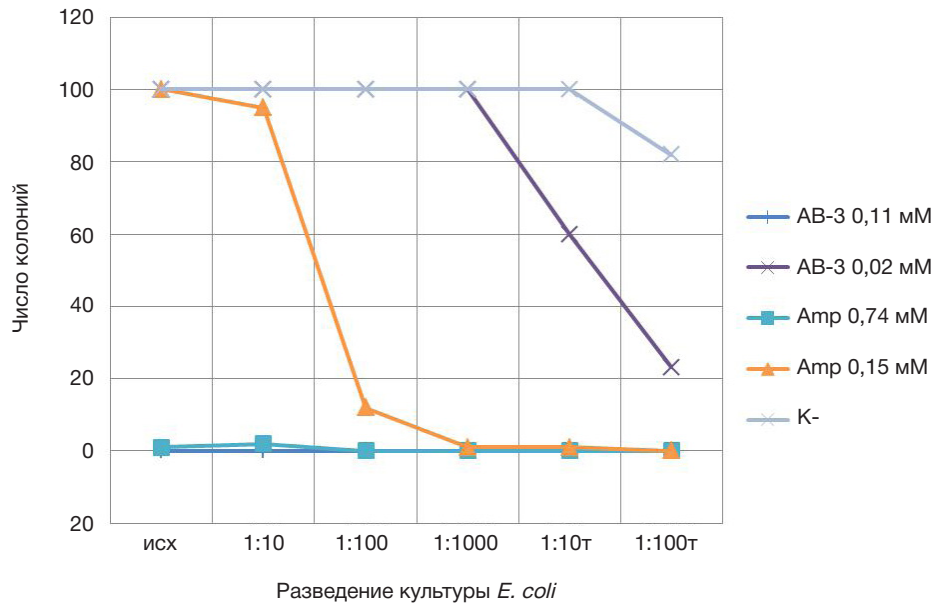


Рис. 1. Интенсивность роста бактерий под воздействием пептида AB-1



**Рис. 2.** Интенсивность роста бактерий под воздействием пептида АВ-3

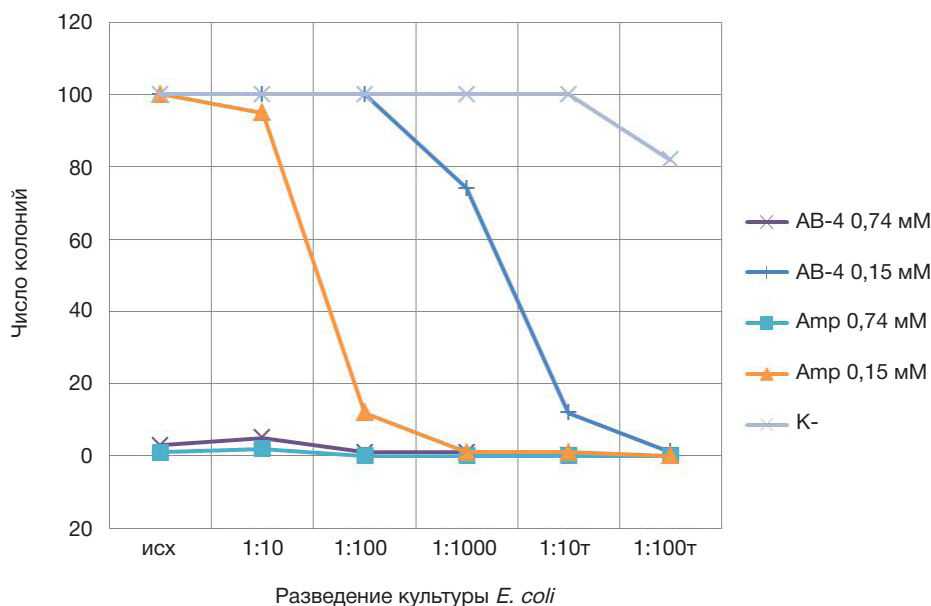
ингибирования роста бактериальной культуры был существеннее у ST-10.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В большинстве случаев ранения сопровождаются кровотечением из поврежденных сосудов и выбросом в окружающие ткани медиаторов воспаления, таких как серотонин, гистамин, вазоактивные вещества и цитокины. Нормальное заживление включает следующие фазы: воспаление, пролиферацию, созревание и ремоделирование. С целью определения регенеративной активности ВДФ мы оценивали экспрессию ряда генов-маркеров, в том числе *tnfa*, *il6* и *il1α*, участвующих в регенеративном процессе, с помощью ПЦР-РВ. Увеличение экспрессии этих цитокинов наблюдается во время воспалительной фазы заживления. Известно, что TNF $\alpha$  стимулирует выработку не только IL1, IL6, но и других провоспалительных цитокинов [20, 21]. IL6 является одним из важнейших медиаторов острой

фазы воспаления. Известно, что у мышей с дефицитом IL6 наблюдается задержка реэпителизации раны. Однако избыточный уровень IL6 служит сигналом для подавления пролиферации фибробластов на поздней стадии раны и приводит к образованию рубца [22]. Что касается IL1 $\alpha$ , то ранее было показано, что он стимулирует выработку коллагеназы, и сверхэкспрессия данного цитокина может быть связана с нарушением заживления ран из-за расщепления коллагена. Умеренное увеличение уровня экспрессии гена *il1α* впоследствии опосредует пролиферацию кератиноцитов в месте раны [23]. Уровни *il1α* низкие в раневой жидкости из острых ран, но повышены в жидкости из хронических ран.

Так, подавление экспрессии *tnfa*, *il6* и *il1α* под действием фуллерена C60 указывает на наличие у него не только противовоспалительного эффекта, но и способности препятствовать хронизации раневого процесса [15]. Ранее на модели атопического дерматита нами была показана противоаллергическая активность ВДФ с ингибированием Th1-цитокинов, а также увеличение экспрессии генов



**Рис. 3.** Интенсивность роста бактерий под воздействием пептида АВ-4

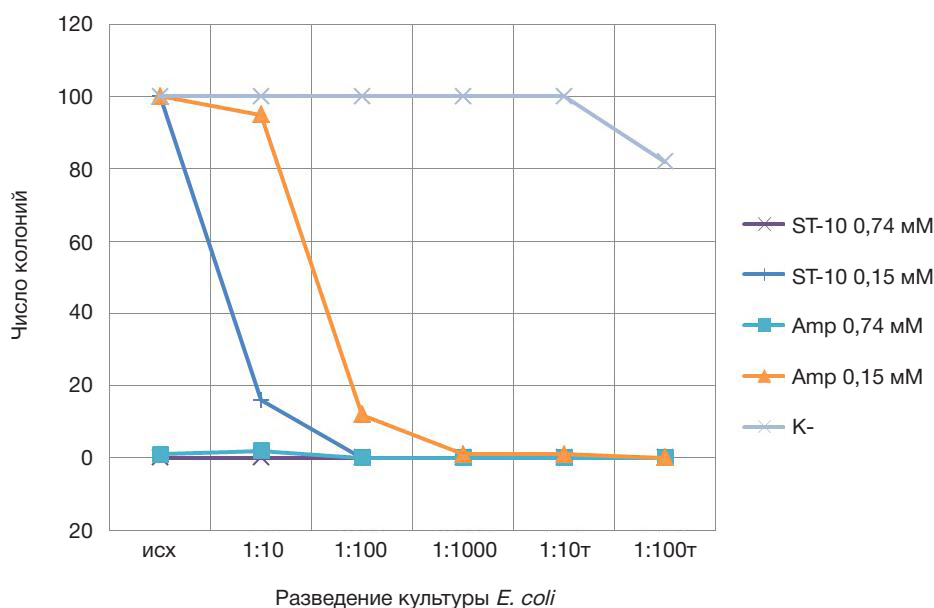


Рис. 4. Интенсивность роста бактерий под воздействием пептида ST-10

*Foxp3* и FLG (филаггрин) [24]. Таким образом, ВДФ проявила способность подавлять воспалительный процесс не только при раневом поражении, но и при аллергии, что делает ее перспективным соединением для терапии воспалительных заболеваний кожи.

Раневой процесс часто сопровождается присоединением вторичной бактериальной инфекции. Известно, что КАМП обладают широким спектром антимикробной и иммуномодулирующей активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, биопленок, вирусов, грибов и паразитов и эффективны против штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Важно отметить, что, вследствие высокой скорости бактерицидного действия КАМП, разнообразия механизмов действия и мишеней, вероятность развития резистентности к катионным пептидам крайне мала и требует наличия множественных мутаций, в частности, опосредующих изменение структуры клеточной стенки [25–27]. Вышеперечисленное делает КАМП перспективными соединениями для создания на их основе антибактериальных препаратов, а понимание того, как свойства антимикробных пептидов зависят от аминокислотной последовательности, позволит в будущем своевременно реагировать на появление новых устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий за счет целенаправленной реконструкции пептидных последовательностей [28].

В рамках проведения текущих исследований нами была создана библиотека КАМП, которые предположительно должны обладать высокой противомикробной активностью и низкой токсичностью. Для разработки панели КП мы опирались на базы данных уже имеющихся пептидов, а также на данные литературы по биологической (антибактериальной) активности КП. Таким образом,

пептидные последовательности мы конструировали с учетом содержания положительно заряженных аминокислот, гидрофобных аминокислот. Кроме того, при конструировании последовательностей были получены как линейные, так и дендримерные молекулы.

Так, определив некие правила создания катионных пептидов с антибактериальной активностью, мы рассчитываем в дальнейшем создать более активные КП. Противовоспалительная активность ВДФ делает привлекательной идею разработки гибридных молекул на основе КП и ВДФ.

## Выводы

В результате проведенного исследования были разработаны и синтезированы КП, обладающие антибактериальной активностью. Так, пептиды АВ-1, АВ-2, АВ-3 и ST-10, на наш взгляд, перспективны для создания на их основе противомикробных препаратов. В рамках дальнейших исследований мы планируем разработать на основе КП и фуллерена C60 гибридные соединения для сочетания противовоспалительной и ранозаживляющей активности с антибактериальной активностью. Фуллерен может выполнять роль несущей платформы для КП. Поскольку поверхность сферической молекулы фуллерена довольно большая, к ней можно присоединять до 4–8 молекул пептида. Такая мультивалентная структура менее подвержена биодеградации, и антимикробная активность может повышаться за счет кооперативного эффекта, одновременного присоединения нескольких цепей КП к клеточной мембране бактерии. Необходимо также учесть, что сам фуллерен C60, а также его аминокислотные аддукты обладают способностью проникать через биологические мембраны.

## Литература

1. The report "Scar Treatment Market Size, Share & Trends Analysis Report By Scar Type, By Product, By End Use And Segment Forecasts, 2019–2026". GLOBE NEWSWIRE. New York, 2019.
2. Beyene RT, Derryberry SL Jr, Barbul A. The Effect of Comorbidities on Wound Healing. *Surg Clin North Am.* 2020; 100 (4): 695–705. DOI: 10.1016/j.suc.2020.05.002. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32681870.

3. Sachdeva C, Satyamoorthy K, Murali TS. Microbial Interplay in Skin and Chronic Wounds. *Curr Clin Micro Rpt.* 2022; 9: 21–31. DOI: 10.1007/s40588-022-00180-4.
4. Huszczyński SM, Lam JS, Khursigara CM. The Role of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology. *Pathogens.* 2019; 9: 6. DOI: 10.3390/pathogens9010006.
5. Puca V, Marulli RZ, Grande R, Vitale I, Niro A, Molinaro G, et al. Microbial Species Isolated from Infected Wounds and Antimicrobial Resistance Analysis: Data Emerging from a Three-Years Retrospective Study. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10 (10): 1162. PubMed PMID: 34680743; PubMed PMCID: PMC8532735.
6. Прохоров Д. В., Щербенёва А. А., Нгема М. В., Испирьян М. Б., Кузнецова М. Ю. Современные методы комплексного лечения и профилактики рубцов кожи. *Крымский терапевтический журнал.* 2021; 1: 26–31.
7. Puca V, Traini T, Guarnieri S, Carradori S, Sisto F, Macchione N, et al. The Antibiofilm Effect of a Medical Device Containing TIAB on Microorganisms Associated with Surgical Site Infection. *Molecules.* 2019; 24 (12): 2280. PubMed PMID: 31248162; PubMed PMCID: PMC6630542.
8. Geitani R, Ayoub Moubareck C, Touqui L, Karam Sarkis D. Cationic antimicrobial peptides: alternatives and/or adjuvants to antibiotics active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol.* 2019; 19 (1): 54.
9. Samanta I, Bandyopadhyay S. *Streptococcus*. In: *Antimicrobial Resistance in Agriculture*. United States Cambridge: Academic Press in an imprint of Elsevier, 2020; p. 217–232.
10. Mookherjee N, Anderson MA, Haagsman HP, Davidson DJ. Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2020; 19: 311–32. DOI: 10.1038/s41573-019-0058-8.
11. Bosi S, Da Ros T, Spalluto G, Prato M. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications. *Eur J Med Chem.* 2003; 38 (11–12): 913–23. PubMed PMID: 14642323.
12. Gharbi N, Pressac M, Hadchouel M, Szwarc H, Wilson SR, Moussa F. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett.* 2005; 5 (12): 2578–85. PubMed PMID: 16351219.
13. Zhou Z, Joslin S, Dellinger A, Ehrlich M, Brooks B, Ren Q, et al. A novel class of compounds with cutaneous wound healing properties. *J Biomed Nanotechnol.* 2010; 6 (5): 605–11. PubMed PMID: 21329053.
14. Andreev S, Purgina D, Bashkatova E, Garshev A, Maerle A, Andreev I, et al. Study of fullerene aqueous dispersion prepared by novel dialysis method: simple way to fullerene aqueous solution. *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures.* 2015; 23: 792–800.
15. Shershakova NN, Andreev SM, Tomchuk AA, Makarova EA, Nikonova AA, Turetskiy EA, et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C60 produced by "green technology". *Nanomedicine.* 2023; 47: 102619. Epub 2022 Oct 19.
16. Молчанова В. И., Чикаловец И. В., Черников О. В., Попов А. М., Кривошапко О. Н., Лукьянов П. А. Сравнительное изучение биологической активности биогликанов из дальневосточной мидии *crenomytilus grayanus*. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2012; 1 (47): 47–50.
17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C(T))</sup> method. *Methods.* 2001; 25 (4): 402–8. PubMed PMID: 11846609.
18. Шамова О. В., Жаркова М. С., Чернов А. Н., Владимиров Е. В., Сухарева М. С., Комлев А. С. и др. Антимикробные пептиды врожденного иммунитета как прототипы новых средств борьбы с антибиотикорезистентными бактериями. *Российский журнал персонализированной медицины.* 2021; 1 (1): 146–72.
19. Kozhikhova KV, Shilovskiy IP, Shatilov AA, Timofeeva AV, Turetskiy EA, Vishniakova LI, et al. Linear and dendrimeric antiviral peptides: Design, chemical synthesis and activity against human respiratory syncytial virus. *J. Mater. Chemistry B.* 2020; 8 (13): 2607–17. DOI: 10.1039/c9tb02485a.
20. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003; 83 (3): 835–70. PubMed PMID: 12843410.
21. Ashcroft GS, Jeong MJ, Ashworth JJ, Hardman M, Jin W, Moutsopoulos N, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen.* 2012; 20 (1): 38–49. Epub 2011 Dec 8. PubMed PMID: 22151742; PubMed PMCID: PMC3287056.
22. Stockmann C, Kirmse S, Helfrich I, Weidemann A, Takeda N, Doedens A, et al. A wound size-dependent effect of myeloid cell-derived vascular endothelial growth factor on wound healing. *J Invest Dermatol.* 2011; 131 (3): 797–801. Epub 2010 Nov 25. PubMed PMID: 21107350.
23. Robertson FM, Pellegrini AE, Ross MR, Oberyszyn AS, Boros LG, Bijur GN, et al. Interleukin-1 $\alpha$  gene expression during wound healing. *Wound Rep Reg.* 1995; 3 (4): 473–84. PubMed PMID: 17147659.
24. Shershakova N, Baraboshkina E, Andreev S, Purgina D, Struchkova I, Kamyshnikov O, et al. Anti-inflammatory effect of fullerene C60 in a mice model of atopic dermatitis. *J Nanobiotechnology.* 2016; 14: 8. PubMed PMID: 26810232; PubMed PMCID: PMC4727272.
25. Spohn R, Daruka L, Lázár V, et al. Integrated evolutionary analysis reveals antimicrobial peptides with limited resistance. *Nat Commun.* 2019; 10 (1): 4538. PubMed PMID: 31586049; PubMed PMCID: PMC6778101.
26. Jangir PK, Ogunlana L, MacLean RC. Evolutionary constraints on the acquisition of antimicrobial peptide resistance in bacterial pathogens. *Trends Microbiol.* 2021; 29 (12): 1058–1061. Epub 2021 Apr 6. PubMed PMID: 33836929. PubMed PMID: 32355003; PubMed PMCID: PMC8097767.
27. Lazzaro BP, Zasloff M, Rolff J. Antimicrobial peptides: application informed by evolution. *Science.* 2020; 368 (6490): eaau5480. PubMed PMID: 32355003; PubMed PMCID: PMC8097767.
28. Falanga A, Del Genio V, Galdiero S. Peptides and Dendrimers: How to Combat Viral and Bacterial Infections. *Pharmaceutics.* 2021; 13 (1): 101.

## References

1. The report "Scar Treatment Market Size, Share & Trends Analysis Report By Scar Type, By Product, By End Use And Segment Forecasts, 2019–2026". GLOBE NEWSWIRE. New York, 2019.
2. Beyene RT, Derryberry SL Jr, Barbul A. The Effect of Comorbidities on Wound Healing. *Surg Clin North Am.* 2020; 100 (4): 695–705. DOI: 10.1016/j.suc.2020.05.002. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32681870.
3. Sachdeva C, Satyamoorthy K, Murali TS. Microbial Interplay in Skin and Chronic Wounds. *Curr Clin Micro Rpt.* 2022; 9: 21–31. DOI: 10.1007/s40588-022-00180-4.
4. Huszczyński SM, Lam JS, Khursigara CM. The Role of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology. *Pathogens.* 2019; 9: 6. DOI: 10.3390/pathogens9010006.
5. Puca V, Marulli RZ, Grande R, Vitale I, Niro A, Molinaro G, et al. Microbial Species Isolated from Infected Wounds and Antimicrobial Resistance Analysis: Data Emerging from a Three-Years Retrospective Study. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10 (10): 1162. PubMed PMID: 34680743; PubMed PMCID: PMC8532735.
6. Prohorov DV, Shherbenyova AA, Ngema MV, Ispiryan MB, Kuznecova MYu. Sovremennye metody kompleksnogo lecheniya i profilaktiki rubcov kozhi. *Krymskij terapevticheskij zhurnal.* 2021; 1: 26–31. Russian.
7. Puca V, Traini T, Guarnieri S, Carradori S, Sisto F, Macchione N, et al. The Antibiofilm Effect of a Medical Device Containing TIAB on Microorganisms Associated with Surgical Site Infection. *Molecules.* 2019; 24 (12): 2280. PubMed PMID: 31248162; PubMed PMCID: PMC6630542.
8. Geitani R, Ayoub Moubareck C, Touqui L, Karam Sarkis D.

- Cationic antimicrobial peptides: alternatives and/or adjuvants to antibiotics active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol.* 2019; 19 (1): 54.
9. Samanta I, Bandyopadhyay S. Streptococcus. In: Antimicrobial Resistance in Agriculture. United States Cambridge: Academic Press in an imprint of Elsevier, 2020; p. 217–232.
  10. Mookherjee N, Anderson MA, Haagsman HP, Davidson DJ. Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2020; 19: 311–32. DOI: 10.1038/s41573-019-0058-8.
  11. Bosi S, Da Ros T, Spalluto G, Prato M. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications. *Eur J Med Chem.* 2003; 38 (11–12): 913–23. PubMed PMID: 14642323.
  12. Gharbi N, Pressac M, Hadchouel M, Szwarc H, Wilson SR, Moussa F. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett.* 2005; 5 (12): 2578–85. PubMed PMID: 16351219.
  13. Zhou Z, Joslin S, Dellinger A, Ehrich M, Brooks B, Ren Q, et al. A novel class of compounds with cutaneous wound healing properties. *J Biomed Nanotechnol.* 2010; 6 (5): 605–11. PubMed PMID: 21329053.
  14. Andreev S, Purgina D, Bashkatova E, Garshev A, Maerle A, Andreev I, et al. Study of fullerene aqueous dispersion prepared by novel dialysis method: simple way to fullerene aqueous solution. *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures.* 2015; 23: 792–800.
  15. Shershakova NN, Andreev SM, Tomchuk AA, Makarova EA, Nikonova AA, Turetskiy EA, et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C60 produced by "green technology". *Nanomedicine.* 2023; 47: 102619. Epub 2022 Oct 19.
  16. Molchanova VI, Chikalovec IV, Chernikov OV, Popov AM, Krivoshapko ON, Lukyanov PA. Sravnitel'noe izuchenie biologicheskoy aktivnosti bioglikanov iz dal'nevostochnoj midii *crenomytilus grayanus*. *Tixookeanskij medicinskij zhurnal.* 2012; 1 (47): 47–50. Russian.
  17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-Delta Delta</sup> C(T) method. *Methods.* 2001; 25 (4): 402–8. PubMed PMID: 11846609.
  18. Shamova OV, Zharkova MS, Chernov AN, Vladimirova EV, Suxareva MS, Komlev AS. i dr. Antimikrobnnye peptidy vrozhdennogo immuniteta kak prototipy novyx sredstv bor'by s antibiotikorezistentnymi bakteriyami. *Rossiiskij zhurnal personalizirovannoj mediciny.* 2021; 1 (1): 146–72. Russian. Kozhikhova KV, Shilovskiy IP, Shatilov AA, Timofeeva AV, Turetskiy EA, Vishniakova LI, et al. Linear and dendrimeric antiviral peptides: Design, chemical synthesis and activity against human respiratory syncytial virus. *J. Mater. Chemistry B.* 2020; 8 (13): 2607–17. DOI: 10.1039/c9tb02485a.
  19. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003; 83 (3): 835–70. PubMed PMID: 12843410.
  20. Ashcroft GS, Jeong MJ, Ashworth JJ, Hardman M, Jin W, Moutsopoulos N, et al. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen.* 2012; 20 (1): 38–49. Epub 2011 Dec 8. PubMed PMID: 22151742; PubMed PMCID: PMC3287056.
  21. Stockmann C, Kirmse S, Helfrich I, Weidemann A, Takeda N, Doedens A, et al. A wound size-dependent effect of myeloid cell-derived vascular endothelial growth factor on wound healing. *J Invest Dermatol.* 2011; 131 (3): 797–801. Epub 2010 Nov 25. PubMed PMID: 21107350.
  22. Robertson FM, Pellegrini AE, Ross MR, Oberyszyn AS, Boros LG, Bijur GN, et al. Interleukin-1alpha gene expression during wound healing. *Wound Rep Reg.* 1995; 3 (4): 473–84. PubMed PMID: 17147659.
  23. Shershakova N, Baraboshkina E, Andreev S, Purgina D, Struchkova I, Kamyshnikov O, et al. Anti-inflammatory effect of fullerene C60 in a mice model of atopic dermatitis. *J Nanobiotechnology.* 2016; 14: 8. PubMed PMID: 26810232; PubMed PMCID: PMC4727272.
  24. Spohn R, Daruka L, Lázár V, et al. Integrated evolutionary analysis reveals antimicrobial peptides with limited resistance. *Nat Commun.* 2019; 10 (1): 4538. PubMed PMID: 31586049; PubMed PMCID: PMC6778101.
  25. Jangir PK, Ogunlana L, MacLean RC. Evolutionary constraints on the acquisition of antimicrobial peptide resistance in bacterial pathogens. *Trends Microbiol.* 2021; 29 (12): 1058–1061. Epub 2021 Apr 6. PubMed PMID: 33836929. PubMed PMID: 32355003; PubMed PMCID: PMC8097767.
  26. Lazzaro BP, Zasloff M, Rolf J. Antimicrobial peptides: application informed by evolution. *Science.* 2020; 368 (6490): eaau5480. PubMed PMID: 32355003; PubMed PMCID: PMC8097767.
  27. Falanga A, Del Genio V, Galdiero S. Peptides and Dendrimers: How to Combat Viral and Bacterial Infections. *Pharmaceutics.* 2021; 13 (1): 101.



## ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИМФОЦИТАРНОГО ТЕСТА ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДОЗИМЕТРИИ В РАННИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

М. К. Седанкин <sup>✉</sup>, Е. А. Гудков, В. Ю. Соловьев, Л. Ю. Мершин

Федеральный медико-биологический центр имени А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

При ликвидации последствий крупномасштабных радиационных аварий на ранних этапах медицинской эвакуации ключевое значение имеет первичная медицинская сортировка пострадавших. Для этой цели может быть использована информация о количестве лимфоцитов (анализ крови) в единице объема периферической крови. Целью исследования было провалидировать метод использования лимфоцитарного теста для прогнозирования степени тяжести острого лучевого поражения в первые дни после облучения при массовых радиационных поражениях при условии однократного анализа периферической крови. Проводили корреляционный анализ данных клинико-лабораторных исследований числа лимфоцитов в периферической крови пострадавших в первые дни после облучения при аварии на ЧАЭС и других радиационных инцидентах на территориях стран бывшего СССР (115 человек), в том числе в радиационных инцидентах с гамма-нейтронным облучением (20 человек). Установлено, что при концентрации лимфоцитов  $0,2-1,0 \times 10^9/\text{л}$  на 2-е сутки после облучения абсолютная погрешность оценки дозы составляет  $\pm 1,5$  Гр при воздействии гамма-лучей и  $\pm 1,3$  Гр — при воздействии гамма-нейтронного излучения. При концентрации лимфоцитов более  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  в обоих случаях прогнозируется легкая степень острой лучевой болезни (ОЛБ) при средней дозе менее 2,0 Гр; при концентрации лимфоцитов менее  $0,2 \times 10^9/\text{л}$  оценка средней дозы составляет более 4,0 Гр, что соответствует тяжелой или крайне тяжелой степени ОЛБ. Благодаря доступности и простоте лимфоцитарного теста, этот метод биологической дозиметрии способен занять важное место в диагностике радиационных поражений при крупномасштабных авариях, в связи с тем что результаты цитогенетических тестов недоступны в течение первых дней после инцидента.

**Ключевые слова:** доза облучения, лимфоциты, острая лучевая болезнь, радиационная авария, радиологический инцидент, ядерный инцидент, биологическая дозиметрия

**Вклад авторов:** М. К. Седанкин — дизайн и концепция исследования, написание статьи, обзор литературы, утверждение окончательного варианта статьи; Е. А. Гудков — дизайн и концепция исследования, сбор материала, интерпретация данных, разработка инструмента математических расчетов; В. Ю. Соловьев — общее руководство, дизайн и концепция исследования, написание статьи; Л. Ю. Мершин — редактирование, интерпретация данных, оптимизация инструмента математических расчетов.

✉ **Для корреспонденции:** Михаил Константинович Седанкин  
ул. Живописная, д. 46, г. Москва, 123098, Россия; msedankin@yandex.ru

**Статья получена:** 10.08.2023 **Статья принята к печати:** 11.09.2023 **Опубликована онлайн:** 28.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.034

## FEATURES OF USING A LYMPHOCYTE TEST FOR BIOLOGICAL DOSIMETRY IN THE EARLY PERIOD AFTER EXPOSURE

Sedankin MK <sup>✉</sup>, Gudkov EA, Soloviev VYu, Mershin LYu

Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

When eliminating the consequences of large-scale radiation accidents, primary triage of victims is of key importance during the early phase of medical evacuation. Information about lymphocyte counts (blood test) per unit of peripheral blood volume can be used for this purpose. The study was aimed to validate the method of using a lymphocyte test for prediction of acute radiation injury severity in the first days after the exposure associated with the radiation mass casualty incident, given peripheral blood was tested once. We performed correlation analysis of the data of laboratory studies focused on quantifying lymphocytes in peripheral blood of victims during the first days following the Chernobyl disaster and other radiation accidents on the territory of the countries of the former USSR (115 individuals), including radiation accidents with gamma neutron radiation (20 individuals). It was found that with the lymphocyte concentration of  $0.2-1.0 \times 10^9/\text{L}$  on day 2 after exposure, the absolute error of estimated dose was  $\pm 1.5$  Gy in case of gamma exposure and  $\pm 1.3$  Gy in case of exposure to gamma neutron radiation. When the lymphocyte concentration exceeds  $1.0 \times 10^9/\text{L}$ , mild acute radiation syndrome (ARS) is predicted, given the average dose is below 2.0 Gy; when the lymphocyte concentration is less than  $0.2 \times 10^9/\text{L}$  the estimated average dose exceeds 4.0 Gy, which corresponds to severe or extremely severe ARS. Thanks to the lymphocyte test accessibility and simplicity, this biological dosimetry method can occupy a worthy position in the diagnosis of radiation injury associated with large-scale accidents, since the results of cytogenetic tests are not available within first days after the accident.

**Keywords:** radiation dose, lymphocytes, acute radiation syndrome, radiation accident, radiological accident, nuclear accident, biological dosimetry

**Author contribution:** Sedankin MK — study concept and design, manuscript writing, literature review, approval of the final version of the article; Gudkov EA — study concept and design, data acquisition, data interpretation, computation tool development; Soloviev VYu — general management, study concept and design, manuscript writing; Mershin LYu — editing, data interpretation, computation tool optimization.

✉ **Correspondence should be addressed:** Mikhail K. Sedankin  
Zhivopisnaya, 46, Moscow, 123098, Russia; msedankin@yandex.ru

**Received:** 10.08.2023 **Accepted:** 11.09.2023 **Published online:** 28.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.034

При ликвидации последствий крупномасштабных радиационных аварий на начальных этапах медицинской эвакуации ключевое значение имеет первичная медицинская сортировка пострадавших. Для этой цели, в том числе при условии отсутствия индивидуальных дозиметров у пострадавших, может быть использована информация о первичной реакции на облучение с учетом

индивидуальных сведений об условиях облучения и/или сведения о анализе крови. Результаты обобщения информации о клинических проявлениях первичной реакции на облучение и их прогностической ценности для оценки степени тяжести лучевого поражения присутствуют в большом количестве публикаций [1–6]. Так, были проанализированы фактические сведения о

симптомах первичной реакции у пострадавших при аварии на ЧАЭС (1986 г.) и других радиационных инцидентах [5, 6]. Показано, что из всех симптомов первичной реакции на облучение наиболее информативно время начала развития рвоты после облучения. Однако такие данные в ряде случаев могут не обладать значимой прогностической ценностью вследствие, например, того, что пострадавшие могли использовать противорвотные средства [2, 7], а также вследствие воздействия других причин (травмы головы, психоэмоциональные расстройства и др.). В связи

с этим дополнительным источником сведений о степени тяжести радиационного поражения может служить информация о количестве лимфоцитов в единице объема периферической крови — так называемый лимфоцитарный тест (анализ крови на лимфоциты).

Число клеток периферической крови — важный биомаркер радиационного облучения. Особой прогностической ценностью при отсутствии комбинированных радиационных поражений и при наличии анализов крови у пострадавших обладает лимфоцитарный тест, или измерение абсолютного

**Таблица 1.** Концентрация лимфоцитов в периферической крови ( $\times 10^9$  /л) на 2-й день после облучения у пострадавших при аварии на ЧАЭС 1986 г. и в других радиационных инцидентах (по материалам базы данных по острым лучевым поражениям человека ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России), дополнено и переработано из ранее опубликованной работы [13]. Отдельно выделены случаи с воздействием гамма-нейтронного излучения

УКН	Доза, Гр	Концентрация лимфоцитов, $\times 10^9$ /л	УКН	Доза, Гр	Концентрация лимфоцитов, $\times 10^9$ /л	УКН	Доза, Гр	Концентрация лимфоцитов, $\times 10^9$ /л
Гамма-излучение (95 человек)								
1001	7,5	0,117	1055	5,3	0,522	1096	3,7	0,342
1005	5,2	0,165	1056	3,6	0,41	1097	1	0,662
1007	5,5	0,325	1057	3	0,516	1098	2	0,63
1011	6,3	0,081	1058	3	0,437	1099	5,6	1,2
1013	6,3	0,108	1059	5,8	0,54	1100	2,6	0,48
1018	2,7	0,229	1060	6,1	0,432	1101	3,2	0,841
1019	4,6	0,216	1061	4,4	0,513	1102	1,2	1,597
1021	4,7	0,164	1062	7	0,483	1103	1,9	0,817
1022	7,1	0,162	1063	1,1	0,51	1105	1,5	0,557
1024	2,3	0,365	1065	3,1	1,008	1106	2,3	0,69
1025	6	0,637	1066	1	0,884	1107	0,7	1,128
1028	7,3	0,376	1067	2,6	0,75	1108	2,3	0,756
1030	6,4	0,189	1068	4,6	0,293	1140	0,3	1,092
1031	7,7	0,399	1070	1,2	0,56	3033	7,7	0,296
1032	4,2	0,754	1071	5,4	0,128	3034	4	0,285
1033	3,9	0,636	1072	3,6	0,45	3035	6	0,222
1035	4	0,532	1073	3,5	2,52	3038	1,3	0,98
1037	2,8	0,566	1075	1,4	1,162	3044	1,7	1,155
1039	4,3	0,852	1078	0,3	1,842	3048	2,6	0,405
1040	1,7	0,612	1079	0,6	2,12	3050	2,3	0,484
1041	3,1	0,344	1081	1,2	1,275	3051	3	0,438
1042	6,3	0,357	1082	1,2	2,352	3052	3	0,7
1043	4,7	0,281	1083	1,9	0,989	3053	3	0,335
1044	3,7	0,609	1084	1,1	1,058	3067	2,3	1,044
1047	3,2	0,744	1085	3,3	0,3	3068	3	0,728
1048	2	0,924	1087	3,5	0,378	3069	3,5	0,504
1049	2,1	0,235	1089	1,7	0,846	3077	0,85	1,107
1050	3,3	0,897	1090	1,2	0,74	3078	0,9	1,26
1051	1,8	0,943	1091	1,2	0,608	3082	2,1	0,697
1052	4,3	0,436	1092	2,7	0,72	3083	1,3	1,798
1053	2,8	0,594	1094	6,6	0,684	3084	2,1	0,91
1054	3,6	0,456	1095	2,2	0,923			
Гамма-нейтронное излучение (20 человек)								
3008	3,8	0,352	3036	3,3	0,067	3065	2,25	0,504
3010	0,9	1,564	3037	3,7	0,269	3071	3,7	0,93
3011	0,5	1,222	3040	5,8	0,204	3073	5	0,08
3020	4	0,396	3042	4,1	0,259	3079	2,1	1,147
3025	2,5	0,423	3043	3	0,551	3081	1,5	0,774
3027	1,1	1,071	3045	5,5	0,444	3086	1,9	0,769
3030	3,6	0,403	3046	7,4	0,072			

**Таблица 2.** Оценка дозы по промежутку времени между отбором образцов крови и соотношению концентрации лимфоцитов L<sub>2</sub>/L<sub>1</sub> в период 2–18 ч после облучения

L <sub>2</sub> /L <sub>1</sub>	Время между измерениями, ч				
	4	6	8	10	12
0,8	8	5,4	4	3,2	2,7
0,7	>12	8,6	6,4	5,1	4,3
0,6	>12	>12	9,2	7,4	6,1
0,5	>12	>12	>12	10	8,3

числа лимфоцитов или динамики его изменения в периферической крови пострадавшего. Измерение абсолютного числа лимфоцитов является самым быстрым и простым лабораторным тестом для оценки дозы облучения в течение 24 ч после воздействия. Изначально врачи использовали номограмму, разработанную G. A. Andrews для прогнозирования степени тяжести радиационных поражений. Выявленное низкое значение абсолютного числа лимфоцитов или прогрессивно снижающиеся число лимфоцитов в течение некоторого промежутка времени говорит о воздействии возможно высокой дозы радиации, что подчиняется классическим кривым истощения лимфоцитов [8].

В целом, использование лимфоцитарного теста основано на том, что после значимого падения в первые сутки после облучения в последующий период со 2-го по 9-й день средняя концентрация лимфоцитов в периферической крови остается более или менее постоянной. На этих закономерностях основаны рекомендации по практическому использованию лимфоцитарного теста. Корреляционная связь числа или концентрации лимфоцитов периферической крови с полученной дозой подробно исследована на контингенте пострадавших при аварии на ЧАЭС и в других радиационных авариях согласно [9]. Показано, что наиболее высокую корреляционную зависимость от дозы имеет средняя концентрация лимфоцитов периферической крови в 3–6 сутки после облучения. Но более ранний период в этой работе не рассмотрен.

Однако на практике не исключены ситуации, когда у пострадавшего имеется только один зарегистрированный анализ крови в один из первых дней после облучения. В отечественной литературе этот временной диапазон исследован недостаточно. Необходимы дальнейшие исследования с целью повышения информативности лимфоцитарного теста в этот временной период.

Оценка дозы с использованием результата только одной точки взятия анализа крови в первые сутки мало информативна, так как имеет очень большую неопределенность. В статистическом отношении этот вопрос недостаточно изучен. В литературе имеются сведения об оценке степени тяжести поражения в первые дни или часы после радиационного инцидента [10, 11]. Прогноз степени тяжести лучевого поражения по абсолютному содержанию лимфоцитов в периферической крови пострадавшего в первые два дня после облучения может быть выполнен согласно руководству МАГАТЭ и ВОЗ [12].

В настоящее время актуальны разработка и усовершенствование лимфоцитарного теста как метода биологической дозиметрии с целью оценки и прогноза степени тяжести пострадавших при радиационных инцидентах в первые дни после аварии на ранних этапах медицинской эвакуации и последующего этапного лечения.

Цель исследования — валидация метода использования лимфоцитарного теста в первые двое суток после облучения

для прогнозирования степени тяжести поражения при условии однократного взятия анализа крови при массовых радиационных поражениях на основе использования клиничко-лабораторных данных о пострадавших в радиационных инцидентах из базы данных по ОЛБ ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходной информацией для исследования являются клинические материалы из базы данных по ОЛБ ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России [13]. Рассматривали контингент пострадавших при аварии на ЧАЭС (77 человек) и других радиационных авариях (38 человек) с дозой облучения не более 8 Гр (табл. 1). В качестве метода исследования использовали корреляционный анализ.

Для рассматриваемых данных была проанализирована зависимость поглощенной дозы облучения от концентрации лимфоцитов в периферической крови пострадавших на 2-й день в период после облучения, а также была установлена степень корреляции между данными показателями. Отдельно были рассмотрены случаи с комбинированным воздействием гамма-нейтронным излучением. Результаты представлены на рисунке и в табл. 3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

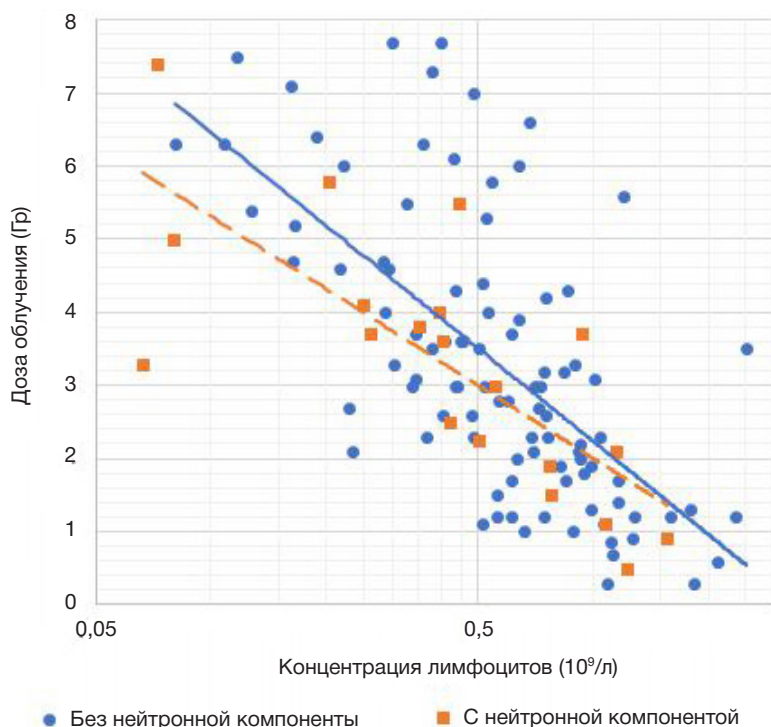
В опубликованной ранее работе было показано, что в первый день после облучения в клинически значимом диапазоне доз концентрация лимфоцитов в периферической крови снижается приблизительно по экспоненциальному закону [10]. Постоянная скорости снижения концентрации лимфоцитов в период со 2-го по 18-й ч после облучения коррелирует с дозой облучения  $D$ , что дает возможность оценивать эту дозу по двум точкам взятия анализов крови [11]:

$$D = -(k/\Delta T) \times \ln(L_1/L_2) \quad (1)$$

где  $L_1$  и  $L_2$  — число лимфоцитов в образцах крови, взятые в моменты времени  $t_1$  и  $t_2$  после воздействия ( $t_2 > t_1$ ),  $\Delta T = t_2 - t_1$  — время, прошедшее между взятием образцов крови, и константа  $k = 144$ .

Аналогично данным работы [11], с помощью представленной формулы может быть произведена оценка поглощенной дозы по данным двух анализов крови (табл. 2).

По данным табл. 2 проанализирована корреляционная связь поглощенной дозы облучения с количеством лимфоцитов в периферической крови пострадавших на 2-й день после облучения (см. рис.). Статистическая обработка позволила оценить неопределенность прогноза степени тяжести лучевого поражения по результатам одиночного анализа на 2-й день после облучения (табл. 3). Там же для сравнения представлены результаты прогноза по среднему значению количества лимфоцитов на 3–6 сутки после облучения.



**Рис.** Зависимость дозы облучения (Гр) от численности лимфоцитов ( $\times 10^9/l$ ) на 2-е сутки после облучения. Маркерами показаны исходные данные (по отдельности для групп с гамма- и гамма-нейтронным излучением), линиями — наблюдаемая тенденция

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Следует отметить, что при сочетанном воздействии гамма-нейтронным излучением прогнозируемая доза оказывается в среднем на 10–15% ниже, чем при облучении гамма-излучением.

Если вернуться к вопросу о возможности использования одного анализа крови в первые сутки после облучения, то можно воспользоваться результатами работы, в которой показано, что индивидуальные колебания уровня лимфоцитов в периферической крови здоровых людей при длительном наблюдении составляют величину примерно + 20% от среднего значения [11]. Поэтому данные о предшествующих анализах крови не могут быть надежным ориентиром для уточнения прогноза. Для оценки дозы может быть использовано соотношение (1), где в качестве данных первого измерения  $L_1$  уровня лимфоцитов выступают данные анализа крови у пострадавшего, взятые лишь за несколько дней до облучения, а в качестве параметра  $\Delta T = t - 2$ , где  $t$  — время от момента облучения до момента взятия анализа в период со 2-го по 18-й ч после облучения.

Концентрационные гематологические показатели могут обладать меньшей достоверностью вследствие многочисленных клинических проблем, не связанных с радиационным воздействием, и разброса биологических показателей: проведение инфузионно-трансфузионной терапии, нелучевые травмы, этническая принадлежность, возраст, состояние здоровья и пол исследуемых пострадавших, уменьшение или увеличение гематологических показателей с помощью лекарств и др. [14, 15]. Поэтому при постановке предварительного диагноза опора только на лимфоцитарный тест без учета других данных и вышеперечисленных причин может приводить к смещенной оценке дозы или степени тяжести радиационного поражения.

**ВЫВОДЫ**

Валидация информации по уровню лимфоцитов периферической крови на 2-й день после облучения позволила уточнить данные по прогнозу степени тяжести лучевого поражения: 1) при концентрации лимфоцитов периферической крови менее  $0,2 \times 10^9/l$

**Таблица 3.** Оценка неопределенности полученной дозы (Гр) и степени тяжести лучевого поражения по концентрации лимфоцитов в периферической крови на 2-е сутки и среднее значение с 3 по 6 сутки после облучения (по данным [9])

Концентрация лимфоцитов, $\times 10^9$ кл/л	Дни после облучения			
	гамма-излучение		гамма-нейтронное излучение	
	2	3–6	2	3–6
< 0,2	II–IV	III–IV	II–IV	III–IV
0,3	4,4 (3–5,9) II–III	5,8 (4,2–7,4) III–IV	3,7 (2,6–4,9) II–III	4,5 (3,0–6,0) II–III
0,4	3,9 (2,5–5,4) II–III	5 (3,3–6,6) II–IV	3,3 (2,2–4,4) II–III	3,7 (2,2–5,2) II–III
0,5	3,5 (2,1–5) II–III	4,3 (2,7–5,9) II–III	3 (1,9–4,1) I–III	3,1 (1,7–4,6) I–III
0,6	3,2 (1,7–4,6) I–III	3,8 (2,2–5,4) II–III	2,7 (1,6–3,9) I–II	2,6 (1,3–4,0) I–II
0,8	2,6 (1,2–4,1) I–III	3 (1,4–4,6) I–III	2,3 (1,2–3,4) I–II	1,8 (0,7–3,0) I–II
1	2,2 (0,8–3,7) до II	2,3 (0,7–3,9) I–II	2 (0,9–3,1) до II	1,1 (0,2–2,0) до II

прогнозируется ОЛБ тяжелой (III) или крайне тяжелой (IV) степени тяжести; 2) в диапазоне концентраций лимфоцитов  $0,2-1,0 \times 10^9/\text{л}$  абсолютная погрешность оценки дозы составляет  $\pm 1,5$  Гр при воздействии гамма-излучением и  $\pm 1,3$  Гр при воздействии гамма-нейтронным излучением. У пострадавших диагностирована средняя (II) или тяжелая (III) степень лучевого поражения, и их лечение должно быть начато в ближайшее время в специализированном стационаре; 3) при концентрации лимфоцитов периферической крови в диапазоне свыше  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  можно прогнозировать ОЛБ легкой (I) или средней (II) степени. По сравнению с методом диагностики, приведенным в статье [9], данный тест позволяет прогнозировать дозу облучения на основе данных

всего одного анализа крови, взятого на 2-е сутки после облучения. Это может быть предпочтительнее в случаях крупномасштабных радиационных аварий, когда имеющихся в распоряжении медицинских ресурсов недостаточно для полноценной диагностики степени тяжести ОЛБ. Лимфоцитарный тест остается одним из наиболее простых и доступных методов биологической дозиметрии, что определяет его роль в диагностике радиационных поражений при крупномасштабных авариях, когда результаты цитогенетических тестов недоступны в течение первых дней после инцидента. В будущем при наличии дополнительных источников информации о концентрации лимфоцитов в первые дни после облучения точность прогноза может быть повышена.

## Литература

1. Flynn DF, Goans RE. Nuclear Terrorism: triage and medical management of radiation and combined-injury casualties. *Surgical Clinics*. 2006; 86 (3): 601–35. DOI: 10.1016/j.suc.2006.03.005.
2. Waselenko JK, MacVittie TJ, Blakely WF, Pesik N, Wiley AL, Dickerson WE, et al. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the strategic National Stockpile Radiation Working Group. *Annals of Internal Medicine*. 2004; 140 (12): 1037–14. DOI: 10.7326/0003-4819-140-12-200406150-00015.
3. Iddins CJ, Davis JE, Goans RE, Case C. Radiological and nuclear terrorism. *Oncologic Emergency Medicine*. 2021; 543–10. DOI: 10.1007/978-3-030-67123-5\_42.
4. Баранов А. Е. Острая лучевая болезнь: биологическая дозиметрия, ранняя диагностика и лечение, исходы и отдаленные последствия. В книге: Барабанова А. В., Баранов А. Е., Бушманов А. Ю., Гуськова А. К. Радиационные поражения человека. Избранные клинические лекции, методическое пособие. М.: Слово, 2007; 53–31.
5. Соловьев В. Ю., Самойлов А. С., Лебедев А. О., Седанкин М. К., Гудков Е. А. Использование информации о времени развития рвоты при первичной сортировке пострадавших в радиационных авариях. Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2021; (1): 14–7. DOI: 10.25016/2541-7487-2021-0-1-14-21.
6. Соловьев В. Ю., Краснюк В. И., Фаткина С. С. База данных по острым лучевым поражениям человека. Сообщение 4. Закономерности формирования первичной реакции при относительно равномерном аварийном облучении. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2014; 59 (4): 32–8.
7. Fliedner TM, Friesecke I, Beyrer K, editors. Medical management of radiation accidents: manual on the acute radiation syndrome. British Inst of Radiology, 2001.
8. Andrews GA, Auxier JA, Lushbaugh CC. The Importance of dosimetry to the medical management of persons accidentally exposed to high levels of radiation. In: Personnel dosimetry for radiation accidents. Proceedings of an International Atomic Energy Agency symposium. Vienna: International Atomic Energy Agency. 1965; 3–16
9. Лебедев А. О., Самойлов А. С., Соловьев В. Ю., Баранова Н. Н., Гудков Е. А. Особенности использования лимфоцитарного теста для прогнозирования степени тяжести острого лучевого поражения. Медицина катастроф. 2021; (3): 29–4. DOI: 10.33266/2070-1004-2021-3-29-33.
10. Goans RE, Holloway EC, Berger ME, Ricks RC. Early Dose Assessment Following Severe Radiation Accidents. *Health Physics*. 1997; 72 (4): 513–8.
11. Parker DD, Parker JC. Estimating radiation dose from time to emesis and lymphocyte depletion. *Health Physics*. 2007; 93 (6): 701–4. DOI: 10.1097/01.HP.0000275289.45882.29.
12. Общие процедуры медицинского реагирования при ядерной или радиологической аварийной ситуации. Серия «Аварийная готовность и реагирование», IAEA-EPR-MEDICAL. Вена: МАГАТЭ, 2009; 327 с.
13. Samoilov AS, Soloviev VYu, editors. ATLAS. Acute radiation syndrome. M.: SRC-FMBC, 2019; 232.
14. Obrador E, Salvador-Palmer R, Villaescusa JI, Gallego E, Pellicer B, Estrela JM, Montoro A. Nuclear and Radiological Emergencies: Biological Effects, Countermeasures and Biodosimetry. *Antioxidants*. 2022; 11 (6): 1098–51. DOI: 10.3390/antiox11061098.
15. Hu S, Blakely WF, Cucinotta FA. HEMODOSE: a biodosimetry tool based on multi-type blood cell counts. *Health physics*. 2015; 109 (1): 54–68. DOI: 10.1097/HP.00000000000029568.

## References

1. Flynn DF, Goans RE. Nuclear Terrorism: triage and medical management of radiation and combined-injury casualties. *Surgical Clinics*. 2006; 86 (3): 601–35. DOI: 10.1016/j.suc.2006.03.005.
2. Waselenko JK, MacVittie TJ, Blakely WF, Pesik N, Wiley AL, Dickerson WE, et al. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the strategic National Stockpile Radiation Working Group. *Annals of Internal Medicine*. 2004; 140 (12): 1037–14. DOI: 10.7326/0003-4819-140-12-200406150-00015.
3. Iddins CJ, Davis JE, Goans RE, Case C. Radiological and nuclear terrorism. *Oncologic Emergency Medicine*. 2021; 543–10. DOI: 10.1007/978-3-030-67123-5\_42.
4. Baranov AE. Ostraya lucheivaya bolezn': biologicheskaya dozimetriya, rannaya diagnostika i lechenie, ishody i otdalennye posledstviya. V knige: Barabanova AV, Baranov AE, Bushmanov AYu, Gus'kova AK. Radiacionnye porazheniya cheloveka. Izbrannye klinicheskie lekci, metodicheskoe posobie. M.: Slovo, 2007; 53–31. Russian.
5. Solovev VYu, Samojlov AS, Lebedev AO, Sedankin MK, Gudkov EA. Ispol'zovanie informacii o vremeni razvitiya rvoty pri pervichnoj sortirovke postradavshih v radiacionnyh avariyah. Mediko-biologicheskie i social'no-psihologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychajnyh situacijah. 2021; (1): 14–7. DOI: 10.25016/2541-7487-2021-0-1-14-21. Russian.
6. Solovev VYu, Krasnyuk VI, Fatkina SS. Baza dannyh po ostrym lucheivym porazheniyam cheloveka. Soobshhenie 4. Zakonomernosti formirovaniya pervichnoj reakcii pri otnositel'no ravnomernom avarijnomo obluchenii. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2014; 59 (4): 32–8. Russian.
7. Fliedner TM, Friesecke I, Beyrer K, editors. Medical management

- of radiation accidents: manual on the acute radiation syndrome. British Inst of Radiology. 2001; 65.
8. Andrews GA, Auxier JA, Lushbaugh CC. The Importance of dosimetry to the medical management of persons accidentally exposed to high levels of radiation. In: Personnel dosimetry for radiation accidents. Proceedings of an International Atomic Energy Agency symposium. Vienna: International Atomic Energy Agency. 1965; 3–16
  9. Lebedev AO, Samojlov AS, Solovyov VYu, Baranova NN, Gudkov EA. Osobennosti ispol'zovaniya limfocitarnogo testa dlya prognozirovaniya stepeni tyazhesti ostrogo lucheвого porazheniya. *Medicina katastrof*. 2021; (3): 29–4. DOI: 10.33266/2070-1004-2021-3-29-33. Russian.
  10. Goans RE, Holloway EC, Berger ME, Ricks RC. Early Dose Assessment Following Severe Radiation Accidents. *Health Physics*. 1997; 72 (4): 513–8.
  11. Parker DD, Parker JC. Estimating radiation dose from time to emesis and lymphocyte depletion. *Health Physics*. 2007; 93 (6): 701–4. DOI: 10.1097/01.HP.0000275289.45882.29.
  12. Obshhie procedury medicinskogo reagirovaniya pri yadernoj ili radiologicheskoj avarijnoj situacii. Seriya «Avarijnaya gotovnost' i reagirovanie», IAEA-EPR-MEDICAL. Vena: MAGATEh, 2009; 327 c.
  13. Samoilov AS, Soloviev VYu, editors. ATLAS. Acute radiation syndrome. M.: SRC-FMBC, 2019; 232.
  14. Obrador E, Salvador-Palmer R, Villaescusa JI, Gallego E, Pellicer B, Estrela JM, Montoro A. Nuclear and Radiological Emergencies: Biological Effects, Countermeasures and Biodosimetry. *Antioxidants*. 2022; 11 (6): 1098–51. DOI: 10.3390/antiox11061098.
  15. Hu S, Blakely WF, Cucinotta FA. HEMODOSE: a biodosimetry tool based on multi-type blood cell counts. *Health physics*. 2015; 109 (1): 54–68. DOI: 10.1097/HP.00000000000029568.

## ОСОБЕННОСТИ АНАЛИЗА ЭЭГ-МИКРОСОСТОЯНИЙ ПРИ ПОСТИНСУЛЬТНОЙ АФАЗИИ

С. А. Гуляев<sup>1,2</sup> ✉, Л. М. Ханухова<sup>2</sup>, А. А. Гармаш<sup>1</sup><sup>1</sup> Инженерно-физический институт биомедицины Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Москва, Россия<sup>2</sup> Общество с ограниченной ответственностью «Клиника Ла Салюте», Москва, Россия

Знания о специфичности изменений активности нейронных сетей, связанных с реализацией мыслительного процесса, могут быть использованы в построении систем персонализированной медицинской реабилитации. Особый интерес данный подход представляет для лиц, потерявших речевую функцию в результате развития церебрального инсульта, так как развитие афазии с потерей речевой коммуникации приводит к выраженной социальной дезадаптации, ухудшающей прогноз заболевания. Целью исследования было определить функциональную активность отдельных нейронных сетей, основываясь на теории комбинированной технологии определения ЭЭГ-микросостояний с методикой определения пространственной локализации с помощью решения обратной задачи ЭЭГ у 27 человек (15 мужчин и 12 женщин) со средним возрастом — 52 года, с нарушением речевой функции вследствие развития острого атеротромботического инсульта. Для всех обследованных был осуществлен математический анализ многоканальной записи скальповой биоэлектрической активности с системы выделения модели ЭЭГ-микросостояний с решением обратной задачи ЭЭГ для каждого из них в изменяемых внешних условиях, вызванных проведением слухо-речевой нагрузки. Обнаружено, что развитие речевых нарушений зависит не только от самого факта повреждения мозговых структур, но и от выраженной функциональной перестройки как отдельных нейронных сетей, вовлеченных в реализацию мозговой функции, так и всего речевого коннектома. Наиболее благоприятным вариантом афазий, вероятно, можно считать заболевание с преобладанием моторных нарушений, демонстрировавшее возможность передачи функций на префронтальные структуры интактного полушария, в то время как сенсорные нарушения представляли глобальные изменения всего речевого коннектома.

**Ключевые слова:** электроэнцефалография, речевая функция, мозговые ритмы, диагностика, реабилитация, мозговой инсульт, афазия**Вклад авторов:** все авторы внесли равнозначный вклад в данное исследование.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено на основании договора ИФИБ НИЯУ МИФИ и ООО «Клиника Ла Салюте» (протокол № 09-01/23 от 09 января 2023 г.) и этическим комитетом НИЯУ МИФИ (протокол от 25 мая 2023 г.), проведено в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях.✉ **Для корреспонденции:** Сергей Александрович Гуляев  
Раменки, д. 31, к. 136, г. Москва, 119607, Россия; s.gulyaev73@gmail.com**Статья получена:** 20.06.2023 **Статья принята к печати:** 22.07.2023 **Опубликована онлайн:** 13.08.2023**DOI:** 10.47183/mes.2023.025

## FEATURES OF EEG MICROSTATE ANALYSIS IN POST-STROKE APHASIA

Gulyaev SA<sup>1,2</sup> ✉, Khanukhova LM<sup>2</sup>, Garmash AA<sup>1</sup><sup>1</sup> Institute for Physics and Engineering in Biomedicine, National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia<sup>2</sup> La Salute Clinic, Moscow, Russia

Knowledge about the specificity of changes in the activity of neural networks associated with realization of thought processes can be used to construct the personalized medical rehabilitation systems. This approach is of particular interest for people with the speech function disturbance due to stroke, since the development of aphasia with the loss of speech leads to severe social maladaptation that worsens the disease outcome. The study was aimed to assess the functional activity of individual neural networks based on the theory of combining the EEG microstate identification technique with the method of determining spatial localization by solving the EEG inverse problem in 27 individuals (15 males and 12 females) with an average age of 52 years, who had speech impairment due to acute atherothrombotic stroke. Mathematical analysis of the scalp bioelectrical activity multichannel recording from the system for EEG microstate model isolation was carried out under changing environmental conditions caused by the auditory-speech load together with the EEG inverse problem solution for each subject. It was found that the speech disorder development depends not only on the fact of damage to brain structures, but also on the deep functional restructuring of both neural streams involved in implementation of brain function and the entire speech connectome. The disease with a predominant motor disorder, that has shown the possibility of transferring functions to the intact hemisphere prefrontal structures, in contrast to sensory disorders representing global changes in the entire speech connectome, can probably be considered the most favorable variant of aphasia.

**Keywords:** electroencephalography, speech function, brain rhythms, diagnostics, rehabilitation, cerebral stroke, aphasia**Author contributions:** the authors contributed equally to the study.**Compliance with ethical standards:** the study was approved based on the contract between the National Research Nuclear University MEPhI and La Salute Clinic (protocol № 09-01/23 of 09 January 2023), approved by the ethics committee of the National Research Nuclear University MEPhI (protocol of 25 May 2023), and conducted in accordance with the principles of biomedical ethics 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, Russia; s.gulyaev73@gmail.com**Received:** 20.06.2023 **Accepted:** 22.07.2023 **Published online:** 13.08.2023**DOI:** 10.47183/mes.2023.025

Речь — высшая когнитивная функция, тесно связанная с интеграцией человека в социум, поэтому ее нарушение, особенно вследствие развития инфаркта речевых зон, является одним из тяжелых состояний, приводящих к выраженной социальной дезадаптации и соответственно ухудшающих прогноз восстановительных мероприятий.

Первые исследования постинсультной афазии в работах П. Брока и К. Вернике, открыли главные

речевые центры человеческого мозга и положили начало объективной диагностике этого нарушения [1, 2]. В 1980-е гг. на основании новых данных, полученных с помощью активно развивающихся технологий магнитно-резонансной нейровизуализации, было разработано учение о двухпоточковой модели, лежащей в основе функционального речевого коннектома, позволившее дать объективную оценку многообразию постинсультных

афатических расстройств и объяснить особенности реабилитации речевой функции в постинсультном периоде [3]. Именно данная теория вызвала интерес к наблюдениям за вовлеченностью префронтальных корковых структур субдоминантного полушария в процесс восстановления речевой функции [4, 5], что позволило группе европейских экспертов рекомендовать применение нейростимуляции этих областей как одной из реабилитационных методик, направленных на восстановление функции речи в постинсультном периоде [6].

Тем не менее, определение индивидуальных особенностей организации речи в настоящее время представляет собой сложную технологическую задачу, связанную с особенностями современной медицинской аппаратуры. Широко используемый метод функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) показывает изменение потребления кислорода нервной тканью, которое является следствием нарастания активности обменных процессов при ее возбуждении, что приводит к формированию выраженной временной задержки, не позволяющей зарегистрировать характеристики процессов передачи информации между различными нервными центрами, ответственными за реализацию речевой функции.

Этот факт приобретает особое значение в условиях реабилитации постинсультных речевых нарушений [7], так как пациентоориентированный подход к восстановлению утраченной функции более результативен, чем использование стандартизированных и формализованных технологий.

Выявлять быстропротекающие процессы нервного возбуждения позволяет регистрация активности синаптических связей, составляющих основу методов электроэнцефалографии (ЭЭГ) или магнитоэнцефалографии (МЭГ). Однако системы МЭГ еще недостаточно распространены и практически отсутствуют в клинических учреждениях. К тому же существующая на сегодняшний день технология ЭЭГ, базирующаяся на принципах, предложенных Г. Джаспером в 1940–1954 гг. [8], имеет существенные технологические ограничения, затрудняющие оценку активности отдельных мозговых структур. Эти ограничения связаны с технологией визуально-феноменологического анализа, не позволяющего получить сравнимую с методами нейровизуализации информацию о связи регистрируемой активности со структурными образованиями головного мозга, поскольку оперирует исключительно суммарными величинами активности большого количества нервных образований.

Тем не менее, одним из решений данной проблемы представляется теория ЭЭГ-микросостояний. В 1998 г. D. Lehmann, выделяя отдельные варианты суммарного поверхностного потенциала головы, пришел к выводу, что электрическая активность мозга, выявляемая с помощью рутинной ЭЭГ, может быть представлена повторяющейся последовательностью отдельных и фиксированных во времени паттернов распределения биопотенциалов на скальповой поверхности головы, которые связаны с активностью определенного конечного количества нейронных сетей, продуцирующих ритмическую активность в ограниченном временном промежутке [9, 10]. Был также сделан вывод, что длительность отдельного микросостояния можно интерпретировать как отражение сохранности и стабильности функционирования лежащей в его основе нейронной сборки, а частоту регистрации — как активность (активацию) лежащих в его основе нейронных генераторов

во время выполнения отдельной мозговой функции. Дальнейшее исследование этого феномена показало, что четыре наиболее репрезентативные конфигурации относятся к отдельным классам микросостояний ЭЭГ А, В, С и D и связаны с активностью структур пассивной работы мозга, а изменения внешних вербальных условий влияют на продолжительность, возникновение и охват микросостояний за счет вовлечения других нейронных пулов, связанных с реализацией общей мозговой функции [11, 12].

Последующие исследования подтвердили, что измерения ЭЭГ-микросостояний чувствительны к изменениям нервной активности в областях коры, отвечающих за модально-специфическую обработку с помощью отдельных задач (эффекты состояния) [13]. Изучение внутрисубъектных и межсубъектных отношений между особенностями микросостояния у 29 здоровых испытуемых показало, что динамика микросостояний может отражать переходы между глобальными состояниями, характеризующимися избирательным торможением определенных внутрикортикальных областей и оказывать функциональное и поведенческое влияние на сенсорную обработку и когнитивные функции [14]. В 2021 г. использование сходной технологии у испытуемых, находящихся в состоянии спокойного расслабленного бодрствования, позволило сделать вывод, что мозг преимущественно консолидирует воспоминания в периоды «офлайн», когда человек не выполняет задачу и его внимание не направлено на выполнение конкретной задачи [15].

Вышеперечисленные работы позволяют сформировать идею применения модели ЭЭГ-микросостояний как инструмента, помогающего выделить отдельные составляющие общей непрерывной ЭЭГ-записи, связанные с функциональной активностью отдельных нейронных групп. Однако определение пространственной связи отдельных ЭЭГ-микросостояний с формирующими их анатомическими структурами по-прежнему оставалось нерешенным вопросом.

В 1994–1997 гг. была предложена система решения обратной ЭЭГ-задачи на основе технологии совмещения дипольной локализации и послойной модели головы, получившая наименование электромагнитной томографии низкого разрешения (LORETA) и решавшая проблему корковой локализации источника ЭЭГ-сигнала. С 1999 г. к методологии была добавлена количественная нейроанатомия на основе оцифрованного атласа Talairach, предоставленного Центром визуализации мозга Монреальского неврологического института (MNI). Сочетание этих разработок поставило LORETA на уровень, сравнимый с классическими методами функциональной визуализации, такими как ПЭТ и фМРТ [12, 16]. В 2008 г. было показано, что для локализации одного источника LORETA дает наилучшее решение с точки зрения как ошибки локализации нулевой точки, так и ложных источников в сравнении с другими программными продуктами, использующими сходные технологии решения обратной ЭЭГ-задачи [17]. В 2014 г. симультанные исследования фМРТ-ЭЭГ для определения взаимосвязи между активностью нейронных сетей покоя (DMN) и мощностью частотных диапазонов ЭЭГ привели к выводу, что технология LORETA, использованная для определения мощности ЭЭГ для альфа-, бета-, дельта- и тета-диапазонов в интересующей области, помогает выявить тесную связь между спонтанными



BOLD-флуктуациями в сетях пассивной работы мозга и различными ЭЭГ-ритмами и приводит к выводу о том, что отдельная нейронная сеть характеризуется специфической «электрофизиологической подписью», созданной комбинацией различных мозговых ритмов [18]. Однако еще в 2010 г. были отмечены различия в организации стимуляционных парадигм, используемых для экспериментов с ЭЭГ и фМРТ, и возник вопрос, можно ли надежно локализовать вызванную стимулом активность ЭЭГ, используя непрерывно меняющуюся интенсивность признаков, возникающих в естественных стимулах, представленных в течение относительно длительных периодов времени. В частности, будут ли аспекты, управляемого стимулом ЭЭГ-сигнала, локализоваться совместно с соответствующим BOLD-сигналом фМРТ [19]. В настоящее время реконструкция источников ЭЭГ включает в себя процесс, в котором наилучших результатов возможно добиться с помощью использования условных функциональных моделей [20] наподобие технологии, предложенной еще в 2014 г. [21], где количество условных нейронных сетей, принимающих участие в реализации исследуемой функции, будет сравнимо с количеством и активностью определяемых в ЭЭГ-исследовании микросостояний.

Таким образом, современное развитие технологий ЭЭГ-анализа позволяет в настоящее время получить новый инструмент исследования функциональной активности корковых структур головного мозга, который можно с успехом использовать для оценки состояния высших нейронных функций, таких как речь, и определять возможности ее восстановления у людей с разными формами ее нарушений, развившихся вследствие заболевания [22, 23].

Целью исследования было определение функциональной активности отдельных нейронных сетей, построенное на теории комбинированной технологии определения ЭЭГ-микросостояний с методикой определения пространственной локализации с помощью решения обратной задачи ЭЭГ у лиц с нарушением речевой функции вследствие развития острого нарушения мозгового кровообращения.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Было проведено исследование 27 человек (15 мужчин и 12 женщин), обратившихся в медицинскую клинику La-Salute, для проведения лечебно-реабилитационных мероприятий вследствие перенесенного ишемического (атеротромботического) инсульта в бассейне левой средней мозговой артерии, повлекшего развитие стойкого неврологического дефицита (мозгового инсульта), одним из синдромов которого была афазия. Критерии включения в исследование: русскоговорящие пациенты с доминантным левым полушарием, что подтверждалось развитием постинсультной афазии; отсутствие до заболевания проблем с речевой продукцией.

Критерии исключения из группы наблюдения: наличие черепно-мозговой травмы с наличием функциональных нарушений, психических заболеваний; прием на постоянной основе психоактивных веществ как текущий, так и в анамнезе; наличие верифицированного диагноза «эпилепсия»; дизартрия вследствие неврологических заболеваний.

В результате в группу наблюдения вошли лица, средний возраст которых составлял 52 года (минимум — 21 год,

максимум — 68 лет; Мо — 49 лет, Ме — 54 года; 1-й квартиль — 46 лет, 3-й квартиль — 61 год). У всех учитывался как сам факт повреждения речевого коннектома, так и развитие самого речевого нарушения с преобладанием моторного, сенсорного или тотального (смешанного) речевых нарушений (моторного варианта нарушений — у 11 обследованных, сенсорного — у 9 и у 7 не удавалось выявить доминирующий тип афатических расстройств). Эпилептических припадков у обследованных пациентов не зафиксировано, специфическая эпилептиформная активность в зонах, перифокальных очагу инфаркта мозга, не регистрировалась. Общая степень функциональных нарушений по шкале Рэнкина у всех обратившихся была не более 3.

Каждому участнику проводили ЭЭГ как в состоянии относительного покоя (состояние пассивного расслабленного бодрствования без слуховой нагрузки), так и под нагрузкой (прослушивание короткого рассказа в пассивном расслабленном состоянии с закрытыми глазами). Всего было проведено 54 исследования, данные которых подвергали последующему анализу.

## Характеристика используемых методов

Проведенное МРТ исследование с использованием протоколов T-1, T2-изображений, режимов с подавлением и диффузией позволило обнаружить, что объем очага поражения составил в среднем 82 см<sup>3</sup> (Ме — 30,8; 1-й квартиль — 1, 3-й квартиль — 176). Запись ЭЭГ проводили в затемненной комнате с относительной звукоизоляцией, в состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами. Регистрацию проводили с помощью 52-канальной ЭЭГ-системы («Медицинские компьютерные системы», г. Зеленоград, Россия). Частота дискретизации аналого-цифрового преобразователя составляла 500 Гц. Исследования проводили в монтаже с усредненным референтом, позволяющим получить равные величины регистрируемого напряжения и величины скальпового биопотенциала. Полоса пропускания нативного сигнала составляла от 0,5 до 70 Гц с включением режекторного сетевого фильтра 50 Гц.

В течение первой минуты после подключения добровольца к прибору запись не производили для подавления физиологической артефактной активности, связанной с дезадаптацией и необходимостью привыкания к исследованию. Общее сопротивление электродов — импеданс контролировали в пределах значений 10 кОм, постоянно проверяли в ходе всего исследования согласно рекомендациям фирмы-производителя.

Нагрузочная проба включала исследование в условиях слуховой нагрузки в виде прослушивания одного (единого для всех испытуемых) короткого рассказа на родном (русском) языке, полученного из онлайн-библиотеки свободного доступа. Это позволяло получить условия измененного состояния, сравнимые с состоянием пассивного расслабленного бодрствования по общим характеристикам, но определяющиеся активацией только одной когнитивной функции (в данном случае — речевой) с относительно известной архитектурой коркового анализатора [24].

Проба с прослушиванием была выбрана, с одной стороны, вследствие минимизации мышечной активности, а с другой, в качестве пробы, способной активировать максимальное количество речевых центров, включающих как центры речевого гнозиса, так и центры, отвечающие за формирование внутренней речи.

Таблица 1. Регистрация частотных характеристик ЭЭГ-активности над областями главных речевых центров

Преобладание моторных нарушений				
	Частота колебаний Брока (поля 44,45 слева)	Частота колебаний Вернике (поля 39,40 слева)	Частота колебаний префронтальной коры интактного полушария (поля 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 24, 25, 32, 44, 45, 46 и 47)	
Среднее	0	15,6 ± 6,5	19,3 ± 1,9	*
Преобладание сенсорных нарушений				
	Частота колебаний Брока (поля 44,45 слева)	Частота колебаний Вернике (поля 39,40 слева)	Частота колебаний префронтальной коры интактного полушария (поля 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 24, 25, 32, 44, 45, 46 и 47)	
Среднее	17,0 ± 1,2	0	0	*
Тотальный (смешанный) вариант				
	Частота колебаний Брока (поля 44,45 слева)	Частота колебаний Вернике (поля 39,40 слева)	Частота колебаний префронтальной коры интактного полушария (поля 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 24, 25, 32, 44, 45, 46 и 47)	
Среднее	13,5 ± 2,5	16,3 ± 2,9	18,0 ± 4,6	**

Примечание: (ANOVA-test), \* —  $p < 0,001$ ; \*\* —  $p > 0,05$ .

Последующие получение, обработку и анализ результатов проводили в несколько этапов. На первом этапе осуществляли минимизацию артефактных сигналов, для чего отключали сторонние электрические приборы, создающие паразитные электромагнитные поля, контролировали импеданс интерфейса, регулировали температуру в помещении, минимизировали паразитные движения мышц. На втором этапе полученный пул данных проходил процедуру стандартизации базового монтажа в единое электродное пространство с удалением артефактных сигналов посредством процедуры выделения независимых компонент сигнала, что позволяло очистить нативный сигнал от различных артефактов физиологической природы, не устраненных методом фильтрации. На третьем этапе проводили сегментацию ЭЭГ-сигнала с выделением отдельных ЭЭГ-микросостояний посредством процедуры кластеризации с выделением шести классов отдельных микросостояний (канонических ABCD и двух дополнительных (I и II) с учетом вариативности классов 5 и 6). Заключительный этап исследования включал анализ локализации источника активности каждого из выделенных классов ЭЭГ-микросостояний с помощью алгоритма решения обратной задачи ЭЭГ, реализованных в пакете прикладных программ sLORETA, версия. 20210701 (University of Zurich; Швейцария).

Результаты представляли информацию шести отдельных классов ЭЭГ-микросостояний, с учетом следующих показателей: 1) времени жизни микросостояния (duration) в секундах; 2) частоты его регистрации в 1 с (occurrence); 3) объема вклада ЭЭГ-микросостояния в структуру

спектральной характеристики общей энергии скальпового поля (coverage); 4) локализации основной корковой структуры, формирующей ЭЭГ-микросостояние, согласно атласу полей К. Бродмана (по атласу Монреальского института нейрохирургии, MNI).

Статистическую обработку полученных результатов проводили согласно рекомендациям, опубликованным ранее [25], с применением программы GNU-PSPP (версия GNU pspp 1.6.2-g78a33a) под управлением ОС Linux Mate версия 10.10. Использовали тест оценки нормальности распределения Шапиро–Уилка, корреляционный анализ Пирсона, дисперсионный (ANOVA) анализ с поправками Бонферрони для малого количества наблюдений несвязанных выборок. В случаях взаимосвязанных выборок с нормальным распределением использовали  $t$ -тест Стьюдента. Во всех расчетах использовали одну степень свободы, уровень доказательности был принят как альфа  $< 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Изменения частотных характеристик ЭЭГ-сигнала над основными речевыми центрами

Полученные результаты локализации изменения ритмической активности над областями главных речевых центров, определяемых с помощью пространственной фиксации положения ЭЭГ-электродов, соответствовали характеристикам анатомического поражения, и диагнозу обследуемого и результатам МРТ-исследования (табл. 1). ЭЭГ-исследование с применением технологии выделения

Таблица 2. Изменение характеристик ЭЭГ-микросостояний относительно их вклада в формирование общего биоэлектрического поля головы

Ведущий синдром	Класс/проба	A	B	C	D	I	II
Моторный	Нагрузка	0,04	0,06	0,02	0,05	0,06	0,07
	Без нагрузки	0,16	0,11	0,12	0,2	0,17	0,24
	$p$	*	**	*	**	*	*
Сенсорный	Нагрузка	0,22	0,26	0,05	0,21	0,14	0,12
	Без нагрузки	0,19	0,11	0,12	0,1	0,37	0,11
	$p$	**	*	**	*	**	**
Тотальный (смешанный)	Нагрузка	0,18	0,17	0,09	0,05	0,09	0,43
	Без нагрузки	0,23	0,13	0,26	0,11	0,09	0,18
	$p$	**	**	*	**	**	**

Примечание:  $t$ -test, \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p > 0,05$ .

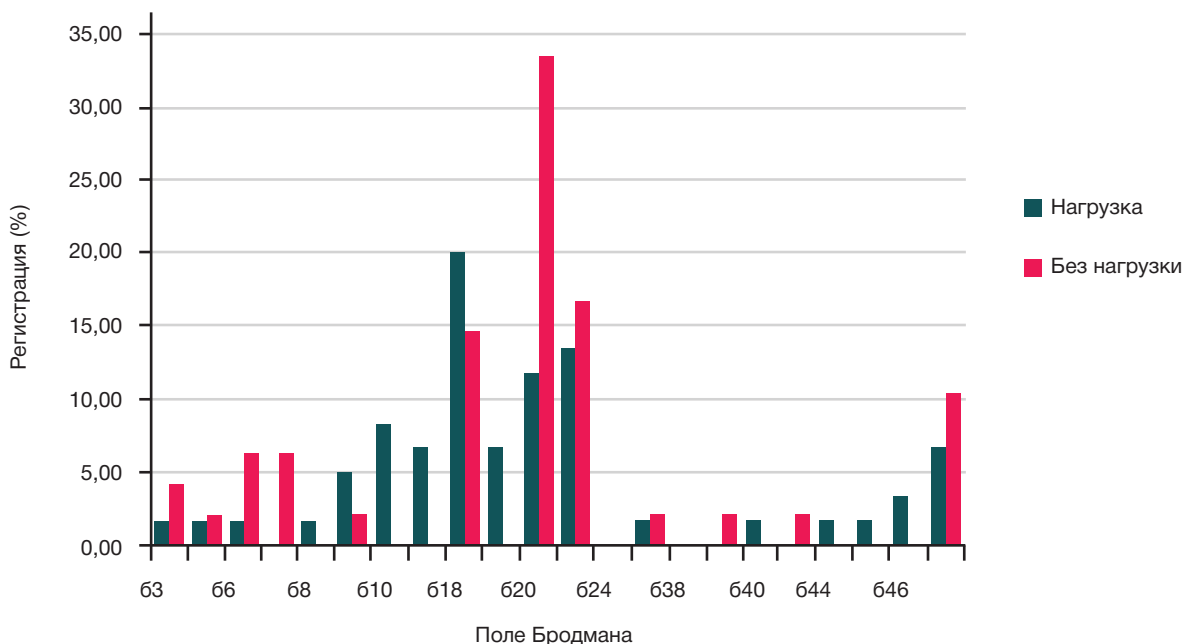


Рис. 1. Гистограмма ЭЭГ-активности (в %) отдельных полей Бродмана в случаях преобладания моторного варианта афатических расстройств  $p < 0,05$  (тест Пирсона)

отдельных ЭЭГ-микросостояний, объединенной с решением обратной задачи ЭЭГ, показало, что при выраженных анатомических дефектах над пораженной областью не удавалось зарегистрировать ритмические феномены, поскольку ее нейронная сеть была разрушена, а ритмические феномены, в частности медленных диапазонов, редуцировались окружающими первичный очаг тканями. В то же время, в случае анатомического разрушения области Брока доминантного полушария (поля 44, 45), ожидаемые изменения ритмической активности регистрировались в структурах префронтальной коры интактного полушария. Данную активность наблюдали в том же частотном диапазоне (17–24 Гц), и она демонстрировала проявления реакции активации на слухоречевую нагрузку (рис. 1), но, как было показано выше, возникала практически диффузно по всем структурам префронтальной коры интактного полушария (поля 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 24, 25, 32, 44, 45, 46 и 47).

Поражение области Вернике с разрушением сенсорных полей (39, 40) не позволяло выявить реакции ритмических феноменов ни над областью Вернике (рис. 2), что было ожидаемым для факта разрушения нейронной сети этой области, ни над структурами интактного полушария. Ритмические ЭЭГ-феномены наблюдали только над областью Брока, однако реакция активации на слухоречевую нагрузку отсутствовала.

При тотальном (смешанном варианте нарушений) ритмические феномены появлялись в пораженном полушарии как над областью Брока, так и над областью Вернике (рис. 3), но эти наблюдения характеризовались низкой статистической достоверностью (ANOVA-тест  $> 0,05$ ), что позволяло предположить неполное повреждение обоих основных речевых центров. Однако низкая статистическая достоверность, вероятно, была следствием ограничения возможностей как используемой технологии, так и относительно малого количества наблюдений.

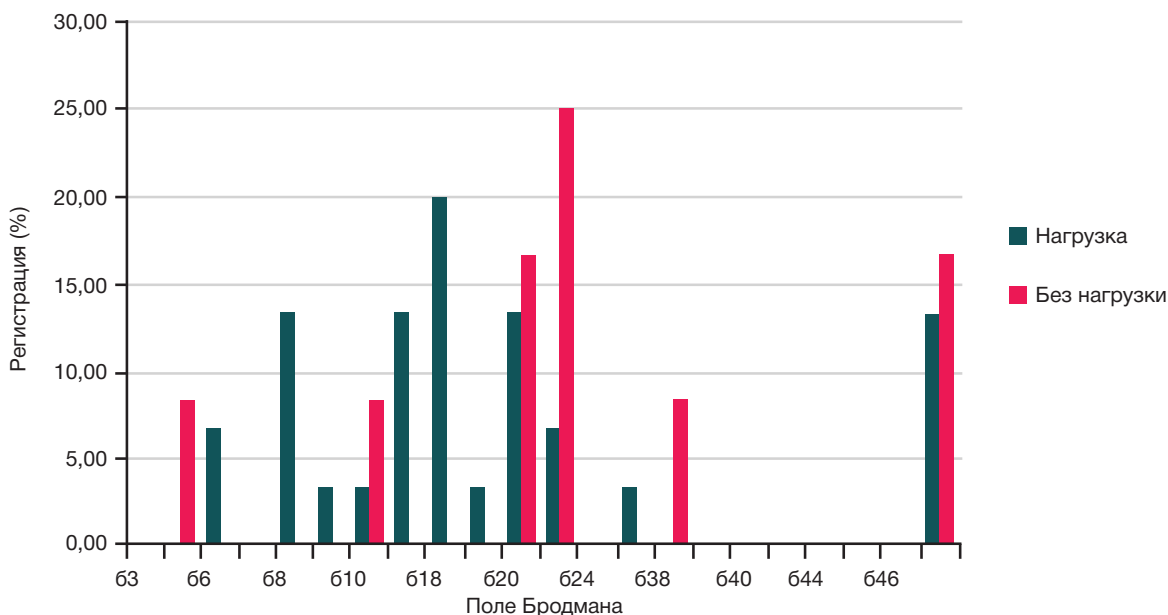


Рис. 2. Гистограмма ЭЭГ-активности (в %) отдельных полей Бродмана в случаях преобладания сенсорного варианта афатических расстройств  $p < 0,05$  (тест Пирсона)

Таблица 3. Изменение характеристик ЭЭГ-микросостояний относительно частоты их регистрации в 1 с

Ведущий с-м	Класс/проба	A	B	C	D	I	II
Моторный	Нагрузка	3,2	3,4	1,9	1	2,4	3,3
	Без нагрузки	2,3	1,9	3	3	4,4	3,1
	<i>p</i>	**	**	**	**	**	**
Сенсорный	Нагрузка	4,3	4,7	1	5,8	4,3	2,3
	Без нагрузки	30,2	15,7	19,6	18,6	30,2	20,8
	<i>p</i>	*	*	*	*	*	*
Тотальный (смешанный)	Нагрузка	2,5	1,8	2,2	1,3	2,8	5,3
	Без нагрузки	36,8	46,7	50,3	44,5	33,8	26,5
	<i>p</i>	*	**	*	**	*	**

Примечание: t-test, \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p > 0,05$

### Характеристика отдельных ЭЭГ-микросостояний

Анализ характеристик ЭЭГ-микросостояний в условиях слухо-речевой нагрузки позволил выявить, что у лиц с преобладанием моторного компонента афазии их характеристики демонстрировали достоверные статистические различия ( $p < 0,05$ ) в показателях их вклада в общий потенциал поверхности головы (кроме классов В и D). В то же время данный показатель в условиях сенсорной афазии наоборот демонстрировал достоверную реакцию на нагрузку. В случае тотальной афазии достоверные изменения регистрировались только в классе С (табл. 2–4), что расценивалось как проявление структурного поражения не только отдельных нейронных сборок, но и нарушения обработки информации, преобладавшего в случаях сенсорной афазии.

Показатели частоты встречаемости и длительности отдельных ЭЭГ-микросостояний при моторных нарушениях не выявили статистически достоверной реакции на нагрузочный тест, однако у лиц с преобладанием сенсорных и тотальных нарушений регистрировались достоверные изменения этих характеристик, особенно в случае сенсорных нарушений (практически по всем определяемым классам), а для лиц с тотальными проявлениями — для классов А и I.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интерпретация полученных результатов требует дальнейшего обсуждения. Так, разделение общей

непрерывной ЭЭГ-записи на последовательность отдельных ЭЭГ-микросостояний позволяет исследователю рассматривать не только общие характеристики суммарной постсинаптической активности, но и выделять ее отдельные компоненты, связанные с работой отдельных нейральных структур, что позволяет создать доступную систему нейрофизиологической диагностики отдельных мозговых функций, в частности — речевой [26].

Результаты исследования, полученные в результате проведения функциональной нагрузочной пробы с прослушиванием, различаются для разных вариантов афатических нарушений особенностями как самой природы ритмических феноменов, регистрируемых на поверхности кожи головы, так и их пространственной локализацией, что может быть интерпретировано с позиции последовательного участия различных нейронных сетей в реализации речевой функции [13].

Развитие речевых нарушений, возникающих вследствие церебрального инсульта, обусловлено не только фактом инфаркта различных мозговых структур [7], но и функциональной перестройкой системы нейронных сетей, что отражается в изменении характеристик ЭЭГ-микросостояний [14], которые могут стать ключевыми факторами объективной оценки как функционального состояния речевой функции, так и ее изменений, возникших вследствие развития патологического процесса, что подтверждалось в нашем исследовании изменениями характеристик отдельных ЭЭГ-микросостояний.

Так, в случае преобладания моторных нарушений (при сохранности систем получения слуховой информации),

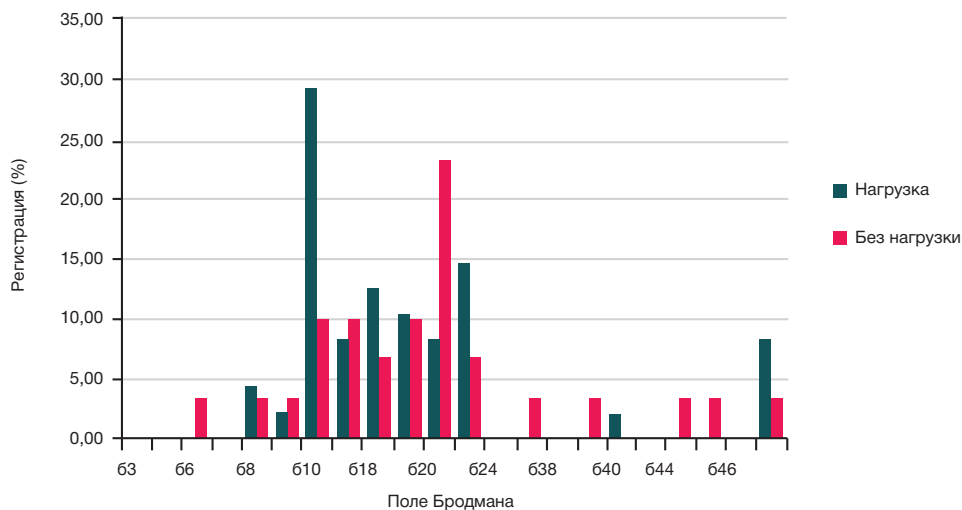


Рис. 3. Гистограмма ЭЭГ-активности (в %) отдельных полей Бродмана в случаях преобладания тотального (смешанного) варианта афатических расстройств  $p < 0,05$  (тест Пирсона)

Таблица 4. Изменение характеристик ЭЭГ-микросостояний относительно их продолжительности в 1 с

Ведущий с-м	Класс/проба	A	B	C	D	I	II
Моторный	Нагрузка	0,04	0,06	0,02	0,05	0,06	0,07
	Без нагрузки	0,05	0,04	0,03	0,05	0,04	0,07
	<i>p</i>	**	**	**	**	**	**
Сенсорный	Нагрузка	0,05	0,06	0,04	0,04	0,03	0,04
	Без нагрузки	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	<i>p</i>	**	*	**	*	**	**
Тотальный (смешанный)	Нагрузка	0,06	0,08	0,05	0,04	0,03	0,1
	Без нагрузки	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02
	<i>p</i>	*	*	**	**	*	**

Примечание: *t*-test, \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p > 0,05$ .

вероятно, регистрировалось делегирование функции речепродукции от пораженного центра Брока (поля 44 и 45) на префронтальную область коры интактного полушария, что проявляется общей реакцией, наблюдаемой над всей ее поверхностью, а не только в ограниченных областях сформированных нейронных центров.

При сенсорном варианте афазии изменения биоэлектрической активности не только не показывали вариантов делегирования пораженной функции на контрлатеральное (интактное полушарие), что проявлялось отсутствием выявления специфических ритмических феноменов, но и демонстрировало нарушение последовательности ЭЭГ-микросостояний в классах C и D, связываемое со структурами третичной обработки информации в третичных областях (полях Бродмана 6 и 7) [24, 27]. В связи с этим сенсорный вариант афазии можно было характеризовать не только как более глубокое нарушение работы отдельных мозговых сетей, но и как более выраженное повреждение всей системы речевого коннектома, затрагивающее как область вентрального потока, ответственного за получение информации, так и латеральную его часть, ответственную за ее переработку и осмысление. В то же время при тотальных вариантах афазии изменения были менее выраженными и при анализе ЭЭГ-микросостояний демонстрировали преимущественное поражение структур вентрального речевого потока с сохранением третичных областей, ответственных за конструктивный анализ [28].

Во всех случаях афазии особенно интересным нам показалось повышение активности над 47-м и соответственно 37-м полями Бродмана, максимально представленными при преобладании сенсорного компонента афатических расстройств. Их активность позволяет предположить включение филогенетически более древних механизмов слухотонального восприятия, присутствующих у детей в возрасте 2–5 лет и высших приматов. Это позволяет сделать предположение о возможности замещения обычной системы фонем-морфем, речевой функции на систему аудио-тонального восприятия и тоно-музыкального (звукоподражательного воспроизведения), что отмечалось в ряде работ, посвященных реабилитации феральных детей и детей с расстройствами аутистического спектра, не сформировавших стандартную человеческую речевую систему [29, 30].

### Ограничения исследования

Ограничения выполненного исследования связаны с относительно небольшим количеством наблюдений (27 человек), что вынуждало использовать статистические поправки при проведении расчетов, а также с особенностями применяемой ЭЭГ-технологии, связанными со скальповым расположением электродов. Применение ЭЭГ-монтажа средней плотности записи (по схеме «10–10») не представляло значимых ограничений по сравнению с использованием схемы «10–5» или иных уникальных систем ЭЭГ-записи высокой плотности, поскольку позволяло получать нативный результат с меньшим количеством неспецифических артефактов физической природы, возникающих в системах высокой плотности записи из-за малого межэлектродного расстояния.

### Выводы

Проведенное исследование показало, что регистрация биоэлектрической активности головного мозга с применением современных вычислительных мощностей и оптимизацией математических методов позволяет регистрировать отдельные биоэлектрические феномены, тесно связанные с реакцией отдельных мозговых структур на предъявленную функциональную нагрузку. Это открывает новые перспективы создания диагностических систем исследования функциональных связей отдельных высших нервных функций. Одним из преимуществ предлагаемой методики в настоящее время является ее экономическая доступность, поскольку современная цифровая ЭЭГ не требует дорогостоящего оборудования и обслуживания со стороны отдельных ремонтно-инженерных групп. К тому же она не требовательна к условиям размещения, что позволяет широко ее внедрять не только в научно-исследовательские учреждения, но и в медицинские организации, оказывающие лечебную и реабилитационную помощь населению. Предлагаемая система обработки биоэлектрической активности головного мозга может стать основой для разработки новых диагностических систем оценки мыслительных процессов человека, что позволит расширить возможности человеческого организма в условиях повышения объемов воспринимаемой информации, а также создать новые подходы к реабилитации высших нервных функций, пораженных в результате развития заболевания.

## Литература

- Broca P. Remarks on the Seat of Spoken Language, Followed by a Case of Aphasia (1861). *Neuropsychology Review*. 2011; 21 (3) 15: 227–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11065-011-9174-x>.
- Wernicke C. Grundriss der Psychiatrie in klinischen Vorlesungen. Theil II, Die paranoischen Zustände. Leipzig: Verlag von Georg Thieme. American Journal of Psychiatry. 1897; 53 (4): 581–3. Available from: <https://doi.org/10.1176/ajp.53.4.581>.
- Mishkin M Ungerleider LG Contribution of striate inputs to the visuospatial functions of parieto-preoccipital cortex in monkeys. *Behav Brain Res*. 1982; 6 (1): 57–77. Available from: [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(82\)90081-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(82)90081-x).
- Sul B, Kim JS, Hong BY, Lee KB, Hwang WS, Kim YK, et al. The Prognosis and Recovery of Aphasia Related to Stroke Lesion. *Ann Rehabil Med*. 2016; 40 (5): 786–93. Available from: <https://doi.org/10.5535/arm.2016.40.5.786>.
- Harvey DY, Podell J, Turkeltaub PE, Faseyitan O, Coslett HB, Hamilton RH. Functional Reorganization of Right Prefrontal Cortex Underlies Sustained Naming Improvements in Chronic Aphasia via Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation. *Cogn Behav Neurol*. 2017; 30 (4): 133–44. Available from: <https://doi.org/10.1097/WNN.0000000000000141>.
- Lefaucheur JP, Antal A, Ayache SS, Benninger DH, Brunelin J, Cogiamanian F, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clin Neurophysiol*. 2017; 128 (1): 56–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.087>.
- Lefaucheur JP, Aleman A, Baeken C, Benninger DH, Brunelin J, Di Lazzaro V, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014–2018). *Clin Neurophysiol*. 2020; 131 (2): 474–528. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.11.002>.
- Пенфильд В., Робертс Л. Речь и мозговые механизмы. М.: Медицина, 1964; 260 с.
- 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. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.11.062>.
- Mishra A, Englitz B, Cohen MX. EEG microstates as a continuous phenomenon. *Neuroimage*. 2020; 208: 116454. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116454>. Epub 2019 Dec 10.
- Milz P, Faber PL, Lehmann D, Koenig T, Kochi K, Pascual-Marqui RD. The functional significance of EEG microstates--Associations with modalities of thinking. *Neuroimage*. 2016; 125: 643–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.08.023>.
- Milz P, Pascual-Marqui RD, Lehmann D, Faber PL. Modalities of Thinking: State and Trait Effects on Cross-Frequency Functional Independent Brain Networks. *Brain Topogr*. 2016; 29 (3): 477–90. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-016-0469-3>.
- Seitzman BA, Abell M, Bartley SC, Erickson MA, Bolbecker AR, Hetrick WP. Cognitive manipulation of brain electric microstates. *Neuroimage*. 2017; 146: 533–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.002>.
- Croce P, Quercia A, Costa S, Zappasodi F. EEG microstates associated with intra- and inter-subject alpha variability. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 2469. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58787-w>.
- Poskanzer C, Denis D, Herrick A, Stickgold R. Using EEG microstates to examine post-encoding quiet rest and subsequent word-pair memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 181: 107424. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107424>.
- Pascual-Marqui RD, Esslen M, Kochi K, Lehmann D. Functional imaging with low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA): a review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2002; 24 Suppl C: 91–5. PMID: 12575492.
- 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>.
- Neuner I, Arrubla J, Werner CJ, Hitz K, Boers F, Kawohl W, et al. The default mode network and EEG regional spectral power: a simultaneous fMRI-EEG study. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e88214. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088214>.
- Whittingstall K, Bartels A, Singh V, Kwon S, Logothetis NK. Integration of EEG source imaging and fMRI during continuous viewing of natural movies. *Magn Reson Imaging*. 2010; 28 (8): 1135–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mri.2010.03.042>.
- Abreu R, Soares JF, Lima AC, Sousa L, Batista S, Castelo-Branco M, et al. Optimizing EEG Source Reconstruction with Concurrent fMRI-Derived Spatial Priors. *Brain Topogr*. 2022; 35 (3): 282–301. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-022-00891-3>. Epub 2022 Feb 10.
- Thatcher RW, North DM, Biver CJ. LORETA EEG phase reset of the default mode network. *Front Hum Neurosci*. 2014; 8: 529. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00529>.
- Gulyaev SA. EEG Microstate Analysis and the EEG Inverse Problem Solution as a Tool for Diagnosing Cognitive Dysfunctions in Individuals Who Have Had a Mild Form of COVID-19. *Hum Physiol*. 2022; 48 (5): 587–597. DOI: 10.1134/S0362119722600217. Epub 2022 Oct 13. PMID: 36258795; PMCID: PMC9559548.
- Gulyaev SA. Neurophysiological Solution of the Inverse Problem of EEG Research at Rest and under Conditions of Auditory-Speech Load. *J Evol Biochem Phys*. 2022; 58: 585–97. Available from: <https://doi.org/10.1134/S0022093022020259>
- Johnson F, Beeke S, Best W. Searching for active ingredients in rehabilitation: applying the taxonomy of behaviour change techniques to a conversation therapy for aphasia. *Disabil Rehabil*. 2021; 43 (18): 2550–60. Available from: <https://doi.org/10.1080/09638288.2019.1703147>.
- Sarter M, Fritschy JM. Reporting statistical methods and statistical results in EJN. *Eur J Neurosci*. 2008; 28 (12): 2363–4. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x>.
- Gulyaev SA, Lelyuk VG. Neurophysiological isolation of individual rhythmic brain activity arising from auditory-speech load. *Brain Netw Modul*. 2023; 2 (2): 47–52. Available from: <https://doi.org/10.4103/2773-2398.379340>.
- Seitzman BA, Abell M, Bartley SC, Erickson MA, Bolbecker AR, Hetrick WP. Cognitive manipulation of brain electric microstates. *Neuroimage*. 2017; 146: 533–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.002>. Epub 2016 Oct 11.
- Poskanzer C, Denis D, Herrick A, Stickgold R. Using EEG microstates to examine post-encoding quiet rest and subsequent word-pair memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 181: 107424. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107424>. Epub 2021 Mar 22.
- Zuk NJ, Murphy JW, Reilly RB, Lalor EC. Envelope reconstruction of speech and music highlights stronger tracking of speech at low frequencies. *PLoS Comput Biol*. 2021; 17 (9): e1009358. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009358>.
- Schoen SA, Lane SJ, Mailloux Z, May-Benson T, Parham LD, Smith Roley S, et al. A systematic review of ayres sensory integration intervention for children with autism. *Autism Res*. 2019; 12 (1): 6–19. DOI: 10.1002/aur.2046. Epub 2018 Dec 12. PMID: 30548827; PMCID: PMC6590432.

## References

- Broca P. Remarks on the Seat of Spoken Language, Followed by a Case of Aphasia (1861). *Neuropsychology Review*. 2011; 21 (3) 15: 227–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11065-011-9174-x>.
- Wernicke C. Grundriss der Psychiatrie in klinischen Vorlesungen. Theil II, Die paranoischen Zustände. Leipzig: Verlag von Georg Thieme. *American Journal of Psychiatry*. 1897; 53 (4): 581–3. Available from: <https://doi.org/10.1176/ajp.53.4.581>.
- Mishkin M Ungerleider LG Contribution of striate inputs to the visuospatial functions of parieto-preoccipital cortex in monkeys. *Behav Brain Res*. 1982; 6 (1): 57–77. Available from: [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(82\)90081-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(82)90081-x).
- Sul B, Kim JS, Hong BY, Lee KB, Hwang WS, Kim YK, et al. The Prognosis and Recovery of Aphasia Related to Stroke Lesion. *Ann Rehabil Med*. 2016; 40 (5): 786–93. Available from: <https://doi.org/10.5535/arm.2016.40.5.786>.
- Harvey DY, Podell J, Turkeltaub PE, Faseyitan O, Coslett HB, Hamilton RH. Functional Reorganization of Right Prefrontal Cortex Underlies Sustained Naming Improvements in Chronic Aphasia via Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation. *Cogn Behav Neurol*. 2017; 30 (4): 133–44. Available from: <https://doi.org/10.1097/WNN.0000000000000141>.
- Lefaucheur JP, Antal A, Ayache SS, Benninger DH, Brunelin J, Cogiamanian F, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clin Neurophysiol*. 2017; 128 (1): 56–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.087>.
- Lefaucheur JP, Aleman A, Baeken C, Benninger DH, Brunelin J, Di Lazzaro V, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014–2018). *Clin Neurophysiol*. 2020; 131 (2): 474–528. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.11.002>.
- Penfield W, Roberts L. *Speech and Brain Mechanisms* Princeton University Press, 2014, 302 p. Available from: <https://doi.org/10.1515/9781400854677.192>.
- 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. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.11.062>.
- Mishra A, Englitz B, Cohen MX. EEG microstates as a continuous phenomenon. *Neuroimage*. 2020; 208: 116454. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116454>. Epub 2019 Dec 10.
- Milz P, Faber PL, Lehmann D, Koenig T, Kochi K, Pascual-Marqui RD. The functional significance of EEG microstates--Associations with modalities of thinking. *Neuroimage*. 2016; 125: 643–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.08.023>.
- Milz P, Pascual-Marqui RD, Lehmann D, Faber PL. Modalities of Thinking: State and Trait Effects on Cross-Frequency Functional Independent Brain Networks. *Brain Topogr*. 2016; 29 (3): 477–90. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-016-0469-3>.
- Seitzman BA, Abell M, Bartley SC, Erickson MA, Bolbecker AR, Hetrick WP. Cognitive manipulation of brain electric microstates. *Neuroimage*. 2017; 146: 533–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.002>.
- Croce P, Quercia A, Costa S, Zappasodi F. EEG microstates associated with intra- and inter-subject alpha variability. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 2469. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58787-w>.
- Poskanzer C, Denis D, Herrick A, Stickgold R. Using EEG microstates to examine post-encoding quiet rest and subsequent word-pair memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 181: 107424. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107424>.
- Pascual-Marqui RD, Esslen M, Kochi K, Lehmann D. Functional imaging with low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA): a review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2002; 24 Suppl C: 91–5. PMID: 12575492.
- 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>.
- Neuner I, Arrubla J, Werner CJ, Hitz K, Boers F, Kawohl W, et al. The default mode network and EEG regional spectral power: a simultaneous fMRI-EEG study. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e88214. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088214>.
- Whittingstall K, Bartels A, Singh V, Kwon S, Logothetis NK. Integration of EEG source imaging and fMRI during continuous viewing of natural movies. *Magn Reson Imaging*. 2010; 28 (8): 1135–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mri.2010.03.042>.
- Abreu R, Soares JF, Lima AC, Sousa L, Batista S, Castelo-Branco M, et al. Optimizing EEG Source Reconstruction with Concurrent fMRI-Derived Spatial Priors. *Brain Topogr*. 2022; 35 (3): 282–301. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-022-00891-3>. Epub 2022 Feb 10.
- Thatcher RW, North DM, Biver CJ. LORETA EEG phase reset of the default mode network. *Front Hum Neurosci*. 2014; 8: 529. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00529>.
- Gulyaev SA. EEG Microstate Analysis and the EEG Inverse Problem Solution as a Tool for Diagnosing Cognitive Dysfunctions in Individuals Who Have Had a Mild Form of COVID-19. *Hum Physiol*. 2022; 48 (5): 587–597. DOI: 10.1134/S0362119722600217. Epub 2022 Oct 13. PMID: 36258795; PMCID: PMC9559548.
- Gulyaev SA. Neurophysiological Solution of the Inverse Problem of EEG Research at Rest and under Conditions of Auditory-Speech Load. *J Evol Biochem Phys*. 2022; 58: 585–97. Available from: <https://doi.org/10.1134/S0022093022020259>
- Johnson F, Beeke S, Best W. Searching for active ingredients in rehabilitation: applying the taxonomy of behaviour change techniques to a conversation therapy for aphasia. *Disabil Rehabil*. 2021; 43 (18): 2550–60. Available from: <https://doi.org/10.1080/09638288.2019.1703147>.
- Sarter M, Fritschy JM. Reporting statistical methods and statistical results in *EJN*. *Eur J Neurosci*. 2008; 28 (12): 2363–4. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x>.
- Gulyaev SA, Lelyuk VG. Neurophysiological isolation of individual rhythmic brain activity arising from auditory-speech load. *Brain Netw Modul*. 2023; 2 (2): 47–52. Available from: <https://doi.org/10.4103/2773-2398.379340>.
- Seitzman BA, Abell M, Bartley SC, Erickson MA, Bolbecker AR, Hetrick WP. Cognitive manipulation of brain electric microstates. *Neuroimage*. 2017; 146: 533–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.002>. Epub 2016 Oct 11.
- Poskanzer C, Denis D, Herrick A, Stickgold R. Using EEG microstates to examine post-encoding quiet rest and subsequent word-pair memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 181: 107424. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107424>. Epub 2021 Mar 22.
- Zuk NJ, Murphy JW, Reilly RB, Lalor EC. Envelope reconstruction of speech and music highlights stronger tracking of speech at low frequencies. *PLoS Comput Biol*. 2021; 17 (9): e1009358. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009358>.
- Schoen SA, Lane SJ, Mailloux Z, May-Benson T, Parham LD, Smith Roley S, et al. A systematic review of ayres sensory integration intervention for children with autism. *Autism Res*. 2019; 12 (1): 6–19. DOI: 10.1002/aur.2046. Epub 2018 Dec 12. PMID: 30548827; PMCID: PMC6590432.

## ОЦЕНКА МУТАГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРОИЗВОДНОГО ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ С ТРЕТИЧНОЙ АМИНОГРУППОЙ

Е. А. Золотоверхая <sup>✉</sup>, Л. Г. Кубарская, А. Я. Беспалов, А. С. Мелехова

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

Моделирование тяжелого отравления ингибиторами ацетилхолинэстеразы показало возможность фармакологической терапии токсических проявлений препаратом вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой. Целью работы было исследовать потенциальную мутагенную активность вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в рамках изучения ее безопасности. Анализ наличия токсикофоров и оценку вероятности проявления мутагенности выполняли с использованием автономного программного обеспечения QSAR Toolbox (v4.5 SP1). Для оценки мутагенного потенциала вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой *in vitro* использовали тест Эймса с метаболической активацией и без. Результаты компьютерного прогнозирования предсказали отсутствие мутагенного действия изучаемой субстанции в тесте Эймса. Данные были подтверждены в тесте Эймса *in vitro* для широкого диапазона концентраций вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой (0,02–5,0 мг/мл). В концентрации выше 1,58 мг/мл вальпроевая кислота с третичной аминогруппой обладает бактериостатическим действием на штаммы *S. typhimurium* TA 100 и *E. coli* WP2 uvr A pKM 101. Таким образом, производное вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой не обладает потенциальным мутагенным действием, его можно рекомендовать для дальнейшего исследования терапевтической эффективности и безопасности в доклинических исследованиях.

**Ключевые слова:** вальпроевая кислота, ингибиторы ацетилхолинэстеразы, компьютерное прогнозирование, мутагенность, тест Эймса, холиноблокаторы

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания НИР «Изучение эффективности и безопасности субстанции аминоксифира вальпроевой кислоты как лекарственного препарата фармакотерапии токсического судорожного синдрома», номер НИОКТР 121041500281-1.

**Вклад авторов:** Е. А. Золотоверхая — планирование исследования, проведение анализа *in silico*, статистическая обработка и интерпретация данных, подготовка рукописи; Л. Г. Кубарская: проведение экспериментов *in vitro*, сбор и анализ данных; А. Я. Беспалов — синтез исследуемого вещества, интерпретация результатов исследования, редактирование статьи; А. С. Мелехова — редактирование статьи, подготовка сопроводительных документов для опубликования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование выполнено *in silico* и *in vitro* на бактериальных штаммах, одобрение этического комитета не требуется.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Андреевна Золотоверхая  
ул. Бехтерева, д. 1, г. Санкт-Петербург, 192019, Россия; e.zolotoverkhaja@yandex.ru

**Статья получена:** 20.06.2023 **Статья принята к печати:** 23.08.2023 **Опубликована онлайн:** 15.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.027

## ESTIMATION OF MUTAGENIC POTENTIAL OF THE VALPROIC ACID DERIVATIVE CONTAINING A TERTIARY AMINO GROUP

Zolotoverkhaja EA <sup>✉</sup>, Kubarskaya LG, Bepalov AY, Melekhova AS

Golkov Research Clinical Center of Toxicology of Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

The model of severe poisoning with acetylcholinesterase inhibitors has shown the possibility of drug treatment of toxic effects with valproic acid containing a tertiary amino group. The study was aimed to assess potential mutagenic effects of the valproic acid derivative containing a tertiary amino group when studying its safety. Testing for toxicophores and assessment of the mutagenic effect probability were performed using the QSAR Toolbox offline software (v4.5 SP1). The Ames test with and without metabolic activation was used to estimate mutagenic potential of valproic acid containing a tertiary amino group *in vitro*. The computer prediction results predicted that the test substance would show no mutagenic effects in the Ames test. These data were confirmed by the *in vitro* Ames test for a broad range of concentrations of valproic acid containing a tertiary amino group (0.02–5.0 mg/mL). The concentrations of valproic acid containing a tertiary amino group exceeding 1.58 mg/mL have a bacteriostatic effect on the TA 100 *S. typhimurium* strain and the WP2 uvr A pKM 101 *E. coli* strain. Thus, the valproic acid derivative containing a tertiary amino group possesses no mutagenic effect, it can be recommended for further preclinical trials of therapeutic efficacy and safety.

**Keywords:** valproic acid, acetylcholinesterase inhibitors, computer prediction, mutagenicity, Ames test, anticholinergics

**Funding:** the study was performed as part of the State Assignment "Assessment of Efficacy and Safety of the Valproic Acid Amino Ester Substance as an Agent for Drug Treatment of the Toxin-Induced Seizures", R&D project № 121041500281-1.

**Author contribution:** Zolotoverkhaja EA — study planning, *in silico* analysis, statistical analysis and data interpretation, manuscript writing; Kubarskaya LG — *in vitro* experiments, data acquisition and analysis; Bepalov AY — synthesis of the test compound, data interpretation, manuscript editing; Melekhova AS — manuscript editing, preparing supportive documents for publishing.

**Compliance with ethical standards:** the study was performed *in silico* and *in vitro*, no approval by the Ethics Committee was required.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina A. Zolotoverkhaja  
Bekhtereva, 1, Saint-Petersburg, 192019, Russia; e.zolotoverkhaja@yandex.ru

**Received:** 20.06.2023 **Accepted:** 23.08.2023 **Published online:** 15.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.027

Фосфорорганические соединения и карбаматы являются распространенными инсектицидами, которые подавляют активность холинэстераз, вызывая острые проявления мускариноподобного отравления и некоторые симптомы никотиноподобного отравления [1]. Кроме того, обратимые ингибиторы ацетилхолинэстеразы все чаще используются для фармакологической поддержки пациентов с нейроденегеративными заболеваниями [2, 3]. С ростом

применения ингибиторов ацетилхолинэстеразы в качестве инсектицидов и фармакологических препаратов растет риск как бытовых, так и производственных отравлений, что требует немедленного медицинского вмешательства. При высоких уровнях воздействия ингибирование холинэстераз быстро приводит к накоплению нейромедиатора ацетилхолина, эндогенного лиганда мускариновых и никотиновых рецепторов [4].



Внезапное и быстрое повышение уровня ацетилхолина в синапсах ведет к гиперстимуляции холинергических рецепторов и симптомам холинергического криза. В качестве антидота при отравлении, в том числе ингибиторами ацетилхолинэстеразы наиболее широко используют атропин [5]. Недостаточный защитный эффект атропина, обусловленный отсутствием никотинолитического эффекта, а также риск избыточной атропинизации при оказании медицинской помощи обуславливает необходимость создания препаратов, обладающих активностью центрального холиноблокатора с минимальной токсичностью.

В ФГБУ НКЦТ им. С. Н. Голикова ФМБА России синтезирован препарат нейромодуляторного действия — (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид (производное вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой) [6]. При моделировании тяжелого отравления карбатами на крысах показана разносторонняя фармакологическая активность данного препарата, ему присущи как холиноблокирующее действие, так и противосудорожный эффект [7].

На начальном этапе изучения токсического действия фармакологически активных веществ используют компьютерные предсказательные методы *in silico*, предвещающие экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo*. В рамках изучения безопасности исследуемого вещества необходимо оценить его потенциальную мутагенную активность. При выявлении мутагенного потенциала нового соединения следует учитывать наличие функциональных групп, определяющих проявления токсичности, а также имеющиеся экспериментальные данные о близких по строению веществах [8]. Для этого используются специальные компьютерные программы, которые позволяют на основе анализа структурного сходства и наличия токсифоров оценить генотоксический потенциал перспективных фармакологически активных веществ [9]. В качестве первоначального скрининга для определения мутагенного потенциала новых фармакологических препаратов *in vitro* используют тест Эймса [10].

Целью данного исследования было изучение потенциальной мутагенной активности производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в тестах *in silico* и *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объект исследования

Объектом исследования является (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата гидрохлорид (производное вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой), синтезированный в лаборатории синтеза лекарственных препаратов ФГБУ НКЦТ им. С. Н. Голикова ФМБА России. Исследование *in silico* проводили с использованием формулы SMILES исследуемого вещества: CCCC(CCC)C(=O)OC1CCN(C)CC1.

### Определение мутагенного потенциала *in silico*

Анализ структурных фрагментов, указывающих на потенциальную генотоксичность производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой, выявление вероятных механизмов мутагенного действия и оценка вероятности проявления мутагенной активности в

тесте Эймса на основании имеющихся экспериментальных данных о близких по строению веществах были проведены с помощью автономного программного обеспечения QSAR Toolbox (v4.5 SP1).

Конечными точками исследования были выбраны обратные мутации на бактериях *S. typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100 с метаболической активацией и без, а также *E. coli* WP2 uvr A pKM 101 с метаболической активацией и без.

В качестве алгоритмов идентификации специфических особенностей исследуемого соединения, т. е. профилирования, были подобраны имеющиеся для выбранных конечных точек профилировщики: «ДНК предупреждения для теста Эймса, хромосомных аббераций и микроядерного теста по протоколу лаборатории математической химии, Бургас, Болгария» («ДНК предупреждения для AMES, CA и MNT от OASIS»), «предупреждения о мутагенности *in vitro* (для теста Эймса) по протоколу Высшего института здоровья, Рим, Италия» («предупреждения о мутагенности *in vitro* (Ames) от ISS»), «связывание с ДНК по протоколу от Организации экономического сотрудничества и развития» («связывание с ДНК от OECD») и «связывание ДНК по протоколу лаборатории математической химии, Бургас, Болгария» («связывание ДНК от OASIS»).

Первичную, основанную на структуре, выборку химических веществ, аналогичных исследуемому производному вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой, проводили по наличию следующих функциональных групп: разветвленный алкан с третичным углеродом, или третичный амин, или эфир карбоновой кислоты, или насыщенный гетероциклический фрагмент, или пиперидин, или третичный алифатический амин.

Уточнение категорий по специфическому механизму связывания с ДНК, определенному для исследуемого производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой, проводили по алгоритму «ДНК предупреждения для теста Эймса, хромосомных аббераций и микроядерного теста лаборатории математической химии, Бургас, Болгария (OASIS)» («ДНК предупреждения для AMES, CA и MNT от OASIS»). Данный алгоритм учитывает вероятную генетическую токсичность (например, генные мутации в тестах *in vivo* и *in vitro*, повреждение и/или репарацию ДНК, повреждение ДНК и/или белка в печени, хромосомные абберации, трансгенную мутацию грызунов) и канцерогенность. Категоризация по структуре вещества проведена профилировщиком «органических функциональных групп» от Агентства по охране окружающей среды США (US EPA).

### Тест Эймса

Для проведения исследования использовали набор MPF™ Penta 1 (Xenometrix; Швейцария), который содержит в своем составе все необходимые микробиологические среды и добавки, соответствующие штаммы микроорганизмов, положительные контроли компонент микросомной фракции печени крыс S9. Исследование выполняли в трех повторах для каждой концентрации производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой. Исследование проводили в варианте с метаболической активацией системы микросомной Ароклор-1254-индуцированной фракцией гомогената печени S9 с кофакторами НАДФ и глюкозо-6-фосфатом и в варианте без активации микросомной фракцией S9.

Выбор диапазона концентраций выполняли на ночной культуре штамма *S. typhimurium* TA98 с целью отбора максимальной концентрации тестируемого вещества, при которой оно не проявит цитотоксический эффект, а также для оценки растворимости препарата в условиях эксперимента. В качестве растворителя использовали стерильную воду для инъекций. Исследуемые концентрации в предварительном тесте составили 0,01 мг/мл, 0,02 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,16 мг/мл, 0,50 мг/мл, 1,58 мг/мл и 5,00 мг/мл. Наличие признаков цитотоксичности определяли по отсутствию роста культуры при определенной концентрации исследуемого вещества.

### Анализ данных

Достоверность различий биномиальных распределений в тесте Эймса определяли по совокупному биномиальному критерию [11, 12]. Совокупная биномиальная вероятность (*B*-value) более 0,99 показывает, что результат исследования обусловлен мутагенным действием препарата с вероятностью  $\geq 99\%$ . Кроме вероятностного критерия учитывали кратность превышения числа колоний ревертантов относительно базовой линии. Базовую линию вычисляли как сумму среднего числа спонтанных реверсий (ревертантов в отрицательном контрольном образце) и стандартного отклонения. В случае если базовая линия была превышена менее чем в 2 раза, результат не считали достоверным и не рассматривали как положительный эффект. При выявлении концентрационной зависимости эффекта или кратного превышения относительно базовой линии более чем в 2 раза тестируемый препарат классифицировали как мутаген. Данные, которые значительно меньше уровня спонтанных реверсий (*B*-value  $\leq 0,01$ ), могут указывать на наличие цитотоксического действия препарата.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Определение мутагенного потенциала *in silico*

Экспериментальные данные по исследованию производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в базах данных, которые использует программное обеспечение QSAR Toolbox (v4.5 SP1), не выявлены, препарату CAS номер не присвоен.

В результате профилирования по неспецифическим конечным точкам не выявлены «предупреждения о мутагенности *in vitro* (Ames) от ISS» и «предупреждения ДНК для AMES, CA и MNT от OASIS» для системы без метаболической активации и с метаболической активацией. Результат применения общего механистического подхода по алгоритму «связывания с ДНК от OASIS» не выявил предупреждений, а алгоритм «связывания с ДНК от OECD» предупреждает о вероятной реакции мононуклеофильного замещения с образованием реактивного иминиевого иона.

Первичная выборка химических веществ, аналогичных исследуемому производному вальпроевой кислоты по критерию «органических функциональных групп» из базы данных Европейского химического агентства, составила 12 963 соединения. Из них 2300 соединений имели данные для конечной точки «исследование обратных мутаций на бактериях *S. typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100 с метаболической активацией и без» и 299 для конечной точки «исследование обратных мутаций на бактериях *E. coli* WP2 uvr A rKM 101 с метаболической активацией и без».

Дальнейшую процедуру подбора аналогов проводили по специфическим механизмам связывания с ДНК, идентифицированным для производного вальпроевой кислоты. Среди аналогов, для которых доступны экспериментальные данные, были найдены химические вещества и с положительными, и с отрицательными результатами теста Эймса на штаммах *S. typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100 и *E. coli* WP2 uvr A rKM 101. Кроме того, программа выдала предупреждение о наличии в базе химических соединений, отличающихся от исследуемого вещества. В связи с этим для уточнения базы данных были использованы профилировщики «ДНК предупреждения для AMES, CA и MNT от OASIS», «органические функциональные группы» от Агентства по охране окружающей среды CSHA (US EPA) и «структурное сходство». В результате были выбраны 80 химических соединений, близких по структуре и характеру взаимодействия с ДНК, для которых доступны экспериментальные данные по тесту Эймса на штаммах *S. typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100, и 33 химических соединения, близких по структуре и характеру взаимодействия с ДНК, для которых доступны экспериментальные данные по тесту Эймса на штаммах *E. coli* WP2 uvr A rKM 101 с метаболической активацией и без. Ни один из аналогов в тесте не показал мутагенной активности. Прогноз *in silico*, основанный на результатах тестирования 5 наиболее близких аналогов, на уровне значимости 0,00412 предсказывал отсутствие мутагенного действия аминоэфира вальпроевой кислоты в тесте Эймса на штаммах *S. typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100 и *E. coli* WP2 uvr A rKM 101 с метаболической активацией и без.

### Определение исследуемого диапазона концентраций вещества

Производное вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в диапазоне исследуемых концентраций цитотоксического действия не проявило. В условиях предварительного теста все исследуемые концентрации оставались растворимыми. Поэтому тест Эймса выполняли в диапазоне концентраций от 0,02 мг/мл до 5 мг/мл с шагом в половину порядка (0,02 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,16 мг/мл, 0,50 мг/мл, 1,58 мг/мл, 5,00 мг/мл).

### Результаты тестирования без метаболической активации системы

В табл. 1 представлено среднее и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ) количества лунок с ревертантными колониями в серии из трех повторений по 48 ячеек для каждой исследуемой концентрации субстанции аминоэфира вальпроевой кислоты, положительных и отрицательных контролей в системе без активации микросомной фракцией.

В качестве положительных контролей использовали стандартные мутагены – 2-нитрофлуорен (2,0 мкг/мл для штамма TA98), N-оксид-4-нитрохинолин (0,1 мкг/мл для штамма TA100), N4-аминоцитидин (100 мкг/мл для штамма TA1535), 9-аминоакридин (15 мкг/мл для штамма TA1537), N-оксид-4-нитрохинолин (2,0 мкг/мл для штаммов wp2 uvrA и wp2 [rKM101]), которые эффективно индуцировали обратные мутации в бактериальных клетках. Среднее количество ревертантных колоний отрицательного контроля для всех штаммов не превышало максимально допустимые значения.

Таблица 1. Результаты тестирования аминоэфир вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в тесте Эймса без активации микросомной фракцией (M ± SD)

Тестируемое вещество	Концентрация	Штаммы				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	<i>E.coli</i> Combo
Аминоэфир вальпроевой кислоты	0,02 мг/мл	0,7 ± 0,6	5,7 ± 1,2	2,7 ± 1,5	0,0 ± 0,0	5,7 ± 2,0
	0,05 мг/мл	0,7 ± 0,6	5,3 ± 2,1	0,0 ± 0,0	1,7 ± 0,6	7,3 ± 0,6
	0,16 мг/мл	0,7 ± 0,6	7,7 ± 2,1	0,3 ± 0,6	1,0 ± 0,0	6,0 ± 1,0
	0,50 мг/мл	1,0 ± 0,0	5,3 ± 3,2	1,0 ± 1,0	1,0 ± 0,0	8,0 ± 2,0
	1,58 мг/мл	0,3 ± 0,6	4,3 ± 0,6	0,7 ± 1,2	1,7 ± 2,1	3,3 ± 1,2
	5,00 мг/мл	1,3 ± 2,3	1,7 ± 2,1*	0,0 ± 0,0	1,0 ± 1,0	0,0 ± 0,0*
Отрицательный контроль	0	1,2 ± 1,2	7,6 ± 3,2	1,3 ± 1,2	1,6 ± 2,6	6,2 ± 3,9
Базовая линия отрицательного контроля	–	2,4	10,8	2,5	4,2	10,1
Положительный контроль для штамма TA 98	2,0 мкг/мл	47,6 ± 1,1	–	–	–	–
Положительный контроль для штамма TA 100	0,1 мкг/мл	–	46,3 ± 2,5	–	–	–
Положительный контроль для штамма TA1535	100 мкг/мл	–	–	48,0 ± 0,0	–	–
Положительный контроль для штамма TA1537	15 мкг/мл	–	–	–	48,0 ± 0,0	–
Положительный контроль для штаммов <i>E. coli</i> Combo	2,0 мкг/мл	–	–	–	–	34,0 ± 3,7

Примечание: # — снижение уровня спонтанных реверсий ( $B\text{-value} \leq 0,01$ ).

По результатам исследования аминоэфир вальпроевой кислоты в концентрациях 0,02 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,16 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,58 мг/мл и 5,00 мг/мл не индуцировал мутации в системе без метаболической активации.

Для штамма TA100 *S. typhimurium* и смеси штаммов *E. coli* wr2 uvrA и wr2 [pKM101] (*E. coli* Combo) при концентрации аминоэфира вальпроевой кислоты 5,0 мг/мл в системе без метаболической активации отмечено снижение количества ревертантных колоний по сравнению с уровнем спонтанных реверсий в отрицательном контрольном образце данного штамма и количеством ревертантных колоний при более низких концентрациях исследуемой субстанции. Критерий  $B\text{-value}$  составил менее 0,01, что может свидетельствовать о бактериостатическом действии аминоэфира вальпроевой кислоты в концентрации свыше 5,0 мг/мл на данные штаммы.

### Результаты тестирования с активацией системы микросомной фракцией S9 (+S9)

В табл. 2 представлено среднее количество ревертантных колоний и стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ) трех повторов для каждого штамма в системе с активацией микросомной фракцией S9.

В качестве положительного контроля для всех штаммов использовали 2-аминоантрацен в различных концентрациях. При тестировании субстанций в присутствии микросомной фракции S9 среднее количество мутантных колоний в секциях, содержащих положительный контроль, было выше минимально допустимого значения. Среднее количество колоний с обратными мутациями в секциях, содержащих отрицательный контроль, в присутствии микросомной фракции S9 не превышало максимално допустимые значения.

В системе с метаболической активацией аминоэфир вальпроевой кислоты в исследуемом диапазоне концентраций не индуцировал мутации.

Для штамма TA100 *S. typhimurium* при концентрации аминоэфира вальпроевой кислоты 5,0 мг/мл и смеси штаммов *E. coli* Combo при концентрации производного вальпроевой кислоты 1,58 мг/мл и 5,0 мг/мл в системе с метаболической активацией отмечено снижение количества ревертантных колоний по сравнению с уровнем спонтанных реверсий в отрицательном контрольном образце данного штамма и количеством ревертантных колоний при более низких концентрациях исследуемой субстанции. Критерий  $B\text{-value}$  составил менее 0,01, что подтверждает предположение о цитотоксическом действии производного вальпроевой кислоты в концентрации более 1,58 мг/мл на данные штаммы.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Программное обеспечение QSAR Toolbox (v4.5 SP1) использует более 50 баз данных химических веществ и включает информацию примерно о 100 000 веществ. Исследуемая вальпроевая кислота с третичной аминогруппой не выявлена в используемых базах данных, что говорит об отсутствии результатов открытых исследований данного вещества.

Метаболическая активация относительно инертных функциональных групп в реакционно способные электрофильные интермедиаты считается обязательным событием в этиологии многих побочных реакций, вызванных приемом лекарств. Поэтому исследования биохимической реактивности функциональных групп и структурных мотивов потенциальных фармакологических веществ важны с точки зрения безопасности. А предупреждения, полученные в результате профилирования, следует учитывать при планировании дальнейших доклинических и химических испытаний [13].

Механистические профилировщики, использованные в исследовании, включают предупреждения, которые основаны на химии реакций, связанных с генотоксичностью, и на основе гипотезы о том, что

**Таблица 2.** Результаты тестирования аминоксифира вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в тесте Эймса с метаболической активацией микросомной фракцией S9 (M ± SD)

Тестируемое вещество	Концентрация	Штаммы				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	<i>E. coli</i> Combo
Аминоксифир вальпроевой кислоты	0,02 мг/мл	0,7 ± 0,6	8,7 ± 3,2	1,0 ± 0,0	1,3 ± 0,6	10,0 ± 1,0
	0,05 мг/мл	0,7 ± 1,2	8,0 ± 0,0	1,3 ± 1,2	1,7 ± 1,5	8,3 ± 1,5
	0,16 мг/мл	1,0 ± 1,0	10,0 ± 3,6	2,3 ± 2,3	0,7 ± 0,6	8,0 ± 3,0
	0,50 мг/мл	1,3 ± 1,2	13,0 ± 1,0	1,3 ± 0,6	2,7 ± 0,6	8,0 ± 0,0
	1,58 мг/мл	3,0 ± 2,0	17,3 ± 1,5	1,3 ± 0,6	0,7 ± 0,6	0,7 ± 0,6#
	5,00 мг/мл	0,0 ± 0,0	1,3 ± 0,6#	0,3 ± 0,6	0,7 ± 0,6	0,0 ± 0,0#
Отрицательный контроль	0	1,0 ± 1,2	8,4 ± 2,6	1,5 ± 1,2	0,8 ± 0,8	7,2 ± 4,2
Базовая линия отрицательного контроля	–	2,2	11,0	2,7	1,6	11,4
2-аминоантрацен	1,0 мкг/мл	47,9 ± 0,5	–	–	–	–
2-аминоантрацен	2,5 мкг/мл	–	48,0 ± 0,2	43,8 ± 3,1	41,3 ± 7,1	–
2-аминоантрацен	400 мкг/мл	–	–	–	–	30,0 ± 8,1

**Примечание:** # — снижение уровня спонтанных реверсий ( $B\text{-value} \leq 0,01$ ).

электрофильный потенциал химического вещества связан с генотоксическими свойствами [14]. Согласно алгоритму «связывания с ДНК от OASIS» химическое строение вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой не ассоциировано с генотоксичностью, при этом алгоритм «связывания с ДНК от OECD» предупреждает о вероятной реакции мононуклеофильного замещения с образованием реактивного иминиевого иона как о потенциальном пути образования аддуктов ДНК [15].

Образование аддуктов ДНК может ослабить связь между азотистым основанием и дезоксирибозой и привести к потере основания (депурированию или депиримидинированию). В результате такой модификации ДНК образуется нестабильный апуриновый или апириимидиновый сайт (AP-сайт). Отсутствие кодирующего основания в матрице ДНК может приводить к блокированию ДНК- и РНК-полимераз, а также к однонуклеотидным заменам и делециям/инсерциям. Химическая реакционная способность AP-сайтов является причиной образования разрывов в молекуле ДНК, а также сшивок ДНК-белок и ДНК-ДНК, что обуславливает высокую мутагенность и цитотоксичность этих повреждений [16].

Кроме вероятной генотоксичности, образование реактивного иминиевого иона в результате метаболических реакций может приводить и к органоспецифичной токсичности. Нейротоксичность галоперидола, который, как и производное вальпроевой кислоты, имеет в структуре молекулы 4-пиперидинил, связывают с образованием производного пиридина, а интермедиатом этого процесса является иминиевый ион. В то же время лоперамид, тоже имеющий в своей структуре 4-пиперидинил и в результате метаболизма с участием цитохрома CYP3A4 образующий производное пиридина, не обладает нейротоксичностью [15]. Различия в профиле безопасности галоперидола и лоперамида подтверждают мнение о том, что не все соединения, подвергающиеся одинаковым механизмам биоактивации, вызывают аналогичные токсические эффекты. Вероятность производного вальпроевой кислоты подвергаться биоактивации с образованием ДНК-аддуктов и органоспецифичных токсичных метаболитов, в том числе нейротоксичных, следует учесть при проведении исследования фармакокинетики вещества.

Оценка вероятности проявления мутагенной активности в тесте Эймса с помощью программного

обеспечения QSAR Toolbox (v4.5 SP1) на уровне значимости 0,00412 позволяет предсказать отсутствие мутагенного действия производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в тесте Эймса на штаммах *S. typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100 и *E. coli* WP2 uvr A pKM 101 с метаболической активацией и без.

Данная оценка согласуется с результатами нашего исследования *in vitro*. Согласно им, вальпроевая кислота с третичной аминогруппой в концентрациях 0,02 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,16 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,58 мг/мл и 5,00 мг/мл не индуцировала мутации по типу сдвига рамки считывания (штаммы TA98 и TA1537 *S. typhimurium*) и замены пар оснований (штамм TA100, TA1535 *S. typhimurium* и wp2 uvrA и wp2 [pKM101] *E. coli*) в тесте Эймса без метаболической активации. Добавление в тестируемую систему метаболической фракции печени не повлияло на проявление генотоксической активности исследуемого вещества.

Интересно отметить цитотоксическое действие вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в концентрации выше 1,58 мг/мл на штаммы *S. typhimurium* TA 100 и *E. coli* WP2 uvr A pKM 101, как в тесте с метаболической активацией, так и без нее. С одной стороны, данный эффект может маскировать мутагенное действие высоких концентраций исследуемого вещества. С другой стороны, цитостатическое действие может быть обусловлено формированием ДНК-аддуктов, как следствие метаболической активации, с образованием AP-сайтов и межщепочных поперечных связей в молекуле ДНК. Однако цитотоксическое действие производного вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой показано и в тесте Эймса без метаболической активации, что противоречит данному утверждению.

## Выводы

По результатам теста Эймса *in silico* и *in vitro* производное вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой не обладает мутагенностью, данное фармакологически активное вещество можно рекомендовать для дальнейших доклинических исследований терапевтической эффективности и безопасности. При этом важно учесть, что цитотоксическое действие вальпроевой кислоты с третичной аминогруппой в отношении некоторых

бактериальных штаммов может маскировать его мутагенные свойства при высокой концентрации вещества. Учитывая цитотоксичность и возможное образование

ДНК-аддуктов, необходимо исследовать вероятные канцерогенные и цитотоксические эффекты в тестах на клетках млекопитающих и модельных экспериментах на животных.

## Литература

- Петров А. Н., Софронов Г. А., Нечипоренко С. П., Сомин И. Н. Антродоты фосфорорганических отравляющих веществ. *Российский химический журнал*. 2004; 48 (2): 110–116.
- Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2021; 190: 108352. PubMed PMID: 33035532.
- Birks JS, Grimley Evans J. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015; 4: CD001191. PubMed PMID: 25858345.
- Зорина В. Н., Евдокимова Е. А., Рейнюк В. Л. Методы профилактики и терапии судорожного синдрома при отравлении конвульсантами холинергического ряда. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2022; (2): 14–21.
- Connors NJ, Harnett ZH, Hoffman RS. Comparison of current recommended regimens of atropinization in organophosphate poisoning. *J Med Toxicol*. 2014; 10 (2): 143–7.
- Беспалов А. Я., Прокопенко Л. И., Горчакова Т. Л., Петров А. Н., Зайцева М. А. и др., авторы; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», патентообладатель. Гидрохлорид (1-метилпиперидин-4-ил)-2-пропилпентаноата, обладающий холинолитической и противосудорожной активностью. Патент РФ № 2714135. 12.02.2020.
- Мелехова А. С., Петров А. Н., Беспалов А. Я., Бельская А. В., Мельникова М. В., Зацепин Э. П. и др. Экспериментальная фармакотерапия судорожного синдрома при моделировании тяжелого отравления карбаматом. *Медлайн.ру*. 2019; 20: 294–306.
- Snodin DJ. Genotoxic impurities: from structural alerts to qualification. *Organic process research and development*. 2010; 14 (4): 960–976.
- Fukuchi J, Kitazawa A, Hirabayashi K, Honma M. A practice of expert review by read-across using QSAR Toolbox. *Mutagenesis*. 2019; 34 (1): 49–54.
- Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat Res*. 2000; 455 (1–2): 29–60. PubMed PMID: 11113466.
- Heringa MB, Harmsen DJ, Beerendonk EF, Reus AA, Krul CA, Metz DH, et al. Formation and removal of genotoxic activity during UV/H(2)O(2)-GAC treatment of drinking water. *Water Res*. 2011; 45 (1): 366–374. PubMed PMID: 20828782.
- Piegorsch WW, Simmons SJ, Margolin BH, Zeiger E, Gidrol XM, Gee P. Statistical modeling and analyses of a base-specific Salmonella mutagenicity assay. *Mutat Res*. 2000; 467 (1): 11–19. PubMed PMID: 10771267.
- Benigni R. In silico assessment of genotoxicity. Combinations of sensitive structural alerts minimize false negative predictions for all genotoxicity endpoints and can single out chemicals for which experimentation can be avoided. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2021; 126: 105042.
- Ashby J, Tennant RW. Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the U.S. NTP. *Mutat Res*. 1991; 257 (3): 229–306.
- Kalgutkar AS, Gardner I, Obach RS, Shaffer CL, Callegari E, Henne KR, et al. A comprehensive listing of bioactivation pathways of organic functional groups. *Curr Drug Metab*. 2005; 6 (3): 161–225. PubMed PMID: 15975040.
- Phillips DH, Arit VM. Genotoxicity: damage to DNA and its consequences. *EXS*. 2009; 99: 87–110. PubMed PMID: 19157059.

## References

- Petrov AN, Sofronov GA, Nechiporenko SP, Somin IN. Antidoty fosfororganicheskikh otravlyayushchikh veshchestv. *Rossiyskiy khimicheskii zhurnal*. 2004; 48 (2): 110–116. Russian.
- Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2021; 190: 108352. PubMed PMID: 33035532.
- Birks JS, Grimley Evans J. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015; 4: CD001191. PubMed PMID: 25858345.
- Zorina VN, Evdokimova EA, Reinyuk VL. Metody profilaktiki i terapii sudorozhnogo sindroma pri otravlenii konvul'santami kholinergicheskogo ryada. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy*. 2022; (2): 14–21. Russian.
- Connors NJ, Harnett ZH, Hoffman RS. Comparison of current recommended regimens of atropinization in organophosphate poisoning. *J Med Toxicol*. 2014; 10 (2): 143–7.
- Bespalov AY, Prokopenko LI, Gorchakova TL, Petrov AN, Zaytseva MA, i dr, avtory; Federal'noe gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Institut toksikologii Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva», patentoobladatel'. Gidrokhlord (1-metilpiperidin-4-il)-2-propilpentanoata, obladayushchiy kholinoliticheskoy i protivosudorozhnoy aktivnost'yu. Patent RF № 2714135. 12.02.2020. Russian.
- Melekhova AS, Petrov AN, Bespalov AY, Belskaya AV, Melnikova MV, Zatsepin EP, i dr. Eksperimental'naya farmakoterapiya sudorozhnogo sindroma pri modelirovanii tyazhelogo otravleniya karbamatom. *Medlayn.ru*. 2019; 20: 294–306. Russian.
- Snodin DJ. Genotoxic impurities: from structural alerts to qualification. *Organic process research and development*. 2010; 14 (4): 960–976.
- Fukuchi J, Kitazawa A, Hirabayashi K, Honma M. A practice of expert review by read-across using QSAR Toolbox. *Mutagenesis*. 2019; 34 (1): 49–54.
- Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat Res*. 2000; 455 (1–2): 29–60. PubMed PMID: 11113466.
- Heringa MB, Harmsen DJ, Beerendonk EF, Reus AA, Krul CA, Metz DH, et al. Formation and removal of genotoxic activity during UV/H(2)O(2)-GAC treatment of drinking water. *Water Res*. 2011; 45 (1): 366–374. PubMed PMID: 20828782.
- Piegorsch WW, Simmons SJ, Margolin BH, Zeiger E, Gidrol XM, Gee P. Statistical modeling and analyses of a base-specific Salmonella mutagenicity assay. *Mutat Res*. 2000; 467 (1): 11–19. PubMed PMID: 10771267.
- Benigni R. In silico assessment of genotoxicity. Combinations of sensitive structural alerts minimize false negative predictions for all genotoxicity endpoints and can single out chemicals for which experimentation can be avoided. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2021; 126: 105042.
- Ashby J, Tennant RW. Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the U.S. NTP. *Mutat Res*. 1991; 257 (3): 229–306.
- Kalgutkar AS, Gardner I, Obach RS, Shaffer CL, Callegari E, Henne KR, et al. A comprehensive listing of bioactivation pathways of organic functional groups. *Curr Drug Metab*. 2005; 6 (3): 161–225. PubMed PMID: 15975040.
- Phillips DH, Arit VM. Genotoxicity: damage to DNA and its consequences. *EXS*. 2009; 99: 87–110. PubMed PMID: 19157059.

## ВЫЯВЛЕНИЕ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА ТИПА В В МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЕЙ С ВИЗУАЛЬНОЙ И ВИДЕОЦИФРОВОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ

С. П. Ярков <sup>✉</sup>, С. И. Третьяков, И. В. Шиленко, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин

Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Выявление стафилококковых энтеротоксинов в продуктах питания является важной задачей профилактики пищевых отравлений. Целью исследования были разработка иммунохроматографических тестов (ИХТ) для обнаружения стафилококковых энтеротоксинов типов А (SEA) и В (SEB), а также повышение чувствительности иммунохроматографического выявления стафилококковых энтеротоксинов (на примере SEB) в молочных продуктах по сравнению с визуальным наблюдением за счет регистрации результатов анализа приборами видеоцифровой регистрации (ВЦР), использующими принцип обработки цифровых изображений иммунохроматограмм при освещении в различных спектральных диапазонах. ИХТ для выявления энтеротоксинов были сконструированы в «сэндвич»-формате на основе высокоспецифичных моноклональных антител (МКА) к стафилококковому энтеротоксину. Анализу подвергались молоко, сливки, сметана, сыр, искусственно контаминированные SEB. Результаты анализа фиксировали визуально и с помощью ВЦР. Осуществление ВЦР иммунохроматограмм молочных продуктов, содержащих энтеротоксин, при освещении белым светом в диапазоне длин волн 400–800 нм повышает чувствительность выявления SEB в 4 раза, а при освещении зеленым в диапазоне спектра при максимуме длины волны 525 нм — в 4–8 раз по сравнению с визуальной регистрацией. Использование видеоцифровых анализаторов иммунохроматограмм «Рефлеком» и «Зондаж» кратно повышает чувствительность выявления SEB иммунохроматографическим методом при анализе молочных продуктов по сравнению с визуальным методом регистрации.

**Ключевые слова:** стафилококковые энтеротоксины типов А и В, иммунохроматография, видеоцифровая регистрация результатов, молочные продукты

**Финансирование:** исследования проводили в рамках государственного заказа Федерального медико-биологического агентства России (ГК № 42.001.22.6).

**Вклад авторов:** С. П. Ярков — идея, участие в создании прибора «Зондаж», планирование экспериментов и анализ результатов, подготовка черновика рукописи; С. И. Третьяков — создание иммунохроматографических тестов, эксперименты с молочными продуктами, анализ результатов исследования; И. В. Шиленко — создание иммунохроматографических тестов, проведение экспериментов, анализ полученных результатов; Ю. Н. Ишков — текущее руководство исследованиями, правка рукописи; К. К. Стяжкин — общее редактирование рукописи и руководство.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Петрович Ярков  
Волоколамское шоссе, д. 75, корпус 1, г. Москва, 125424, Россия; diasol@dol.ru

**Статья получена:** 24.08.2023 **Статья принята к печати:** 18.09.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.039

## IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN B IN DAIRY PRODUCTS BY IMMUNOCHROMATOGRAPHY WITH VISUAL AND DIGITAL VIDEO DETECTION

Yarkov SP <sup>✉</sup>, Tretyakov SI, Shilenko IV, Ishkov YuN, Styazhkin KK

State Scientific Research Institute of Biological Engineering of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Detection of staphylococcal enterotoxins in food products is an important task of food poisoning prevention. The study was aimed to develop immunochromatography tests (ICTs) for detection of staphylococcal enterotoxins A (SEA) and B (SEB), as well as to improve sensitivity of immunochromatography detection of staphylococcal enterotoxins (by the example of SEB) in dairy products relative to visual assessment by recording the analysis results with digital video recorders (DVR) using the principle of processing digital immunochromatogram images acquired using illumination in various spectral ranges. ICTs for detection of enterotoxins were designed as sandwich tests based on highly specific monoclonal antibodies (MABs) against staphylococcal enterotoxins. Milk, cream, sour cream, cheese artificially contaminated with SEB were analyzed. The analysis results were recorded visually or by DVR. DVR of immunochromatograms of the enterotoxin-containing dairy products acquired using illumination with white light in the wavelength range of 400–800 nm ensures a 4-fold increase in the SEB detection sensitivity, while that involving illumination with green light in the wavelength range having its maximum at 525 nm ensures a 4–8-fold increase relative to visual recording. The use of the “Reflecom” and “Zondazh” digital video immunochromatogram analyzers multiplies sensitivity of SEB detection by immunochromatography when assessing dairy products relative to visual recording.

**Keywords:** staphylococcal enterotoxin types A and B, immunochromatography, video digital registration of results, dairy products

**Funding:** the study was conducted as part of the State Assignment of the Federal Medical Biological Agency of Russia (GK № 42.001.22.6).

**Author contribution:** Yarkov SP — concept, part in developing the “Zondazh” unit, planning the experiments and analysis of the results, manuscript draft; Tretyakov SI — developing immunochromatography tests, experiments with dairy products, analysis of the study results; Shilenko IV — developing immunochromatography tests, experimental procedure, analysis of the results; Ishkov YuN — day-to-day research management, manuscript editing; Styazhkin KK — general management, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey P. Yarkov  
Volokolamskoe sh., 75, korp. 1, Moscow, 125424, Russia; diasol@dol.ru

**Received:** 24.08.2023 **Accepted:** 18.09.2023 **Published online:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.039

Стафилококковые энтеротоксины, продуцируемые штаммами патогенных грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, вызывают у человека пищевые отравления различной степени тяжести [1–3]. Основной путь поступления стафилококковых энтеротоксинов в организм — алиментарный. В Российской Федерации, в соответствии с методическими указаниями Роспотребнадзора

МУК 4.2.2429-08 «Метод определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах» и дополнению к ним (МУК 4.2.2879-11) [4, 5], токсикогенными считаются продукты, содержание токсина в которых равно или превышает 100 мкг/кг продукта. Такие же нормы установлены в США Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов



Рис. 1. Внешний вид рефлектометра-флуориметра «Зондаж»

(FDA) [6]. Иммунохроматографический метод, наряду с твердофазным иммуноферментным анализом, широко применяется для выявления стафилококковых энтеротоксинов в сырье и готовых пищевых продуктах. Эффективность ИХТ была показана для выявления SEA [7], и SEA и SEB в продуктах питания [8]. Несомненные преимущества ИХТ — компактность аналитической системы, быстрота и простота процедуры проведения, возможность визуальной оценки результата. В то же время весьма актуальна задача повышения чувствительности анализа ИХТ. Подобные исследования проведены для выявления стафилококковых энтеротоксинов за счет применения ионов серебра и использования бифункциональных наночастиц золота [9, 10].

Учитывая вышеизложенное, цель настоящей работы — разработка отечественных ИХТ для выявления стафилококковых энтеротоксинов типов А и В, демонстрация возможности повышения чувствительности выявления указанных токсинов по сравнению с визуальной регистрацией результатов за счет использования видеоцифровых анализаторов иммунохроматограмм, действующих на основе обработки цифровых изображений иммунохроматограмм при освещении в различных спектральных диапазонах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Процедура изготовления ИХТ для выявления SEB и используемые для этого материалы описаны ранее [10]. ИХТ для выявления SEA конструировали при помощи аналогичного метода и использовали МКА, продуцируемые клонами 329D9B3, 329D9B3 и 329A11F6 в различных комбинациях (табл. 1). При изготовлении ИХТ для выявления SEB использовали МКА, продуцируемые клонами 357E10E9 и 357A8C1 (ФГБУ «48ЦНИИ» Минобороны; Россия). МКА S222, S643 произведены АО «ВНЦМДЛ» (Россия). В ИХТ использовали наночастицы коллоидного золота (НКЗ) со средним диаметром 30 нм, конъюгированные с МКА, а в качестве контаминанта — препарат SEB (ФГБУН «ГНЦ ПМиБ» Роспотребнадзора; Россия). Использовали также отечественные молочные продукты: молоко коровье 3,2% жирности (ГОСТ 31450-2013), сливки 10% жирности (ГОСТ 31450-2013), сметану 10% жирности термостатную (ГОСТ 31452-2012), сыр 50% жирности «Российский» (ГОСТ 314521-2012).

Пробоподготовку к анализу осуществляли следующим образом. Помещали 1 мл молочного продукта, содержащего

токсин, в микроцентрифужную пробирку емкостью 2 мл, добавляли 50 мкл 0,5М цитратного буфера с pH = 3,0 и перемешивали кратковременным встряхиванием. Пробы центрифугировали при 4000 g в течение 15 мин. Происходило расслоение пробы и осаждение молочного жира на дно пробирки. Верхний прозрачный слой жидкости в количестве 200 мкл отбирали и смешивали с 200 мкл концентрированного буфера для проведения иммунохроматографического анализа (ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России; Россия). Из полученной пробы отбирали 140 мкл и наносили на ИХТ. Для проб сыра поступали следующим образом. Навеску измельченного на мелкой терке сыра в количестве 1 г помещали в пробирку на 10 мл. Добавляли 1,0 мл стерильного физраствора, перемешивали в вибрационном встряхивателе в течение 1 мин при максимальных оборотах. С помощью шпателя, держа пробирку наклонно, отжимали влажный сыр о стенки пробирки так, чтобы жидкость могла стекать в центрифужную пробирку объемом 2 мл. Центрифугировали при 4000 g в течение 15 мин. Прозрачную надосадочную жидкость в количестве 200 мкл отбирали и смешивали с концентрированным буфером для проведения иммунохроматографического анализа в объемном соотношении 1 : 1. Затем 140 мкл полученной смеси наносили в ИХТ. По истечении 25 мин регистрировали результаты анализа визуально и с помощью ВЦР.

Для ВЦР иммунохроматограмм использовали анализатор видеоцифровой иммунохроматографический «Рефлеком» (ООО «Синтэко-комплекс»; Россия). Измерения проводили также и с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж» (ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России; Россия) (рис. 1). Экспериментальный образец ВЦР рефлектометра-флуориметра «Зондаж» позволяет регистрировать интенсивность отражения света от аналитической или контрольной зоны иммунохроматографического теста в четырех спектральных диапазонах освещения: белом 400–800 нм, красном — 650 нм, зеленом — 525 нм, синем — 470 нм. Спектральный диапазон прибора позволяет регистрировать рефлектограммы не только конъюгатов НКЗ, но и различных по окраске цветных латексных частиц субмикронного размера, часто используемых в качестве дисперсной фазы в ИХА. В режиме измерения интенсивности люминесценции прибор «Зондаж» позволяет регистрировать люминесцентные иммунохроматограммы, обеспечивает длину волны возбуждения люминесценции 380 нм и регистрации эмиссии — 490 нм. Принцип

Таблица 1. Аналитические свойства ИХТ для выявления SEA и SEB при визуальной регистрации результатов

Наименование аналита	Чувствительность, нг/мл	Время проведения иммунохроматографии, мин	Сочетания МКА
SEA (I вариант)	50	22	329D9B3 / 329D9B3
SEA (II вариант)	25	7	329A11F6 / 329D9B3
SEA (II вариант)	10	25	329A11F6 / 329D9B3
SEB (I вариант)	10	25	357E10E9 / 357A8C1
SEB (II вариант)	16	25	S222 / S643

**Примечание:** перекрестные реакции между SEA и SEB в концентрациях, 100-кратно превышающих чувствительность соответствующего ИХТ, отсутствовали; растворы токсинов готовили в буфере для проведения иммунохроматографического анализа.

действия прибора — рефлектометрия цифровых снимков иммунохроматограмм либо регистрация интенсивности свечения люминесценции в случае люминесцентных тестов. В качестве источников света использованы излучающие светодиоды. Приемником изображения служит твердотельная видеокамера.

Прибор обеспечивает вычисление интегральной интенсивности аналитической и контрольной зон ИХТ с автоматической коррекцией базовой линии. Критерием положительного результата анализа при ВЦР с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж» было превышение величины интенсивности окрашивания аналитической зоны теста над средним значением фона в «холостом» опыте с учетом ошибки измерения при 95% доверительности:

$$[X_{\text{cp.}} - t_s \times SE]_{\text{сигнала}} \geq [X_{\text{cp.}} + t_s \times SE]_{\text{фона}},$$

где  $X_{\text{cp.}}$  — среднее из  $n$  измерений,  $t_s$  — коэффициент распределения Стьюдента для  $n$  измерений,  $SE$  — стандартная ошибка при 95% доверительной вероятности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

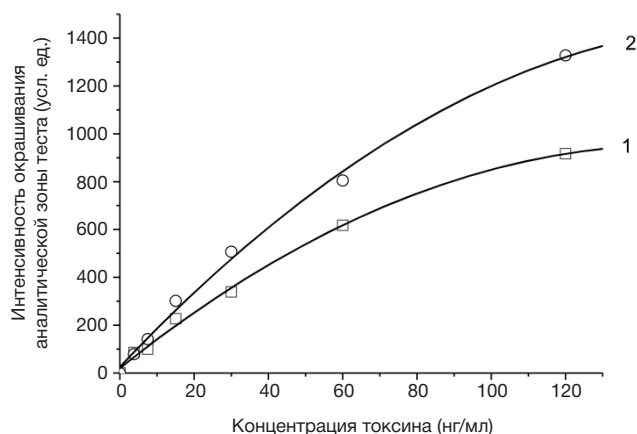
Тесты для выявления иммунохроматографического выявления стафилококковых энтеротоксинов были разработаны в «сэндвич»-формате с использованием МКА. Принцип действия ИХА в «сэндвич»-варианте широко описан в литературе [7–10]. Жидкая проба, потенциально содержащая антигены токсинов, вносится на подложку для нанесения образца. Под действием капиллярных сил происходит перемещение жидкости по мультимембранному композиту. Сначала сольубилизуется конъюгат НКЗ со специфическими антителами. Он окрашен в вишневый цвет, поэтому его

движение по мембране можно наблюдать визуально. При этом в случае наличия определяемого антигена в пробе образуется антигенный иммунный комплекс, который с током жидкости начинает перемещаться по аналитической мембране вместе с избытком конъюгата. Далее иммунный комплекс иммобилизуется на аналитической мембране специфическими антителами в аналитической зоне (АЗ), образуя «сэндвич», а несвязанные антитела конъюгата — антителами, расположенными в контрольной зоне тест-полоски (КЗ), что приводит к образованию двух окрашенных линий. В случае отсутствия антигена в пробе антигенный иммунный комплекс не образуется, поэтому единственная видимая линия формируется за счет связывания антител конъюгата и антител КЗ (антивидовых по отношению к антителам конъюгата) только в КЗ.

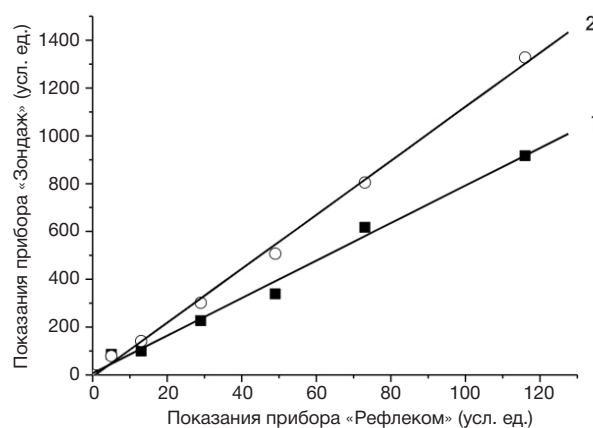
Были разработаны по два варианта ИХТ для выявления SEA и SEB с использованием различных комбинаций МКА. Чувствительность ИХТ зависела от длительности иммунохроматографии, увеличиваясь по мере развития процесса в течение 25 мин (табл. 1).

Для дальнейших исследований выбрали ИХТ для выявления SEB I варианта как проявивший большую чувствительность за время анализа 25 мин.

На основании полученных данных были построены графики зависимостей показаний рефлектометра-флуориметра «Зондаж» при регистрации иммунохроматограмм SEB, растворенного в буфере анализа при освещении в различных спектральных диапазонах (рис. 2). Зависимости хорошо аппроксимируются полиномами  $Y = 20,49 + 12,43X - 0,041X^2$  (освещение белым светом) и  $Y = 25,91 + 16,44X - 0,047X^2$  (освещение зеленым светом); в обоих случаях коэффициент ковариации был



**Рис. 2.** Графики зависимости интенсивности окрашивания аналитической зоны теста от концентрации SEB в буферном растворе, измеренные с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж»: 1 — при освещении теста белым светом ( $\lambda = 400\text{--}800$  нм); 2 — при освещении зеленым светом ( $\lambda_{\text{max}} = 525$  нм). Время хроматографии 25 мин.



**Рис. 3.** Графики корреляции показаний рефлектометров «Рефлеком» и «Зондаж» при измерении интенсивности окрашивания аналитической зоны тестов в диапазоне концентраций SEB 0–120 нг/мл. 1 — при освещении белым светом, 2 — при освещении зеленым светом, коэффициенты корреляции линейных зависимостей  $R = 0,995$  и  $R = 0,999$ , соответственно



**Таблица 2.** Интенсивность окрашивания аналитической зоны теста в зависимости от концентрации SEB и спектрального диапазона света, измеренная приборами ВЦР

Концентрация SEB, нг/мл	Интенсивность окрашивания, усл. ед.		
	Видеоцифровой анализатор иммунохроматограмм «Рефлеком» Белый свет $\lambda = 400-800$ нм	Рефлектометр-флуориметр «Зондаж»	
		Белый свет $\lambda = 400-800$ нм	Зеленый свет $\lambda_{max} = 525$ нм
Молоко 3,2% жирности по ГОСТ 31450-2013			
0	0,0 ± 0,0	77 ± 4	118 ± 5
3,8	0,0 ± 0,0	80 ± 9	135 ± 7
7,5	0,0 ± 0,0	88 ± 5	156 ± 7
15	0,8 ± 0,1	124 ± 12	250 ± 6
30	1,9 ± 0,2	156 ± 8	303 ± 9
60	3,0 ± 0,2	544 ± 17	729 ± 8
Сливки 10% жирности по ГОСТ 31451-2012			
0	0,0 ± 0,0	93 ± 8	119 ± 6
3,8	0,0 ± 0,0	119 ± 10	139 ± 10
7,5	0,1 ± 0,1	117 ± 8	138 ± 15
15	0,8 ± 0,1	254 ± 11	272 ± 15
30	2,7 ± 0,2	293 ± 6	571 ± 7
60	3,1 ± 0,2	410 ± 12	510 ± 8
120	6,2 ± 0,3	597 ± 8	968 ± 10
240	8,2 ± 0,3	824 ± 11	120 ± 9
Сметана 10% жирности по ГОСТ 31452-2012			
0	0,0 ± 0,0	97 ± 13	120 ± 5
3,8	0,0 ± 0,0	123 ± 20	354 ± 34
7,5	0,5 ± 0,1	326 ± 16	610 ± 8
15	1,8 ± 0,1	533 ± 18	954 ± 39
30	2,9 ± 0,2	704 ± 8	1037 ± 2
Сыр 50% жирности по ГОСТ 314521-2012			
0	0,0 ± 0,0	77 ± 6	118 ± 4
3,8	0,0 ± 0,0	80 ± 12	104 ± 10
7,5	0,4 ± 0,1	91 ± 8	128 ± 4
15	0,8 ± 0,1	187 ± 2	237 ± 3
30	1,2 ± 0,1	384 ± 10	291 ± 12
60	2,4 ± 0,2	541 ± 15	616 ± 13
120	4,4 ± 0,2	723 ± 14	825 ± 14

**Примечание:** приведенные в таблице показания приборов являются средними из пяти измерений. В качестве погрешности приведена стандартная ошибка при 95% доверительной вероятности, умноженная на коэффициент  $t_{\alpha} = 2,776$  распределения Стьюдента для четырех степеней свободы. Расчеты осуществляли с помощью программы MS Excel.

равен  $R^2 = 0,996$ . Подобные зависимости типичны для иммунохроматограмм SEB [9].

Как видно на графиках, отражающих корреляцию между показаниями видеоцифрового анализатора иммунохроматограмм «Рефлеком» и рефлектометра-флуориметра «Зондаж» при анализе иммунохроматограмм SEB, показания приборов коррелируют между собой линейно (рис. 3).

Показания приборов в зависимости от концентрации SEB в искусственно контаминированных молочных продуктах после проведения иммунохроматографии приведены в табл. 2.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нормативных документах по выявлению энтеротоксинов в пищевых продуктах [4, 5] в качестве экспресс-метода рекомендован твердофазный иммуноферментный анализ (ТИФА) с фотометрическим или

люминесцентным окончанием. Упрощение проведения иммунохроматографического анализа по отношению к ТИФА достигается отказом от дополнительных обработок, промывок, инкубации с субстратами, усиливающими сигнал, а также визуальной оценкой результатов. Типичное время ИХА при применении в качестве метки НКЗ составляет 10–25 мин, чувствительность метода по белковым токсинам, как правило, лежит в диапазоне 1–100 нг/мл, в зависимости от вида токсина. Поскольку иммунохимические взаимодействия на мембране идут в неравновесном режиме, ИХА считается уступающим ТИФА по чувствительности. В то же время существуют приемы и методы, позволяющие повысить чувствительность ИХА по белковым антигенам до 0,1 нг/мл, однако это требует либо дополнительных реагентов, либо применения люминесцентных меток и приборной регистрации, что может существенно увеличить время анализа.

В наших исследованиях помимо визуальной регистрации для получения количественных данных использовалась

ВЦР результатов ИХА. ВЦР иммунохроматограмм — распространенный метод получения полуколичественных и количественных результатов иммунохроматографического анализа при лабораторной диагностике заболеваний [11]. ВЦР основана на анализе цифровых снимков иммунохроматограмм специализированными программами, позволяющими определять интегральную интенсивность поглощенного света аналитической и контрольной зоны, сформированных окрашенными частицами конъюгата НКЗ со специфическими антителами. Для достижения наибольшей чувствительности регистрации должен существовать максимальный контраст между фоном мембраны и окрашенными зонами иммунохроматограмм. Учитывая, что НКЗ и его конъюгаты имеют широкие бесструктурные полосы поглощения в диапазоне 500–600 нм, контраст должен зависеть от спектрального состава освещения иммунохроматограммы. Исходя из субтрактивной теории восприятия цвета, красный объект, освещенный зеленым светом, выглядит почти черным. Так как в красном слишком мало зеленого, красный объект поглотит большую часть зеленых фотонов и почти ничего не отразит. Красный очень сильно потеряет в насыщенности и тоне и станет коричневым, серым или даже черным [12]. Освещение зеленым светом ( $\lambda_{\text{max}} = 525$  нм) иммунохроматограмм SEB дает более интенсивный сигнал при ВЦР по сравнению с освещением белым (рис. 2). Показания двух различных приборов, использующих один и тот же принцип обработки сигнала, линейно коррелируют между собой, причем отклик ВЦР сильнее при освещении в зеленом спектральном диапазоне (рис. 3). Те же зависимости наблюдаются при анализе искусственно контаминированных молочных продуктов после проведения подготовки проб к иммунохроматографическому анализу (табл. 2). Обобщенные данные по чувствительности выявления SEB в молочных продуктах ВЦР при освещении иммунохроматограмм в различных спектральных диапазонах приведены на диаграмме (рис. 4). Осуществление ВЦР иммунохроматограмм молочных продуктов, содержащих энтеротоксин, при освещении белым светом повышает чувствительность выявления SEB в 4 раза, а при освещении в зеленом диапазоне спектра — в 4–8 раз по сравнению с визуальной регистрацией.

Можно ожидать, что закономерности по выявлению SEB в молочной продукции будут сохраняться и при анализе SEA, учитывая схожую структуру этих белков.

Матрица, в которой находится анализируемое соединение, оказывает существенное влияние на возможность проведения иммунохроматографического анализа и чувствительность [13, 14]. Для получения подходящего результата необходимо сконцентрировать белковый энтеротоксин в гидрофильной фазе невысокой вязкости с оптимальным для проведения иммунохимического взаимодействия pH = 5,5–7,0. Такая фаза будет хорошо перемещаться по нитроцеллюлозной мембране ИХТ и

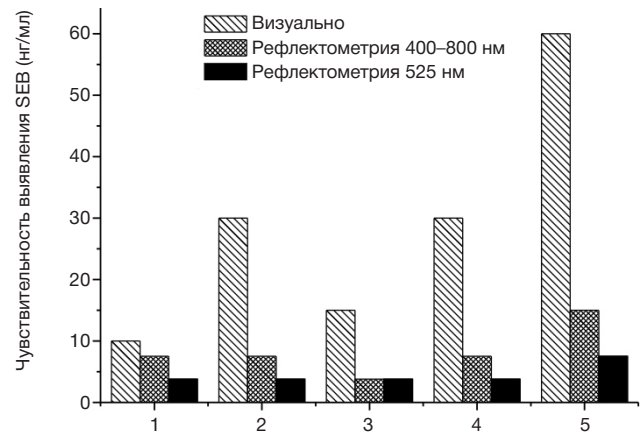


Рис. 4. Диаграмма, отражающая чувствительность выявления SEB в молочных продуктах при визуальной и приборной регистрации результатов анализа с помощью рефлектометра-флуориметра «Зондаж». 1 — раствор SEB в буфере анализа; 2 — молоко 3,2% жирности; 3 — сливки 10% жирности; 4 — сметана 10% жирности; 5 — сыр 50% жирности.

обеспечит иммунохимическое связывание реагентов. Для молочных продуктов необходимо отделение сыворотки, содержащей белки, в том числе и стафилококковый энтеротоксин, от глобул молочного жира путем центрифугирования. При низком содержании жира в продукте возможен его прямой анализ без подготовки пробы. Так, результаты анализа молока 3,2% жирности с проведенной подготовкой пробы и без нее практически не отличались. Тем не менее пробоподготовка за счет разбавления образца и неполной экстракции токсина в гидрофильную фазу снижает общую чувствительность анализа.

Полученные нами результаты подтверждают возможность применения ИХТ для выявления стафилококковых энтеротоксинов в молочных продуктах, а чувствительность выявления стафилококкового энтеротоксина, достигнутая с применением ВЦР, составляет 3,8–7,5 нг/мл. Эти величины позволяют проводить анализ, удовлетворяющий нормативным требованиям к содержанию энтеротоксинов в продуктах питания не более 100 нг/г продукта.

## Выводы

Разработаны ИХТ на основе МКА для выявления SEA и SEB с чувствительностью 10 нг/мл для каждого токсина при проведении иммунохроматографии в буферных растворах в течение 25 мин (визуальная оценка результата). ИХТ не дают перекрестных реакций при анализе энтеротоксинов типа А и В при 100-кратном превышении концентрации токсина другого типа. 3. Осуществление ВЦР иммунохроматограмм молочных продуктов, содержащих энтеротоксин, при освещении белым светом повышает чувствительность выявления SEB в 4 раза, а при освещении в зеленом диапазоне спектра — в 4–8 раз по сравнению с визуальной регистрацией.

## Литература

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*. 2010; 2 (8): 2177–97. DOI: 10.3390/toxins 2082177.
2. Savini F, Romano A, Giacometti F, Indio V, Pitti M, Decastelli L, et al. Investigation of a Staphylococcus aureus sequence type 72 food poisoning outbreak associated with food-handler contamination in Italy. *Zoonoses Public Health*. 2023; 70: 411–9.
3. Goudsmit A, Markowicz S, Lali S-E, Cherif1 S. Food poisoning due to a TSST1-producing Staphylococcus aureus. *ID Cases*. 2021; DOI: 10.1016/j.idcr.2021.e01272.
4. МУК 4.2.2429-08 «Метод определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах» [последнее цитирование 4 июля 2023 г.]. Доступно по ссылке: <https://files.stroyinf.ru/>

- Data2/1/4293829/4293829076.htm#i183860/.
5. МУК 4.2.2879-11 «Методы определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах». Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2429-08 [последнее цитирование 4 июля 2023 г.]. Доступно по ссылке: <https://files.stroyinf.ru/Data2/0/4294809/4294809581.htm>.
  6. Bennett RW, Halt JM. Bacterial Analytical Manual online. US Food and Drug Administration. 2011 [cited 2023 July 6]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>].
  7. Любавина И. А., Бровко Ф. А., Валякина Т. И., Вертиев Ю. В., Гришин Е. В. Методы экспресс-анализа стафилококкового энтеротоксина А в продуктах питания. *Биоорганическая химия*. 2014; 40(2): 186–95. DOI: 10.7868/S0132342314020109.
  8. Еремкин А. В., Ипатов С. С., Куклина Г. В., Печёнкин Д. В., Кытманов А. А., Тихвинская О.В., и др. Разработка иммуноферментных тест-систем и иммунохроматографических наборов реагентов, предназначенных для выявления стафилококковых энтеротоксинов типов А и В. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2: 94–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-94-99.
  9. Ярков С. П., Третьяков С. И., Шаулина Е. К., Бровкина А. Н., Храмов Е. Н. Повышение чувствительности иммунохроматографических тестов для выявления возбудителя сибирской язвы и стафилококкового энтеротоксина типа В на основе усиления серебром и инструментальной регистрации. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21 (3): 455–63.
  10. Ярков С. П., Третьяков С. И. Иммунохроматографический анализ для выявления стафилококкового энтеротоксина типа В с использованием бифункциональных наночастиц золота. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2021; 10 (112): 113–20. DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.019.
  11. Урусов А. Е., Жердев А. В., Старовойтова Т. А., Венгеров Ю. Ю., Дзантиев Б. Б. Приборная регистрация иммунохроматографических экспресс-тестов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (3): 173–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-173-179.
  12. Артюшин Л. Ф. Основы воспроизведения цвета в фотографии, кино и полиграфии. М.: Искусство, 1970; 548 с.
  13. Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 55: 81–93.
  14. Zherdev AV, Dzantiev BB. Ways to reach lower detection limits of lateral flow immunoassays. *Journal of Analytical Chemistry*. 2022; 77 (4): 298–311. DOI: 10.5772/intechopen.76926.

## References

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. *Toxins*. 2010; 2 (8): 2177–97. DOI: 10.3390/toxins 2082177.
2. Savini F, Romano A, Giacometti F, Indio V, Pitti M, Decastelli L, et al. Investigation of a Staphylococcus aureus sequence type 72 food poisoning outbreak associated with food-handler contamination in Italy. *Zoonoses Public Health*. 2023; 70: 411–9.
3. Goudsmit A, Markowicz S, Lali S-E, Cherif1 S. Food poisoning due to a TSST1-producing Staphylococcus aureus. *ID Cases*. 2021; DOI: 10.1016/j.idcr.2021.e01272.
4. МУК 4.2.2429-08 «Метод определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах» [cited 2023 July 4]. Available from: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293829/4293829076.htm#i183860/>. Russian.
5. МУК 4.2.2879-11 «Методы определения стафилококковых энтеротоксинов в пищевых продуктах». Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2429-08 [cited 2023 July 4]. Available from: <https://files.stroyinf.ru/Data2/0/4294809/4294809581.htm>. Russian.
6. Bennett RW, Halt JM. Bacterial Analytical Manual online. US Food and Drug Administration. 2011 [cited 2023 July 6]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>].
7. Lyubavina IA, Brovko FA, Valyakina TI, Vertiev YuV, Grishin EV. Metody ekspress-analiza stafilokokkovogo enterotoksina A v produktakh pitaniya. *Bioorganicheskaya khimiya*. Russian.
8. Eremkin AV, Ipatov SS, Kuklina GV, Pechenkin DV, Kytmanov AA, Tikhvinskaya OV, et al. Development of Elisa Test-Systems and Immune-Chromatographic Reagent Panel Designed for the Detection of Staphylococcal Enterotoxins of A and B Types. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021; 2: 94–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-94-99. Russian.
9. Yarkov SP, Tretyakov SI, Shaulina EK, Brovkina AN, Khramov EN. Elevation the sensitivity of immunochromatographic tests to identify the causative agent of anthrax and staphylococcal enterotoxin type b based on silver amplification and instrumental recording. *Extreme Medicine*. 2019; 21 (3):455–63. Russian.
10. Yarkov SP, Tretyakov SI. Lateral flow test for the detection of staphylococcal enterotoxin type b using bifunctional gold nanoparticles. *International research journal*. 2021; 10 (112): 113–20. DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.019. Russian.
11. Urusov AE, Jerdev AV, Starovoitova TA, Vengerov YuYu, Dzantiev BB. The device registration of immune chromatographic express-tests. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2016; 61 (3): 173–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-173-179. Russian.
12. Artyushin LF. Osnovy' vosproizvedeniya czveta v fotografii, kino i poligrafii. M.: Iskusstvo, 1970; 548 s. Russian.
13. Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 55: 81–93.
14. Zherdev AV, Dzantiev BB. Ways to reach lower detection limits of lateral flow immunoassays. *Journal of Analytical Chemistry*. 2022; 77 (4): 298–311. DOI: 10.5772/intechopen.76926.

## ПОРАЖЕНИЕ СЕРДЦА У ЮНЫХ ЭЛИТНЫХ СПОРТСМЕНОВ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

Л. М. Макаров<sup>1,2,3</sup>✉, В. Н. Комолятова<sup>1,2</sup>, И. И. Киселева<sup>1</sup>, Д. А. Беспорточный<sup>1</sup>, А. Г. Акопян<sup>1</sup>, А. В. Дмитриева<sup>1</sup>, Н. В. Аксенова<sup>1</sup><sup>1</sup> Федеральный научно-клинический центр детей и подростков Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия<sup>2</sup> Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения России, Москва, Россия<sup>3</sup> Академия постдипломного образования Федерального научно-клинического центра Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Влияние коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) на состояние сердца у несовершеннолетних спортсменов остается неопределенным. Целью работы было определение поражения сердца юных элитных спортсменов, перенесших инфекции COVID-19 (SARS-CoV-2). Проведен ретроспективный анализ результатов разработанного трехэтапного медицинского обследования 236 элитных спортсменов 14–17 (16 ± 1) лет, перенесших инфекцию SARS-CoV-2. Первый этап обследования включал осмотр, ЭКГ, ЭХО-КГ, велоэргометрию (ВЭМ), оценку КФК и КФК-МВ. В связи с выявленными изменениями 22-м спортсменам (9,3%) на втором этапе проводили более углубленное обследование, включающее холтеровское мониторирование (ХМ) с оценкой турбулентности ритма сердца (ТРС), микровольтной альтернации Т-зубца (МАТ) и вариабельности ритма сердца (ВРС), ЭКГ высокого разрешения (ЭКГ ВР), определение биохимических маркеров поражения миокарда: тропонин, NTproBNP. Семь спортсменов (32%) с выявленными на этом этапе изменениями были направлены на проведение магнитно-резонансной томографии (МРТ) сердца с контрастированием гадолинием (третий этап). По ее результатам в четырех случаях (1,7% из 236) был поставлен диагноз миоперикардит. Таким образом, отмечена низкая (менее 2%) вовлеченность поражения миокарда у юных элитных спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2. Разработан алгоритм обследования сердца таких спортсменов. Наиболее информативно выявление аритмий сердца с помощью ЭКГ, ВЭМ и ХМ. Дополнительными методами определения показаний к МРТ сердца как золотому стандарту диагностики миокардита могут быть методы ЭКГ ВР, ВРС, ТРС и МАТ.

**Ключевые слова:** коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, миокардит, юные элитные спортсмены, неинвазивная электрокардиология**Финансирование:** исследование выполнено по гранту № 37В/ЦСМ ФМБА России/22 от 10.08.2022.**Вклад авторов:** Л. М. Макаров — концепция и дизайн исследования, написание текста рукописи, формулировка выводов; В. Н. Комолятова — анализ данных с помощью статистических и математических методов, сбор данных литературы, формулировка выводов; И. И. Киселева — клиническое обследование спортсменов, сбор данных литературы; Д. А. Беспорточный — проведение инструментальных исследований, работа с графическим материалом; А. Г. Акопян, А. В. Дмитриева — проведение инструментальных исследований; Н. В. Аксенова — отбор групп обследования.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 217 от 18 апреля 2022 г.), проведено в соответствии с требованиями Основ законодательства «Об охране здоровья граждан»; все участники подписали информированное согласие на обследование.✉ **Для корреспонденции:** Леонид Михайлович Макаров  
Москворечье, д. 20, г. Москва, 115409, Россия; dr.leonidmakarov@mail.ru**Статья получена:** 27.07.2023 **Статья принята к печати:** 23.08.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023**DOI:** 10.47183/mes.2023.042

## HEART DISEASE IN YOUNG ELITE ATHLETES HAVING A HISTORY OF COVID-19

Makarov LM<sup>1,2,3</sup>✉, Komolyatova VN<sup>1,2</sup>, Kiselyova II<sup>1</sup>, Besportochny DA<sup>1</sup>, Akopyan AG<sup>1</sup>, Dmitrieva AV<sup>1</sup>, Aksyonova NV<sup>1</sup><sup>1</sup> Federal Scientific and Clinical Center for Children and Adolescents of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia<sup>3</sup> Academy of Postgraduate Education, Federal Scientific and Clinical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

The impact of coronavirus infection (SARS-CoV-2) on cardiac output in underage athletes is uncertain. The study was aimed to determine heart disease in young elite athletes having a history of COVID-19 (SARS-CoV-2). A retrospective analysis of the results of the developed three-phase medical assessment of 236 elite athletes aged 14–17 (16 ± 1), who had had SARS-CoV-2 infection, was performed. The first phase of assessment involved examination, ECG, ECHO, bicycle ergometry (BEM), creatine kinase and creatine kinase MB tests. During the second phase 22 athletes (9.3%) underwent a more thorough assessment that included Holter monitoring (HM) with heart rate turbulence (HRT), microvolt T-wave alternans (MTWA), heart rate variability (HRV) estimation, signal averaged ECG (SAECG), determination of myocardial damage biochemical markers (troponin, NTproBNP) due to alterations revealed. Seven athletes (32%) having alterations revealed during this phase were referred to gadolinium enhancement cardiac magnetic resonance imaging (MRI) (the third phase). Myopericarditis was diagnosed in four cases (1.7% of 236) based on the results. Thus, low myocardial involvement (below 2%) has been revealed in young elite athletes, who have a history of SARS-CoV-2 infection. Cardiovascular assessment algorithm has been developed for such athletes. Detection of cardiac arrhythmias by ECG, BEM, and HM is the most informative. SAECG, HRV, HRT, and MTWA can be used as additional methods to determine indications for MRI as a gold standard of the diagnosis of myocarditis.

**Keywords:** coronavirus infection, SARS-CoV2, myocarditis, young elite athlete, noninvasive electrocardiology**Funding:** the study was supported by grant № 37B/CSM FMBA Rossii/22 of 10.08.2022.**Author contribution:** Makarov LM — study concept and design, manuscript writing, conclusions; Komolyatova VN — data analysis by statistical and mathematical methods, literature data acquisition; Kiselyova II — clinical assessment of athletes, literature data acquisition; Besportochny DA — instrumental assessment, working on graphics; Akopyan AG, Dmitrieva AV — instrumental assessment; Aksyonova NV — selection of populations for assessment.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 217 of 18 April 2022) and conducted in accordance with the framework legislation "On Protection of Public Health"; the informed consent to examination was submitted by all participants.✉ **Correspondence should be addressed:** Leonid M. Makarov  
Moskvorechye, 20, Moscow, 115409, Russia; dr.leonidmakarov@mail.ru**Received:** 27.07.2023 **Accepted:** 23.08.2023 **Published online:** 30.09.2023**DOI:** 10.47183/mes.2023.042

К настоящему времени имеются достаточно многочисленные данные о поражении сердечно-сосудистой системы, прежде всего развитии миокардитов, у больных, перенесших инфекцию COVID-19 (SARS-CoV-2), в том числе у спортсменов [1–6]. Миокардиты, как известно, часто являются причиной внезапной сердечной смерти (ВСС) в спорте [7–9].

Однако данные о распространенности и клинической значимости поражения сердца у спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, сильно различались (от 1,4 до 56%) в зависимости от критериев оценки заболевания, используемых методов диагностики и других аспектов дизайна исследований [3–5]. «Золотым стандартом» выявления поражения сердца после перенесенной инфекции является МРТ сердца [1]. Однако методика является затратной и не может быть проведена в качестве скринингового исследования. Поиск дополнительных маркеров и факторов является крайне актуальной задачей, которая позволит уточнить круг лиц, которым необходимо проведение этой процедуры. Наиболее часто используемым в мире протоколом сердечно-сосудистых тестов после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 является так называемое «триадное» тестирование (ЭКГ, ЭХО-КГ, уровень тропонина) [2–6]. Миокардиты любой этиологии являются одной из основных причин внезапной смерти спортсменов [7–9]. Аномальные результаты «триадного» тестирования, возможно связанные с поражением сердца SARS-CoV-2, были обнаружены с помощью ЭХО-КГ у 24 (0,9%) из 2556, ЭКГ в 12 отведениях — у 21 (0,7%) из 2999 и по уровню тропонина — у 24 (0,9%) из 2719 [10].

Целью данной работы было определение поражения сердца высококвалифицированных (элитных) спортсменов уровня высшего спортивного мастерства, перенесших инфекции COVID-19 (SARS-CoV-2).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Критерии включения в исследование: возраст спортсменов от 14 до 17 лет; наличие информации от спортсменов или медицинских документов о перенесенной инфекции SARS-CoV-2; прохождение кардиологического обследования в рамках углубленного медицинского обследования (УМО) в Центре синкопальных состояний и сердечных аритмий (ЦСССА) ФНКЦ детей и подростков ФМБА России.

Критерии исключения: возраст спортсменов менее 14 и более 17 лет; отсутствие результатов УМО.

На основании критериев включения для проведения ретроспективного анализа результатов обследования сердечно-сосудистой системы было отобрано 236 из 1505 историй болезни юных элитных спортсменов 14–17 ( $16 \pm 1$ ) лет, заявивших о том, что в период с 1 сентября 2021 г. по 31 июня 2022 г. они перенесли инфекцию SARS-CoV-2. Все спортсмены проходили кардиологическое тестирование в рамках углубленного медицинского обследования (УМО) в Центре синкопальных состояний и сердечных аритмий (ЦСССА) ФНКЦ детей и подростков ФМБА России. Срок от перенесенной инфекции до обследования составил от 1 до 6 месяцев.

Программа обследования включала три этапа. На первом этапе всем спортсменам в рамках проведенного углубленного медицинского обследования проводился сбор анамнеза и жалоб, осмотр с измерением артериального давления, аускультация, оценку перкуторных границ сердца, 12-канальную ЭКГ (Mac 5500; GE Healthcare, США), ЭХО-КГ (Vivid T8; GE Healthcare,

США) и велоэргометрию, или ВЭМ (CardioSoft 6.5; GE Healthcare, США), расширенный биохимический профиль. При анализе медицинской документации акцент делался на перенесенную коронавирусную инфекцию, специфические симптомы, которые ее сопровождали (потеря вкуса, обоняния), общие симптомы интоксикации, сопровождавшие инфекцию, длительность повышения температуры тела и течения заболевания, а также учитывались неспецифические для коронавирусной инфекции жалобы на сердцебиение, одышку, снижение спортивных результатов, наличие патологических шумов в сердце, оценка признаков сердечной недостаточности. Анализ проведенной ранее 12-канальной ЭКГ основывался на Seattle [11] и International [12] критериях анализа ЭКГ спортсменов, оценивались нарушения ритма сердца и признаки метаболических и ишемических изменений в миокарде (изменений зубца Т, сегмента ST, интервала QT).

ЭХО-КГ проводили по стандартному протоколу с оценкой сократительной способности миокарда, камер сердца и параметров гемодинамики. Размеры сердца оценивали в перерасчете на площадь поверхности тела и сравнивали с нормальными поло-возрастными значениями с учетом z-score отклонений [13]. ВЭМ проводили по протоколу PWC 170 с анализом показателей ЭКГ и артериального давления на каждой ступени пробы и в период восстановления [14]. В биохимическом профиле у всех спортсменов анализировали уровень КФК и КФК-МВ фракции. Нормативными значениями КФК считали показатели от 26 до 174 Ед/л, КФК-МВ 0–24 Ед/л.

При выявлении патологических отклонений на первом этапе спортсмен переходил на второй этап обследования, который включал дополнительно проведение ЭКГ высокого разрешения (ЭКГ ВР) с определением поздних потенциалов желудочков: tot fQRS (норма — менее 114 мс), Last 40 (норма — более 38 мс) и RMS40 (норма — более 20 Гц) [14], холтеровского мониторирования с оценкой аритмий, динамики показателей реполяризации желудочков (ST-, T-, QT-изменения). При анализе результатов холтеровского мониторирования акцент делался на наличие признаков электрической нестабильности миокарда: снижение вариабельности ритма сердца, или ВРС (показатель менее SDNN 100 мс, pNN50 менее 15%) [15], эпизоды микровольтной альтернации зубца Т (более 55 мкВ) [16], редукции турбулентности ритма сердца (показатель onset более 0% и slope более 6 мс/RR) [17].

На этом этапе дополнительно определяли биохимические маркеры поражения миокарда: уровень тропонина (нормальные значения менее 9 нг/мл) и N-концевого натрийуретического пептида (NT-proBNP, нормальные значения менее 125 пг/мл).

При наличии отклонений на этом этапе обследования спортсмен переходил на третий этап, где проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) сердца с контрастированием гадолинием.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistika for Windows, версия 7.0 (StatSoft; США). Для анализа данных использовали методы непараметрической статистики, достоверными считались различия при значениях  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Алгоритм и результаты использованного трехэтапного обследования несовершеннолетних спортсменов,

**Таблица 1.** Изменения со стороны сердечно-сосудистой системы у несовершеннолетних высокопрофессиональных спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, выявленные на первом этапе обследования (см. рис.). АВБ — атрио-вентрикулярная блокада; ВЭМ — велоэргометрия; ЖЭС — желудочковая экстрасистолия; КДДЛЖ — конечный диастолический диаметр левого желудочка; QTc — скорректированный интервал QT по формуле Базетта QT/RR

Выявленные изменения	л спортсменов (% от всей группы)
Желудочковая экстрасистолия на ЭКГ покоя	2 (0,8%)
АВБ 2-й степени Мобитц 1 на ЭКГ покоя	1 (0,4%)
QTc более 460 мс на ЭКГ покоя	5 (2,1%)
Снижение сократительной способности ЛЖ и увеличение КДДЛЖ	2 (0,8%)
ЖЭС на ВЭМ	18 (7,6%)
Отрицательные зубцы Т на ВЭМ	8 (3,3%)

перенесших инфекцию SARS-CoV-2, представлены на рисунке. У большинства спортсменов коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 протекала в легкой форме, чаще бессимптомно (наличие положительных ПЦР тестов при обследовании перед соревнованиями), только у одного спортсмена развилась пневмония, потребовавшая госпитализации. По данным физикального обследования и осмотра, патологических изменений со стороны сердца выявлено не было ни в одном случае. У 22 (9,3%) спортсменов на первом этапе обследования по данным ЭКГ, ВЭМ и ЭХО-КГ были выявлены изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, которые потребовали более углубленного обследования (табл. 1). У шести спортсменов мы наблюдали сочетания нескольких выявленных нарушений. Нами не отмечено взаимосвязи между тяжестью течения инфекции SARS-CoV-2, по данным анамнеза, и необходимостью проведения второго этапа обследования. Один спортсмен, как было указано выше, был ранее госпитализирован с ковидной пневмонией, однако он не имел поражения сердца при кардиологическом обследовании.

Оценку уровня КФК осуществляли у всех спортсменов на первом этапе обследования. В группе, потребовавшей проведения второго этапа, отмечены достоверно более

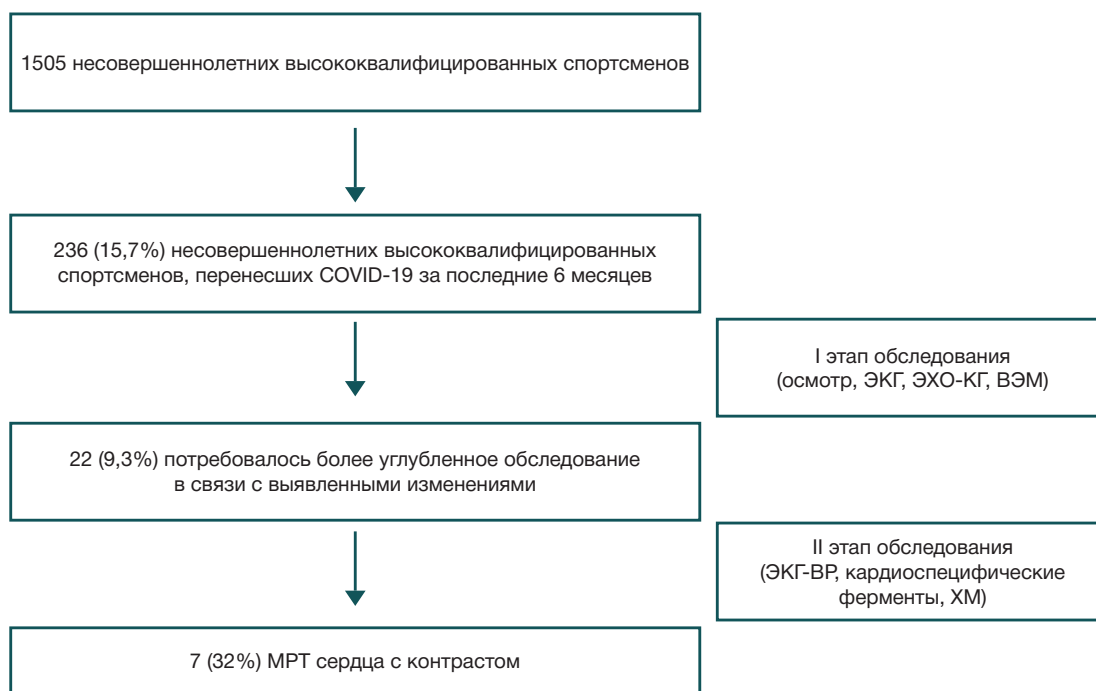
высокие значения как общего КФК (525 [155, 684] vs 325 [74, 422] Ед./л,  $p < 0,05$ ), так и КФК-МВ (27 [5, 34] vs 21 [7, 24] Ед./л,  $p < 0,05$ ). На втором этапе, ни в одном случае не было выявлено увеличение уровня тропонина и натрийуретического пептида (NT-proBNP).

По результатам ЭКГ-ВР у двух (9%) из 22 спортсменов были зарегистрированы поздние потенциалы желудочков по всем 3-м показателям ЭКГ ВР (tot fQRS —  $122 \pm 5$  мс при норме менее 114 мс, Last 40 —  $42 \pm 5$  мс при норме более 38 мс и RMS40 —  $18 \pm 3$  Гц при норме более 20 Гц). Наличие этих признаков электрической нестабильности миокарда позволило предположить возможное течение постковидного миокардита и направить спортсменов на МРТ.

При проведении ХМ практически все спортсмены демонстрировали синусовую брадикардию, и только у 3 (16%) из 22 показатели ЧСС превышали нормативные значения (синусовая тахикардия) [15]. У двух из них отмечено снижение показателей ВРС. У одного спортсмена после месячного периода отдыха показатели ЧСС нормализовались, поэтому синусовая тахикардия, выявленная при ХМ, была расценена как проявление перетренированности. Ни один из 18 спортсменов, имевших нагрузочную желудочковую экстрасистолию на

**Таблица 2.** Результаты 3-го этапа обследования спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2 (МРТ сердца с контрастированием). АВБ — атрио-вентрикулярная блокада; ВРС — вариабельность ритма сердца; ВЭМ — велоэргометрия; ЖТ — желудочковая тахикардия; ЖЭС — желудочковая экстрасистолия; КДДЛЖ — конечный диастолический диаметр левого желудочка; МАТ — микровольтная альтернация Т зубца; МРТ — магнитно-резонансная томография; ТРС — турбулентность ритма сердца; ФВ — фракция выброса; ХМ — холтеровское мониторирование

	Возраст, пол, вид спорта	ЭКГ	ЭХО-КГ	ВЭМ	ХМ	МРТ
1	17, женщины, хоккей на траве	Тахикардия, удлинение интервала (QTc > 460 мс)	Норма	Нарушение реполяризации желудочков, нагрузочная ЖЭС	Тахикардия, нарушения реполяризации желудочков, редкая ЖЭС, редукция ТРС, наличие МАТ	Данные за подострый миоперикардит
2	16, женщины, бадминтон	ЖЭС	Норма	ЖЭС во время исследования	Наличие МАТ, тахикардия, снижение ВРС	Изменений не выявлено
3	16, мужчины, хоккей	АВБ 2-й ст. Мобитц 1	Норма	АВБ 1-й ст. в начале пробы и в период восстановления	Частые эпизоды АВ-блокады 2-й ст. Мобитц 1 и 2	Острый миоперикардит
4	15, мужчины, бокс	Нарушение реполяризации желудочков (депрессия ST до 0,5 мм в V4–V6)	Снижение сократительной способности (ФВ 53%), диастолическая дисфункция	Нарушения реполяризации желудочков усугубляются на нагрузке	Нарушения реполяризации желудочков	Результатов нет
5	16, женщины, волейбол	Удлинение интервала QT (QTc > 460 мс)	Дилатация ЛЖ (КДДЛЖ до 61 мм), ФВ в норме	Норма	Тахикардия, снижение ВРС, АВ-блокады 1-й ст., эпизоды АВБ 2 степени	Данные за острый миокардит
6	15, женщины, спортивная гимнастика	Норма	Норма	Нарушение реполяризации желудочков, нагрузочная ЖЭС	Нарушение реполяризации желудочков, редкая ЖЭС, редукция ТРС	Данные за миоперикардит
7	16, мужчины, плавание	Норма	Норма	Нарушение реполяризации желудочков	Пробегка полиморфной ЖТ, наличие МАТ	Изменений не выявлено



**Рис.** Трехэтапный алгоритм обследования несовершеннолетних высокопрофессиональных спортсменов 14–17 лет, перенесших инфекцию SARS-CoV-2

ВЭМ, не продемонстрировал при ХМ частых желудочковых экстрасистол, представленность экстрасистолии колебалась от единичных до 105 за сутки (менее 1%), и в суточном цикле ассоциировалась с подъемом ЧСС (дневной циркадный тип). У 2 из 18 (11,1%) была выявлена редукция турбулентности ритма сердца — показателя, ассоциированного с злокачественным характером экстрасистолии на фоне возможного поражения миокарда. У одного спортсмена при ХМ в утренние часы была зарегистрирована короткая пробежка неустойчивой желудочковой тахикардии из трех комплексов QRS, что также потребовало проведения МРТ. У трех пациентов с нагрузочной желудочковой экстрасистолией при ХМ регистрировались увеличения значения микровольтной альтернации Т-зубца выше 55 мкВ. У всех восьми спортсменов, продемонстрировавших нарушение процесса реполяризации желудочков (отрицательные зубцы Т) при ВЭМ (табл.1), имелись аналогичные эпизоды и при ХМ, в виде глубоких отрицательных зубцов Т, преимущественно на фоне синусовой тахикардии. Анализ предыдущих обследований у этих атлетов выявил у трех человек (37,5%) схожие изменения при УМО и до перенесенной инфекции, что позволило исключить постковидный характер изменений. В тех случаях, когда нарушения реполяризации желудочков сочетались с нагрузочной желудочковой экстрасистолией, пациенты были направлены на проведение МРТ. Таким образом, после второго этапа обследования семь (32%) из 22 спортсменов были направлены на проведение МРТ сердца с контрастом (табл. 2), которое проведено у шестиб из них. Один спортсмен результаты МРТ не предоставил, его дальнейшая спортивная судьба не известна. У четырех (1,7% из 236) спортсменов по результатам МРТ был диагностирован миоперикардит. У спортсмена с пробежкой неустойчивой желудочковой тахикардии изменений на МРТ выявлено не было. Четверо спортсменов с подтвержденным миокардитом были отстранены от занятий спортом на 6 месяцев, согласно существующим рекомендациям [18].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Осложнения после инфекции SARS-CoV-2 у спортсменов регистрируются во всех системах организма. Самой уязвимой оказалась сердечно-сосудистая система [18]. Однако распространенность и клиническая манифестация поражения сердца у спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, значительно расходятся в разных исследованиях [2–5, 18, 19]. По нашим данным, частота развития воспалительных изменений в миокарде после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции у юных спортсменов оказалась невысокой (1,7%) в сравнении с данными, полученными на выборке взрослых пациентов с тяжелым течением болезни (не спортсменов, средний возраст 64 года, 33% женщины) [20]. По нашим данным, только у одного юного спортсмена наблюдалось снижение сократительной способности левого желудочка; к сожалению, данные рекомендованного ему МРТ нам не были предоставлены. В целом частота выявления определенного или вероятного поражения сердца у молодых спортсменов по некоторым данным составила 2,7% [10], что значительно меньше, чем у взрослых пациентов [1].

Симптомы перенесенной инфекции, как правило, не определяли тяжесть течения и осложнения. Так, в одном из исследований клинически значимые симптомы заболевания отмечали у 27% спортсменов, а миокардиты выявили у 46% [4]. Другие авторы отмечали симптомы в 70–77% случаев, а миокардиты не выявили ни в одном [2, 19]. Схожие данные прослеживаются и в нашем исследовании: среди 236 спортсменов только у одного заболевание протекало в умеренно тяжелой форме, он был госпитализирован с диагнозом пневмония, но впоследствии не имел никаких изменений со стороны сердечно-сосудистой системы, и наоборот, у всех спортсменов с подтвержденным миоперикардитом новая коронавирусная инфекция протекала в легкой форме (только потеря вкуса или обоняния). Сам факт перенесенной новой коронавирусной инфекции не всегда

является причиной выявленных сердечных нарушений, частой причиной этих изменений у юных элитных спортсменов является синдром «перетренированности» [21]. Определить связь выявленных изменений с перенесенной инфекцией порой трудно, часто помогает анализ предыдущих обследований. В нашем исследовании анализ предыдущей документации у трех из восьми атлетов с нарушениями процесса реполяризации на нагрузке позволил исключить коронавирусную инфекцию как причину выявленных изменений. У одной спортсменки (пациент 2; табл. 2) желудочковая экстрасистолия сочеталась с синусовой тахикардией и снижением ВРС, но на МРТ изменений выявлено не было, и после короткого периода отдыха показатели ЧСС и ВРС нормализовались.

Наиболее часто используемым в мире протоколом тестов для выявления поражения сердца после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 является так называемое «триадное» тестирование (ЭКГ, ЭХО-КГ, уровень тропонина) [18]. С этой целью в нашем исследовании на втором этапе проводился анализ уровня тропонина, однако ни в одном случае он не был повышен. Возможно это объясняется тем, что время от момента перенесенной инфекции до обследования составляло 1–6 месяцев. Хотя повышенные значения тропонина могут сохраняться в течение  $52 \pm 17$  дней после перенесенной инфекции [22]. В одном из самых крупных исследований, посвященных анализу течения и влияния на сердце юных спортсменов, перенесших острую коронавирусную инфекцию, аномальные результаты «триадного» тестирования, возможно связанные с поражением сердца после SARS-CoV-2, были обнаружены с помощью ЭХО-КГ у 24 (0,9%) из 2556, ЭКГ в 12 отведениях у 21 (0,7%) из 2999 и по уровню тропонина — у 24 (0,9%) из 2719. У 65 спортсменов был выявлен хотя бы один аномальный тест, у 2 спортсменов было два аномальных теста (ЭКГ и ЭХО-КГ), и ни у одного спортсмена не было отклонений во всех трех тестах [10]. На основании «триадного» теста и проведенного МРТ миокардит был выявлен у 81 (2,7%) спортсмена после перенесенной SARS-CoV-2 инфекции, а у 56 (1,9%) спортсменов выявленные изменения были не связаны с перенесенной инфекцией. «Триадный» тест оказался высокочувствительным маркером поражения сердца у пациентов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию (ОШ: 37,4; ДИ: 13,3–105,3) в данном исследовании [10]. Мы считаем, что «триадный» тест может быть полезен для выявления поражения сердца у спортсменов, так как в нашем исследовании у 75% с подтвержденным миокардитом были выявлены патологические изменения на ЭКГ и у 25% при ЭХО-КГ. Еще одно исследование у спортсменов, перенесших COVID-19, показало, что информативность МРТ в 7,4 раза превосходила другие тесты в выявлении поражения сердца [23]. Однако ценность МРТ исследования как массового скрининга всех спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, является на сегодня неизвестной [18].

В нашем исследовании наиболее информативными тестами для выявления поражения сердца до МРТ были ЭКГ, ВЭМ и ХМ (табл.1). В качестве дополнительных информативных методов, по нашему мнению, могут использоваться такие методы неинвазивной электрокардиологии, как ЭКГ ВР и исследование турбулентности и вариабельности ритма сердца.

Более широкое использование методики МРТ и дополнительных методик в обследовании спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, позволит более точно определить распространенность поражения сердца в этой группе, так как вопрос об эффективности и информативности скринингового МРТ у всех спортсменов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, по сравнению с исследованием по конкретным показаниям является пока дискуссионным [10]. Многообразие клинических проявлений, отсутствие тесных ассоциаций между тяжестью перенесенной инфекции и развитием осложнений вызывают множество вопросов о возможности допуска спортсменов, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию, к занятиям спортом.

Ограничениями исследования являются его ретроспективный дизайн, с отсутствием возможности сравнения оценки уровня антител к SARS-CoV-2 и ПЦР тестов в начале заболевания с последующими выявленными изменениями, короткий период наблюдения, не позволяющий оценить продолжительный катамнез. В анализ не включалась связь заболевания с антропометрическими данными спортсменов, спортивным стажем, этапами тренировочного процесса, предшествующими травмами и др., что может быть предметом рассмотрения в последующих исследованиях.

## ВЫВОДЫ

Среди несовершеннолетних высококвалифицированных спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, отмечается низкая распространенность (до 2%) поражения сердца после инфекции. Разработан трехэтапный алгоритм обследования сердечно-сосудистой системы спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2. Наиболее информативным для определения возможного поражения сердца у юных спортсменов, перенесших SARS-CoV-2, явилось выявление аритмий сердца с помощью ЭКГ, велоэргометрии или холтеровского мониторирования. Дополнительными методами определения показаний к МРТ могут быть выявление поздних потенциалов желудочков на ЭКГ высокого разрешения и снижение вариабельности и турбулентности ритма сердца, наличие микровольтной альтернации зубца Т. «Золотым стандартом» диагностики поражения миокарда у несовершеннолетних высококвалифицированных спортсменов, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, является МРТ сердца с контрастированием гадолинием. Однако ценность данного метода как обязательного скрининга всех переболевших спортсменов остается дискуссионной.

## Литература

1. Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, et al. COVID-19 and Cardiovascular Disease. *Circulation*. 2020; 141: 1648–55.
2. Brito D, Meester S, Yanamala N, Patel HB, Balcik BJ, Casaclang-Verzosa G, et al. High prevalence of pericardial involvement in college student athletes recovering from COVID-19. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2021; 14: 541–55.
3. Clark DE, Parikh A, Dendy JM, Diamond AB, George-Durrett K, Fish FA, et al. COVID-19 myocardial pathology evaluation in athletes with cardiac magnetic resonance (COMPETE CMR). *Circulation*. 2021; 143: 609–12.



4. Rajpal S, Tong MS, Borchers J, Zareba KM, Obarski TP, Simonetti OP, et al. Cardiovascular magnetic resonance findings in competitive athletes recovering from COVID-19 infection. *JAMA cardiology*. 2021; 6: 116–8.
5. Starekova J, Bluemke DA, Bradham WS, Eckhardt LL, Grist TM, Kusmirek JE, et al. Evaluation for myocarditis in competitive student athletes recovering from coronavirus disease 2019 with cardiac magnetic resonance imaging. *JAMA Cardiology*. 2021; 6 (8): 945–50.
6. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, Fahim M, Arendt C, Hoffmann J, et al. Outcomes of cardiovascular magnetic resonance imaging in patients recently recovered from coronavirus disease 2019 (COVID- 19). *JAMA Cardiology*. 2020; 5: 1265–73.
7. Makarov L. Sudden cardiac death in young athletes. In: P. Magnusson, J.A. LeQuang, editors. *Sudden Cardiac Death*. IntechOpen (London, UK). 2020; 51–62. DOI: 10.5772/intechopen.90627.
8. Harmon KG, Asif IM, Maleszewski JJ, Owens DS, Prutkin JM, Salerno JC, et al. Incidence, cause, and comparative frequency of sudden cardiac death in national collegiate athletic association athletes: A decade in review. *Circulation*. 2015; 132: 10–19.
9. Peterson DF, Kucera K, Thomas LC, Maleszewski J, Siebert D, Lopez-Anderson M, et al. Etiology and incidence of sudden cardiac arrest and death in young competitive athletes in the USA: a 4-year prospective study. *Br J Sports Med*. 2021; 55 (21): 1196–203.
10. Moulson N, Petek BJ, Drezner JA, Harmon KG, Kliethermes SA, Patel MR, et al. Outcomes Registry for Cardiac Conditions in Athletes Investigators. SARS-CoV-2 cardiac involvement in young competitive athletes. *Circulation*. 2021; 144: 256–66.
11. Drezner J, Ackerman M, Anderson J, Ashley E, Asplund G, Baggish A, et al. Electrocardiographic interpretation in athletes: the 'Seattle criteria'. *Br J Sports Med*. 2013; 47 (3): 122–4.
12. Sharma S, Drezner J, Baggish A, Papadakis M, Wilson M, Prutkin J, et al. International Recommendations for Electrocardiographic Interpretation in Athletes. *JACC*. 2017; 69 (8): 1057–75.
13. Kampmann C, Wiethoff CM, Wenzel A, Stolz G, Betancor M, Wippermann CF, et al. Normal values of M mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart*. 2000; 83 (6): 667–72.
14. Макаров Л. М. ЭКГ в педиатрии. 3-е издание. М.: Медпрактика-М, 2013; 696 с.
15. Макаров Л. М., Комолятова В. Н., Куприянова О. О., Первова Е. В., Рябыкина Г. В., Соболев А. В., и др. Национальные российские рекомендации по применению методики холтеровского мониторирования в клинической практике. *Российский кардиологический журнал*. 2014; (2): 6–71.
16. Makarov L, Komoliatova V. Microvolt T-wave alternans during Holter monitoring in children and adolescents. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2010; 15 (2): 138–44.
17. Макаров Л. М. Холтеровское мониторирование. 4-е издание. М.: Медпрактика-М, 2017; 504 с.
18. Gluckman TJ, Bhavane NM, Allenet LA, Chung EH, Spatz ES, et al. ACC expert consensus decision pathway on cardiovascular sequelae of COVID-19 in adults: myocarditis and other myocardial involvement, post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection, and return to play: a report of the American College of Cardiology solution set oversight committee. *J Am Coll Cardiol*. 2022; 79: 1717–56.
19. Małek ŁA, Marczak M, Miłośz-Wieczorek B, Konopka M, Braksator W, Drygas W, et al. Cardiac involvement in consecutive elite athletes recovered from Covid-19: a magnetic resonance study. *J Magn Reson Imaging*. 2021; 53: 1723–9.
20. Daher A, Balfanz P, Cornelissen C, et al. Follow up of patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): pulmonary and extrapulmonary disease sequelae. *Respir Med*. 2020; 174: 106197.
21. Макаров Л. М., Комолятова В. Н., Аксенова Н. В. Анализ причин отводов от занятий спортом юных элитных спортсменов. *Рос. вестн. перинатол. и педиатр*. 2020; 65: (6): 65–71.
22. Hanneman K, Houbois C, Schoffel A, et al. Combined cardiac fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/magnetic resonance imaging assessment of myocardial injury in patients who recently recovered from COVID-19. *JAMA Cardiol*. 2022; 7 (3): 298–308.
23. Daniels CJ, Rajpal S, Greenshields JT, Rosenthal GL, Chung EH, Terrin M, et al. Prevalence of clinical and subclinical myocarditis in competitive athletes with recent SARS-CoV-2 infection results from the big ten COVID-19 cardiac registry. *JAMA Cardiology*. 2021; 6 (9): 1078–87.

## References

1. Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, et al. COVID-19 and Cardiovascular Disease. *Circulation*. 2020; 141: 1648–55.
2. Brito D, Meester S, Yanamala N, Patel HB, Balcik BJ, Casaclang-Verzosa G, et al. High prevalence of pericardial involvement in college student athletes recovering from COVID-19. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2021; 14: 541–55.
3. Clark DE, Parikh A, Dendy JM, Diamond AB, George-Durrett K, Fish FA, et al. COVID-19 myocardial pathology evaluation in athletes with cardiac magnetic resonance (COMPETE CMR). *Circulation*. 2021; 143: 609–12.
4. Rajpal S, Tong MS, Borchers J, Zareba KM, Obarski TP, Simonetti OP, et al. Cardiovascular magnetic resonance findings in competitive athletes recovering from COVID-19 infection. *JAMA cardiology*. 2021; 6: 116–8.
5. Starekova J, Bluemke DA, Bradham WS, Eckhardt LL, Grist TM, Kusmirek JE, et al. Evaluation for myocarditis in competitive student athletes recovering from coronavirus disease 2019 with cardiac magnetic resonance imaging. *JAMA Cardiology*. 2021; 6 (8): 945–50.
6. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, Fahim M, Arendt C, Hoffmann J, et al. Outcomes of cardiovascular magnetic resonance imaging in patients recently recovered from coronavirus disease 2019 (COVID- 19). *JAMA Cardiology*. 2020; 5: 1265–73.
7. Makarov L. Sudden cardiac death in young athletes. In: P. Magnusson, J.A. LeQuang, editors. *Sudden Cardiac Death*. IntechOpen (London, UK). 2020; 51–62. DOI: 10.5772/intechopen.90627.
8. Harmon KG, Asif IM, Maleszewski JJ, Owens DS, Prutkin JM, Salerno JC, et al. Incidence, cause, and comparative frequency of sudden cardiac death in national collegiate athletic association athletes: A decade in review. *Circulation*. 2015; 132: 10–19.
9. Peterson DF, Kucera K, Thomas LC, Maleszewski J, Siebert D, Lopez-Anderson M, et al. Etiology and incidence of sudden cardiac arrest and death in young competitive athletes in the USA: a 4-year prospective study. *Br J Sports Med*. 2021; 55 (21): 1196–203.
10. Moulson N, Petek BJ, Drezner JA, Harmon KG, Kliethermes SA, Patel MR, et al. Outcomes Registry for Cardiac Conditions in Athletes Investigators. SARS-CoV-2 cardiac involvement in young competitive athletes. *Circulation*. 2021; 144: 256–66.
11. Drezner J, Ackerman M, Anderson J, Ashley E, Asplund G, Baggish A, et al. Electrocardiographic interpretation in athletes: the 'Seattle criteria'. *Br J Sports Med*. 2013; 47 (3): 122–4.
12. Sharma S, Drezner J, Baggish A, Papadakis M, Wilson M, Prutkin J, et al. International Recommendations for Electrocardiographic Interpretation in Athletes. *JACC*. 2017; 69 (8): 1057–75.
13. Kampmann C, Wiethoff CM, Wenzel A, Stolz G, Betancor M, Wippermann CF, et al. Normal values of M mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart*. 2000; 83 (6): 667–72.
14. Makarov LM. ECG v pediatrii. 3-e izdanie. M.: Medpraktika-M, 2013; 696 s. Russian.
15. Makarov LM, Komoliatova VN, Kuprijanova OO, Pervova EV, Rjabykina GV, Sobojev AV, i dr. Nacional'nye rossijskie rekomendacii po primeneniju metodiki holterovskogo monitorirovanija v klinicheskoj praktike. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*. 2014;

- (2): 6–71. Russian.
16. Makarov L, Komoliatova V. Microvolt T-wave alternans during Holter monitoring in children and adolescents. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2010; 15 (2): 138–44.
  17. Makarov LM. *Holterovskoe monitorirovanie.* 4-e izdanie. M.: Medpraktika-M, 2017; 504 s. Russian.
  18. Gluckman TJ, Bhave NM, Allenet LA, Chung EH, Spatz ES, et al. ACC expert consensus decision pathway on cardiovascular sequelae of COVID-19 in adults: myocarditis and other myocardial involvement, post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection, and return to play: a report of the American College of Cardiology solution set oversight committee. *J Am Coll Cardiol.* 2022; 79: 1717–56.
  19. Małek ŁA, Marczak M, Miłosz-Wieczorek B, Konopka M, Braksator W, Drygas W, et al. Cardiac involvement in consecutive elite athletes recovered from Covid-19: a magnetic resonance study. *J Magn Reson Imaging.* 2021; 53: 1723–9.
  20. Daher A, Balfanz P, Cornelissen C, et al. Follow up of patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): pulmonary and extrapulmonary disease sequelae. *Respir Med.* 2020; 174: 106197.
  21. Makarov LM, Komolyatova VN, Aksenova NV. Analiz prichin otvodov ot zanjatij sportom junyh jelitnyh sportsmenov. *Ros. vestn. perinatol. i pediatr.* 2020; 65: (6): 65–71. Russian.
  22. Hanneman K, Houbois C, Schoffel A, et al. Combined cardiac fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/magnetic resonance imaging assessment of myocardial injury in patients who recently recovered from COVID-19. *JAMA Cardiol.* 2022; 7 (3): 298–308.
  23. Daniels CJ, Rajpal S, Greenshields JT, Rosenthal GL, Chung EH, Terrin M, et al. Prevalence of clinical and subclinical myocarditis in competitive athletes with recent SARS-CoV-2 infection results from the big ten COVID-19 cardiac registry. *JAMA Cardiology.* 2021; 6 (9): 1078–87.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ «ПРЕДСТАРТОВОГО» СОСТОЯНИЯ СПОРТСМЕНА С ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКЦИЕЙ НА СТАНДАРТИЗИРОВАННУЮ НАГРУЗКУ

А. Е. Чиков<sup>1,2</sup> ✉, А. Л. Куцало<sup>1</sup>, А. Д. Киселев<sup>1</sup>, В. В. Владимиров<sup>1</sup>, М. В. Крылова<sup>1</sup>, Д. С. Медведев<sup>3</sup>, Д. И. Каплун<sup>4</sup>, И. И. Шпаковская<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» имени В. И. Ульянова (Ленина), Санкт-Петербург, Россия

Интенсивная физическая работа характеризуется активностью физиологических механизмов как взаимосвязанных компонентов, объединенных для выполнения физической нагрузки. Определение набора индивидуально-типологических паттернов активности физиологических механизмов отвечает на вопросы, связанные с повышением эффективности реализации потенциала спортсмена, определением лимитирующих звеньев и резервных возможностей организма, управлением тренировочной нагрузкой. Целью работы было изучение взаимосвязи реакции физиологических механизмов при выполнении стандартизированной физической нагрузки с показателями «предстартового» состояния. Для исследования физиологических закономерностей спортсмен выполнял ступенчато-возрастающий тест на беговой дорожке с фиксацией показателей газообмена, частоты сердечных сокращений. Расчет показателей физиологических реакций производили относительно ключевых фаз нагрузочного тестирования: «предстартового» состояния, аэробного и анаэробного порогов, пика нагрузки, фаз быстрого и медленного восстановления. С использованием алгоритмов понижения размерности T-SNE была разработана математическая модель «Подкова\_покоя», характеризующая «предстартовое» состояние спортсмена перед выполнением теста. Модель позволяет оценить уровень выделения неметаболического CO<sub>2</sub> за весь период тестирования (MIC — 0,29) и за период нагрузки (MIC — 0,35).

**Ключевые слова:** спортсмен, физическая нагрузка, «предстартовое» состояние, моделирование энергообеспечения, порог анаэробного обмена, физиологическая реакция, стандартизированная нагрузка

**Вклад авторов:** А. Е. Чиков — анализ результатов исследования; А. Д. Киселев, В. В. Владимиров — подготовка текста статьи, анализ литературных источников; А. Л. Куцало, Д. С. Медведев — обсуждение результатов исследования, подготовка текста статьи; М. В. Крылова — подготовка данных к анализу; Д. И. Каплун, И. И. Шпаковская — обработка данных, разработка модели предстартового состояния.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (протокол № 2 от 01 марта 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Александр Евгеньевич Чиков  
ул. Заводская, зд. 6/2, корп. 93, гп. Кузьмоловский, 188663, Россия; chikov.alexandr@yandex.ru

**Статья получена:** 21.08.2023 **Статья принята к печати:** 17.09.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.037

## RELATIONSHIP BETWEEN THE ATHLETE'S PRE-START STATE PARAMETERS AND PHYSIOLOGICAL RESPONSE TO STANDARDIZED LOAD

Chikov AE<sup>1,2</sup> ✉, Kutsalo AL<sup>1</sup>, Kiselev AD<sup>1</sup>, Vladimirov VV<sup>1</sup>, Krylova MV<sup>1</sup>, Medvedev DS<sup>3</sup>, Kaplun DI<sup>4</sup>, Shpakovskaya II<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Saint Petersburg Electrotechnical University "LETI", Saint Petersburg, Russia

Intense physical work is characterized by activity of physiological mechanisms as interrelated components joint for physical exertion. Definition of a set of individual and typological patterns of the physiological mechanisms' activity answers the questions related to improvement of the athlete's potential realization efficiency, definition of the limiting components and body's reserve capacity, training load management. The study was aimed to assess the relationship between the responses of physiological mechanisms associated with standardized physical exertion and the pre-start state parameters. The athlete was through the step incremental test with the treadmill involving recording of the gas exchange parameters and heart rate to study physiological patterns. The physiological response parameters were calculated relative to the key phases of the exercise test: pre-start state, aerobic and anaerobic thresholds, peak exertion, rapid and slow recovery phases. The mathematical model "Horseshoe of Rest" characterizing the athlete's pre-start state before performing the test was constructed using the T-SNE dimensionality reduction algorithms. The model enables estimation of the release of non-metabolic CO<sub>2</sub> throughout the testing period (MIC — 0.29) and the exertion period (MIC — 0.35).

**Keywords:** athlete, physical activity, pre-start state, modeling of energy supply, threshold of anaerobic metabolism, physiological response, standardized load

**Author contribution:** Chikov AE — analysis of the results; Kiselev AD, Vladimirov VV — manuscript writing, literature review; Kutsalo AL, Medvedev DS — discussion of the results, manuscript writing; Krylova MV — data preparation for analysis; Kaplun DI, Shpakovskaya II — data processing, constructing the pre-start state model.

**Compliance with the ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of FMBA of Russia (protocol № 2 of 1 March 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexander E. Chikov  
Zavodskaja, zd. 6/2, korp. 93, gp. Kuzmolovskij, 188663, Russia; chikov.alexandr@yandex.ru

**Received:** 21.08.2023 **Accepted:** 17.09.2023 **Published online:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.037

Регулярная, значительная по объему и интенсивности мышечная работа обеспечивается согласованной активностью различных физиологических механизмов, отражающих системный характер реакции на нагрузку [1–3]. Под физиологическими механизмами и их реакциями в данном контексте понимается совокупность взаимосвязанных компонентов и их ответ на выполнение стандартизированной возрастающей нагрузки «до отказа». Каждый физиологический механизм имеет однотипную архитектуру и отличается характеристиками входящих в его состав компонентов, к которым, по нашему мнению, целесообразно отнести источники энергообеспечения (аэробные, лактатные и алактатные пути ресинтеза АТФ) и факторы их реализации, характеризующие динамическую, процессуальную сторону энергообеспечения (мощность, емкость, скорость развертывания и переключения между различными путями ресинтеза АТФ). Эти физиологические механизмы обеспечивают ведущую функциональную систему (ВФС), реализующую специализированную целенаправленную деятельность на уровне целостного организма [4, 5]. Для выполнения деятельности требуется должный (зависит от характеристик нагрузки) уровень физиологических резервов организма. Производство энергии обеспечивается согласованной работой сердечно-сосудистой, дыхательной, мышечной, нервной систем, системой крови и др. [6]. Только при должном уровне производства энергии можно обеспечить требуемую интенсивность физической работоспособности [7, 8]. Определение набора индивидуально-типологических паттернов активности физиологических механизмов, обеспечивающих выполнение мышечной работы, позволяет ответить на целый ряд принципиально важных вопросов, связанных с повышением эффективности реализации потенциала спортсмена, определением лимитирующих звеньев и резервных возможностей организма, управлением тренировочной нагрузкой с целью сохранения здоровья и профессионального долголетия [9–11]. В связи со сложной организацией физиологических закономерностей при выполнении мышечной работы представляется перспективным изучение их с использованием математического моделирования и алгоритмов машинного обучения [12–15]. Например, есть ряд успешных решений по предсказанию лактатного порога с помощью рекуррентных нейронных сетей для бегунов-любителей [12, 16].

Следует отметить, что еще до начала выполнения интенсивной физической нагрузки (соревнования или нагрузочное тестирование «до отказа») происходит формирование функциональной системы при участии корковых влияний («предстартовое» состояние). Взаимосвязь «предстартового» состояния с физиологической реакцией на физическую нагрузку, на

наш взгляд, имеет важное значение, так как позволит заранее прогнозировать реакцию систем организма.

Цель исследования — изучить взаимосвязь реакции физиологических механизмов при выполнении стандартизированной физической нагрузки с «предстартовым» состоянием спортсмена.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие спортсмены в возрасте  $24,7 \pm 4,0$  лет, сложнокоординационных и циклических видов спорта с квалификацией первый взрослый разряд, КМС (кандидат в мастера спорта). Критерии включения: наличие медицинского заключения о допуске к участию в физкультурных и спортивных мероприятиях (тренировочных мероприятиях и спортивных соревнованиях). Спортсмены находились на подготовительном этапе годичного цикла подготовки. Для построения моделей были использованы результаты 1495 исследований спортсменов. Обследуемые выполняли стандартизированное нагрузочное тестирование в виде ступенчатовозрастающей нагрузки на беговой дорожке. Протокол нагрузочного тестирования: первая ступень — 5 км/ч, длительность ступени — 2 мин, увеличение скорости на каждой ступени — 1,5 км/ч. В течение 3 мин перед тестированием («предстартовое» состояние), во время него и в период восстановления (15 мин) фиксировались первичные показатели: частоты сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), минутный объем дыхания (VE, л/мин), объем потребления кислорода ( $VO_2$ , л/мин) и выделения углекислого газа ( $VCO_2$ , л/мин), дыхательный коэффициент (RER), кислородный пульс ( $O_2HR$ , мл/уд), дыхательный эквивалент кислорода ( $EqO_2$ ) и углекислого газа ( $EqCO_2$ ), с использованием эргоспирометрической системы «Oxuscon Pro» (Erich Jaeger; Германия). Критерий исключения (остановки): отказ спортсмена или достижение предельной максимальной расчетной ЧСС (частоты сердечных сокращений) по формуле:

$$ЧСС_{max} = 220 - \text{возраст.}$$

Отказ во время выполнения нагрузки был зафиксирован у 1358 спортсменов, 137 спортсменов были остановлены по достижении максимальной ЧСС.

При изучении физиологических реакций учитывались показатели в следующих ключевых фазах нагрузочного тестирования: 1) «предстартовое» состояние; 2) порог аэробного обмена; 3) анаэробный порог; 4) фаза быстрого восстановления.

Вторая, третья и четвертая фазы были выставлены с использованием программы AT\_Inter [16], где заложена рекомендательная система определения порогов

**Таблица 1.** Количественные значения первичных показателей «предстартового» состояния обследуемых спортсменов

Показатель	Среднее значение	Ошибка среднего
ЧСС	86,1	12,9
VE	15,7	3
$VO_2$	519,1	98,6
$VCO_2$	417,6	86,3
$O_2HR$	6,1	1,3
$EqO_2$	27,1	3,4
$EqCO_2$	33,6	3,5

аэробного и анаэробного обмена, фазы быстрого восстановления с использованием классических методов и методов машинного обучения (кластерного анализа) [8]. На основе первичных параметров было рассчитано более 100 показателей, характеризующих физиологические реакции организма на стандартизированную нагрузку.

Обработку данных выполняли с использованием языка программирования Python 3 и библиотек scikit-learn (открытая библиотека, предназначенная для машинного обучения). Для оценки нелинейной взаимосвязи между параметрами использовали показатель MIC (максимальный информационный коэффициент, Maximal Information Coefficient) [17]. Показатель принимает значения от 0 до 1, где 0 означает статистическую независимость, а 1 — полную зависимость между параметрами. Критически значимый уровень взаимосвязи в исследовании составляет 0,2 при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Состояние организма спортсмена в первую фазу нагрузочного тестирования характеризуется изменением работы физиологических систем организма, в частности, сердечно-сосудистой и дыхательной, вызванным корковыми влияниями в связи с выполнением предстоящей интенсивной физической нагрузки (табл. 1).

Корреляционный анализ не выявил статистически значимых связей первичных показателей «предстартового» состояния с показателями физиологической реакции организма на стандартизированную физическую нагрузку ( $p > 0,05$ ). Поэтому мы решили использовать алгоритм понижения размерности t-SNE до трехмерного пространства для разработки модели «Подкова\_покоя», характеризующей «предстартовое» состояние (см. рис.). Алгоритм t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding, стохастическое вложение соседей с t-распределением) — это нелинейный алгоритм понижения размерности [18, 19]. Основная идея метода заключается в поиске отображения многомерного признакового пространства на плоскость из  $n$ -мерного пространства в трехмерное, т. е. выполняется поиск нового представления данных, при котором сохраняется соседство наблюдений [20]. На вход описанного алгоритма подавали первичные показатели «предстартового» состояния. Результатом работы стали новые синтезированные признаки 0, 1 и 2, которые аккумулируют информацию из исходных признаков, но не имеют явной интерпретации. В модели «Подкова\_покоя» каждая точка соответствует одному наблюдению с признаками 0, 1 и 2 (см. рис.). Все наблюдения выстроились в форме подковы, указывающей на имеющуюся закономерность в «предстартовом» состоянии спортсменов.

Для оценки нелинейной взаимосвязи между параметрами, полученными в ходе теста в ключевые фазы, и интерпретации полученных новых синтезированных признаков 0, 1 и 2 был рассчитан показатель MIC. По результатам анализа было выявлено, что координаты 0 и 1 не имеют статистически значимых связей (максимальные значения связи не достигают критически значимого уровня,

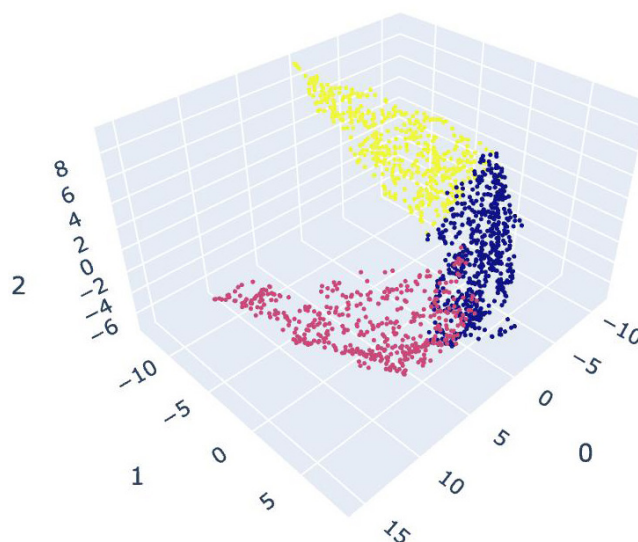


Рис. Модель предстартового состояния «Подкова\_покоя»

MIC = 0,2) с результатами нагрузочного тестирования. Признак 2 имеет статистически достоверную связь с показателями выделения неметаболического углекислого газа: 1) за весь период тестирования ( $CO_2_{non\_physiol\_total}$ ); 2) за период нагрузки ( $CO_2_{non\_physiol\_L}$ ). Критерий MIC составил 0,29 и 0,35 соответственно (табл. 2). Неметаболический  $CO_2$  рассчитывали для периода выполнения нагрузки и восстановления как количество выделенного углекислого газа сверх уровня при RER = 1.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Неметаболический  $CO_2$  при выполнении интенсивной физической нагрузки появляется в результате активности анаэробного лактатного механизма и нейтрализации его метаболитов буферными системами, в частности, бикарбонатом плазмы крови. Таким образом, по показателям предтестового состояния можно судить об активности данного механизма и систем, поддерживающих гомеостаз за счет выведения  $CO_2$  в легких, нейтрализации повышения кислотности буферными системами крови, в первую очередь бикарбонатной и гемоглобиновой, при участии карбоангидразы [21]. Выведение  $CO_2$  также зависит и от индивидуальных перфузионных свойств альвеол легких [22, 23].

Данных о роли и значении выделения  $CO_2$  при оценке физической работоспособности в литературе представлено крайне мало [24]. В основном исследователи при оценке физической работоспособности уделяют внимание максимальному потреблению кислорода и его потреблению на уровне порога анаэробного обмена. Однако возможности организма спортсмена зависят не только от количества расходуемого  $O_2$  как эквивалента производства энергии, но и от параметров, лимитирующих физическую работоспособность, в частности, выделения  $CO_2$  как интегрального показателя активности анаэробных механизмов [25]. Известно, что повышение  $CO_2$  и понижение pH в результате активности анаэробного лактатного

Таблица 2. Показатели корреляции между неметаболическим  $CO_2$  и признаком 2 модели «Подкова\_покоя»

Показатель	Координата 2
$CO_2_{non\_physiol\_total}$	0,29
$CO_2_{non\_physiol\_L}$	0,35

механизма до известных значений стимулируют ВФС, а выход количественных значений за пределы оптимального уровня угнетает ее в результате ингибирования активности ферментативных систем, снижения скорости проведения нервного импульса, способности мышц к сокращению и др. [26–28].

## ВЫВОДЫ

В результате разработанной модели «Подковы\_покоя», характеризующей «предстартовое» состояние спортсмена, выявлена взаимосвязь нового синтезированного признака 2 с показателями выделения неметаболического

углекислого газа при выполнении стандартизированной физической нагрузки. Показатель неметаболического  $\text{CO}_2$  представляет собой интегративный параметр активности анаэробного лактатного механизма и механизмов утилизации его метаболитов, которые оказывают существенное влияние на ВФС [27]. В дальнейших работах мы предполагаем показать значение неметаболического  $\text{CO}_2$  для длительности выполнения ступенчатовозрастающей нагрузки «до отказа» и внедрить результаты исследования в уже разработанные модели [16] для выявления индивидуально-типологических паттернов активности физиологических механизмов при выполнении стандартизированной физической нагрузки.

## Литература

1. Ожгибсова М. А., Ганеева Е. Р., Куриляк М. М. Ключевые механизмы мышечного роста. Научное обозрение. Педагогические науки. 2019; 4: 31–4.
2. Piucoo T, Diefenthalerb F, Prossera A, Binic R. Validity of different EMG analysis methods to identify aerobic and anaerobic thresholds in speed skaters. *Journal of Electromyography and Kinesiology*. 2020; 52.
3. Zignoli A, Fornasiero A, Stella F, Pellegrini B, Schena F, Biral F, et al. Expert-level classification of ventilatory thresholds from cardiopulmonary exercising test data with recurrent neural networks. *European Journal of Sport Science*. 2019; 19 (9): 1221–9.
4. Анохин П. К. Принципиальные вопросы общей теории функциональных систем. Принципы системной организации функций. М.: Наука, 1973; 120 с.
5. Быков Е. В., Балберова О. В., Коломиец О. И., Чипышев А. В. Ч. Взаимосвязь данных функционального тестирования и результатов соревновательной деятельности спортсменов с различной направленностью физических нагрузок. Ученые записки университета им. П. Ф. Лесгафта. 2018; 8: 32–8.
6. Ham J-H, Park H-Y, Kim Y-H, Bae S-K, Ko B-H, Nam S-S. Development of an anaerobic threshold (HRLT, HRVT) estimation equation using the heart rate threshold (HRT) during the treadmill incremental exercise. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2017; 21 (3): 43–9.
7. Киселев А. Д. Моделирование элементов спортивной деятельности для оценки и развития специальной работоспособности. Физическое воспитание и спортивная тренировка. 2021; 35: 72–80.
8. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Stringer W, Sietsema K, X-G Sun, et al. Principles of Exercise Testing and Interpretation. 3rd ed. Lipincott Williams & Wilkins, 1999; p. 551.
9. Korzeniewski B. Regulation of ATP supply in mammalian skeletal muscle during resting state intensive work transition. *Biophysical Chemistry*. 2000; 83 (1): 19–34.
10. Sales MM, Sousa CV, Alves PM. Response to “A comprehensive integrative perspective of the anaerobic threshold engine”: the driver is not a part of an engine. *Physiology & Behavior*. 2019; 15.
11. Giovanelli N, Scaini S, Billat V, Lazzar S. A new field test to estimate the aerobic and anaerobic thresholds and maximum parameters. *European Journal of Sport Science*. 2020; 20 (4): 437–43.
12. Etxegaraia U, Portillo E, Irazusta J, Arriandiaga A, Cabanes I, et al. Estimation of lactate threshold with machine learning techniques in recreational runners. *Applied Soft Computing*. 2018; 63: 181–96.
13. Moxnes JF, Sandbakk Ø. Mathematical modelling of the oxygen uptake kinetics during whole-body endurance exercise and recovery. *Mathematical and Computer Modelling of Dynamical Systems*. 2018; 24 (1): 76–86.
14. Morton RH, Billat V. Modelling decremental ramps using 2- and 3-parameter “critical power” models. *Journal of Sports Sciences*. 2013; 31 (7): 731–5.
15. Lin C-W, Huang C-F, Wang J, Fu L-L, Mao T-Y. Detection of ventilatory thresholds using near-infrared spectroscopy with a polynomial regression model. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020; 27 (6): 1637–42.
16. Chikov A, Egorov N, Medvedev D, Chikova S, Pavlov E, Drobintsev P, et al. Determination of the athletes' anaerobic threshold using machine learning methods. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2022; 73: 47–53.
17. Reshef DN, Reshef YA, Finucane HK, Grossman SR, McVean G, Turnbaugh PJ, et al. Detecting novel associations in large data sets. *Science*. 2011; 334 (6062): 1518–24.
18. Van der Maaten L, Hinton G. Visualizing data using t-SNE. *Journal of machine learning research*. 2008; 9: 11.
19. James G, Witten D, Hastie T, Tibshirani R. An Introduction to Statistical Learning: with Applications in R / 1nd ed. Statistical Theory and Related Fields. 2021; 6 (1): 440.
20. McInnes L, Healy J, Melville J. Uniform manifold approximation and projection for dimension reduction. 2018 Feb. Available from: <https://arxiv.org/abs/1802.03426>.
21. Occhipinti R, Boron WF. Role of carbonic anhydrases and inhibitors in acid-base physiology: insights from mathematical modeling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (15): 38–41.
22. Науменко Ж. К., Черняк А. В., Неклюдова Г. В., Чучалин А. Г. Вентиляционно-перфузионное отношение. Практическая пульмонология. 2018; 4: 86–90.
23. Овсянников Р. Ю., Лебединский К. М. Выбор конечного экспираторного давления при механической респираторной поддержке (обзор). *Общая реаниматология*. 2022; 18 (6): 50–8.
24. Чеснокова Н. П., Понукалина Е. В., Моррисон В. В., Бизенкова М. Н. Лекция 4. Физиология транспорта газов кровью и кислородного обеспечения тканей. Научное обозрение. Медицинские науки. 2017; 2: 40–2.
25. Тхоревский В. И., Литвак А. Л. Взаимосвязь между потреблением  $\text{O}_2$  и кровоснабжением сокращающихся мышц при работе разной мощности у лиц, тренирующих аэробную выносливость. Теория и практика физической культуры. 2006; 4: 49–54.
26. Анаев Э. Х. Лактат и легкие: от теории к практике. Пульмонология. 2014; 6: 108–14.
27. Михайлов С. С. Биохимия двигательной деятельности. М.: Спорт, 2016; 296 с.
28. Лазарева Э. А. Биоэнергетические критерии работоспособности спортсменов, специализирующихся на различных дистанциях легкоатлетического бега. Особенности формирования здорового образа жизни: факторы и условия. 2015; 179–82.

## References

- Ozhgibesova MA, Ganeeva ER, Kurilyak MM. Key mechanisms of muscle growth. *Scientific Journal Scientific Review. Pedagogical sciences*. 2019; 4: 31–4. Russian.
- Piuccoa T, Diefenthalerb F, Prossera A, Binic R. Validity of different EMG analysis methods to identify aerobic and anaerobic thresholds in speed skaters. *Journal of Electromyography and Kinesiology*. 2020; 52.
- Zignoli A, Fornasiero A, Stella F, Pellegrini B, Schena F, Biral F, et al. Expert-level classification of ventilatory thresholds from cardiopulmonary exercising test data with recurrent neural networks. *European Journal of Sport Science*. 2019; 19 (9): 1221–9.
- Anokhin PK. Printsipial'nye voprosy obshchey teorii funktsional'nykh sistem. Printsipy sistemnoy organizatsii funktsiy. M.: Nauka; 1973. 120 s. Russian.
- Bykov EV, Balberova OV, Kolomiets OI, Chipyshev AVCh. Correlation of functional testing data and results of competitive activities of athletes with different directions of physical activity. *Scientific notes of the University. P.F. Lesgaft*. 2018; 8: 32–8. Russian.
- Ham J-H, Park H-Y, Kim Y-H, Bae S-K, Ko B-H, Nam S-S. Development of an anaerobic threshold (HRLT, HRVT) estimation equation using the heart rate threshold (HRT) during the treadmill incremental exercise. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2017; 21 (3): 43–9.
- Kiselev AD. Modeling of elements of sports activities for the assessment and development of special performance. *Physical education and sports training*. 2021; 35: 72–80. Russian.
- Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Stringer W, Sietsema K, X-G Sun, et al. *Principles of Exercise Testing and Interpretation*. 3rd ed. Lipincott Williams & Wilkins, 1999; p. 551.
- Korzeniewski B. Regulation of ATP supply in mammalian skeletal muscle during resting state intensive work transition. *Biophysical Chemistry*. 2000; 83 (1): 19–34.
- Sales MM, Sousa CV, Alves PM. Response to “A comprehensive integrative perspective of the anaerobic threshold engine”: the driver is not a part of an engine. *Physiology & Behavior*. 2019; 15.
- Giovanelli N, Scaini S, Billat V, Lazzer S. A new field test to estimate the aerobic and anaerobic thresholds and maximum parameters. *European Journal of Sport Science*. 2020; 20 (4): 437–43.
- Etxegarara U, Portillo E, Irazusta J, Arriandiaga A, Cabanes I, et al. Estimation of lactate threshold with machine learning techniques in recreational runners. *Applied Soft Computing*. 2018; 63: 181–96.
- Moxnes JF, Sandbakk Ø. Mathematical modelling of the oxygen uptake kinetics during whole-body endurance exercise and recovery. *Mathematical and Computer Modelling of Dynamical Systems*. 2018; 24 (1): 76–86.
- Morton RH, Billat V. Modelling decremental ramps using 2- and 3-parameter "critical power" models. *Journal of Sports Sciences*. 2013; 31 (7): 731–5.
- Lin C-W, Huang C-F, Wang J, Fu L-L, Mao T-Y. Detection of ventilatory thresholds using near-infrared spectroscopy with a polynomial regression model. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020; 27 (6): 1637–42.
- Chikov A, Egorov N, Medvedev D, Chikova S, Pavlov E, Drobintsev P, et al. Determination of the athletes' anaerobic threshold using machine learning methods. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2022; 73: 47–53.
- Reshef DN, Reshef YA, Finucane HK, Grossman SR, McVean G, Turnbaugh PJ, et al. Detecting novel associations in large data sets. *Science*. 2011; 334 (6062): 1518–24.
- Van der Maaten L, Hinton G. Visualizing data using t-SNE. *Journal of machine learning research*. 2008; 9: 11.
- James G, Witten D, Hastie T, Tibshirani R. *An Introduction to Statistical Learning: with Applications in R / 1nd ed*. *Statistical Theory and Related Fields*. 2021; 6 (1): 440.
- McInnes L, Healy J, Melville J. Uniform manifold approximation and projection for dimension reduction. 2018 Feb. Available from: <https://arxiv.org/abs/1802.03426>.
- Occhipinti R, Boron WF. Role of carbonic anhydrases and inhibitors in acid-base physiology: insights from mathematical modeling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (15): 38–41.
- Naumenko ZhK, Chernyak AV, Neklyudova GV, Chuchalin AG. Ventilation-perfusion ratio. *Journal of Practical Pulmonology*. 2018; 4: 86–90. Russian.
- Ovsyannikov RYu, Lebedinsky KM. Choice of ultimate expiratory pressure with mechanical respiratory support (review). *General resuscitation*. 2022; 18 (6): 50–8. Russian.
- Chesnokova NP, Ponukalina EV, Morrison VV, Bizenkova MN. Lecture 4. Physiology of blood gas transport and tissue oxygen supply. *Scientific review. Medical sciences*. 2017; 2: 40–2. Russian.
- Torevsky VI, Litvak AL. The relationship between O<sub>2</sub> consumption and blood supply of contracting muscles when working at different capacities in aerobic endurance trainees. *Theory and practice of physical culture*. 2006; 4: 49–54. Russian.
- Anaev EK. Lactat and lungs: from theory to practice. *Pulmonology*. 2014; 6: 108–14. Russian.
- Mikhaylov SS. *Biokhimiya dvigatel'noy deyatel'nosti*. M.: Sport, 2016; 296 s. Russian.
- Lazareva EA. Bioenergetic performance criteria for athletes specializing in various distances of athletics running. Features of the formation of a healthy lifestyle: factors and conditions. 2015; 179–82. Russian.

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ЧЕЛОВЕКА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОДНОКРАТНЫМ И РЕГУЛЯРНЫМИ СИЛОВЫМИ УПРАЖНЕНИЯМИ

Е. М. Леднев<sup>1,2</sup>✉, П. А. Махновский<sup>2</sup>, Т. Ф. Вепкхадзе<sup>2</sup>, Р. И. Султанов<sup>1</sup>, А. В. Желанкин<sup>1</sup>, А. В. Каныгина<sup>1</sup>, Д. В. Попов<sup>1,2</sup>, Э. В. Генерозов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

Пластичность скелетной мышцы — способность менять морфофункциональные свойства в ответ на изменение сократительной активности. Силовые тренировки ведут к увеличению размеров мышечных волокон и максимальной силы с активацией синтеза белков. Регуляция этих изменений на геномном уровне мало изучена. Целью работы было выявить транскрипционные факторы, ассоциированные с изменением транскриптома скелетной мышцы человека при однократном и регулярных силовых упражнениях. Изменение транскриптомного профиля оценивали в *m. vastus lateralis* 10 молодых мужчин (возраст 23 (20,8–25,9) года) до и после 12-недельной силовой тренировки мышц-разгибателей ног, а также до, через 8 и 24 ч после однократного упражнения. Транскриптомные профили оценивали методом РНК секвенирования, поиска мотивов связывания и ассоциированных транскрипционных факторов. Использовали биоинформатические методы статистики, программы FastQC, GraphPad Prism 8, DAVID, R. Длительная силовая тренировка привела к обогащению функциональных групп генов «секретируемые белки», «внеклеточный матрикс» и «базальная мембрана» ( $p < 0,05$ ). Транскриптомные ответы и ассоциированные транскрипционные факторы различались через 8 и 24 ч после однократной нагрузки, а также после регулярных тренировок. Транскрипционные факторы, участвующие в адаптации к длительной и однократной нагрузке, участвуют в миогенезе, ангиогенезе, регуляции фенотипа волокон, протеостазе и иных процессах. Таким образом, регуляция экспрессии генов при адаптации к силовым нагрузкам — сложный процесс с участием множества транскрипционных факторов с разными функциями. Изучение роли этих факторов в адаптации скелетной мышцы к упражнениям является перспективной задачей.

**Ключевые слова:** экспрессия генов, силовая тренировка, мышечная пластичность, мышечные волокна, гипертрофия

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, соглашение № 21-15-00362 «Исследование молекулярно-генетических механизмов морфофункциональных изменений мышечных волокон человека в ходе высокоинтенсивных физических нагрузок».

**Вклад авторов:** Е. М. Леднев, Т. Ф. Вепкхадзе — организация и проведение исследования, взятие мышечных биопсий; П. А. Махновский, Р. И. Султанов и А. В. Каныгина — биоинформатический анализ данных; А. В. Желанкин, Е. М. Леднев — выполнение лабораторных исследований; Э. В. Генерозов, Д. В. Попов — организация и проведение исследования, обработка данных, написание статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России (номер протокола № 202/06/01 от 01 июня 2021 г.). Все испытуемые подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Егор Михайлович Леднев  
Хорошевское шоссе, д. 76А, г. Москва, 123007, Россия; ledhauz@gmail.com

**Статья получена:** 21.07.2023 **Статья принята к печати:** 01.09.2023 **Опубликована онлайн:** 27.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.031

## TRANSCRIPTION FACTORS IN HUMAN SKELETAL MUSCLE ASSOCIATED WITH SINGLE AND REGULAR STRENGTH EXERCISES

Lednev EM<sup>1,2</sup>✉, Makhnovskii PA<sup>2</sup>, Vepkhvadze TF<sup>2</sup>, Sultanov RI<sup>1</sup>, Zhelankin AV<sup>1</sup>, Kanygina AV<sup>1</sup>, Popov DV<sup>1,2</sup>, Generozov EV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Institute for Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Skeletal muscle plasticity is the ability to change morphofunctional properties in response to changes in contractile activity. Strength training increases the size of muscle fibers and maximum strength with the activation of protein synthesis. Regulation of these changes at the gene level has not been investigated properly. This study aimed to identify transcription factors associated with changes in the transcriptome of the human skeletal muscle in the context of single and regular strength exercises. We assessed changes in the transcriptomic profile of *m. vastus lateralis* of 10 young men (mean age 23 (20.8 - 25.9) years) before and after 12-week leg extensor muscles strength training course, as well as before, 8 and 24 hours after a single exercise. Transcriptomic profiling involved RNA sequencing, search for binding motifs and the associated transcription factors. Bioinformatic methods of statistics, FastQC, GraphPad Prism 8, DAVID, R enabled analysis of the data acquired. The strength training course resulted in the enrichment of the functional groups of genes "secreted proteins", "extracellular matrix" and "basal membrane" ( $p < 0.05$ ). Transcriptomic responses and the associated transcription factors differed 8 and 24 hours after a single session as well as after regular training sessions. Transcription factors involved in adjustment to regular and one-time loads participate in myogenesis, angiogenesis, regulation of fiber phenotype, proteostasis and other processes. Thus, regulation of gene expression during adjustment to the resistance training loads is a complex process that involves many transcription factors with different functions. Investigation of the role played by these factors in the context of adjustment to exercising is a potentially rewarding task.

**Keywords:** gene expression, strength training, muscle plasticity, muscle fibers, hypertrophy

**Funding:** the study was supported financially by the Russian Science Foundation, Agreement № 21-15-00362 "Investigation of molecular genetic mechanisms of morphofunctional changes in human muscle fibers during high-intensity physical loads".

**Author contribution:** Lednev EM, Vepkhvadze TF — study design and conduct, muscle sampling; Makhnovskii PA, Sultanov RI and Kanygina AV — bioinformatic data analysis; Zhelankin AV, Lednev EM — laboratory research; Generozov EV, Popov DV — study design and conduct, data processing, article authoring.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Lopukhin Federal Research and Clinical Center Of Physical-Chemical Medicine (Minutes № 202/06/01 of June 01, 2021). All participants signed the voluntary informed consent form.

✉ **Correspondence should be addressed:** Egor M. Lednev  
Khoroshevskoe sh., 76A, Moscow, 123007, Russia ledhauz@gmail.com

**Received:** 21.07.2023 **Accepted:** 01.09.2023 **Published online:** 27.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.031



Одной из отличительных особенностей ткани скелетных мышц является пластичность — способность изменять свои морфофункциональные характеристики в ответ на изменение уровня сократительной активности. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе пластичности, является фундаментальной задачей и имеет важное прикладное значение для оптимизации тренировочных программ в физической культуре и спорте, а также для профилактики негативного влияния различных заболеваний на скелетную мускулатуру. С одной стороны, высокоинтенсивная силовая нагрузка вызывает транзиторное увеличение mTORC1-зависимой скорости синтеза мышечных белков [1–3], благодаря чему регулярное применение таких нагрузок приводит к увеличению размеров мышечных волокон и мышцы и максимальной силы, развиваемой мышцей. С другой стороны, однократная силовая нагрузка [4–7] и регулярные силовые тренировки различной длительности [4, 6–11] изменяют профиль генной экспрессии в тренируемой скелетной мышце. При этом механизмы, регулирующие эти изменения (в частности, транскрипционные факторы, ассоциированные с изменением транскриптомного профиля), исследованы недостаточно.

Целью нашей работы был поиск транскрипционных факторов, ассоциированных с изменением транскриптома скелетной мышцы человека при однократном и регулярных силовых упражнениях. Для этого с помощью РНК секвенирования мы исследовали изменение транскриптомного профиля в биоптатах *m. vastus lateralis* у 10 молодых мужчин после 12-недельной силовой тренировки мышц-разгибателей ног в коленном суставе, а также через 8 ч и 24 ч после однократной силовой нагрузки (рис. 1).

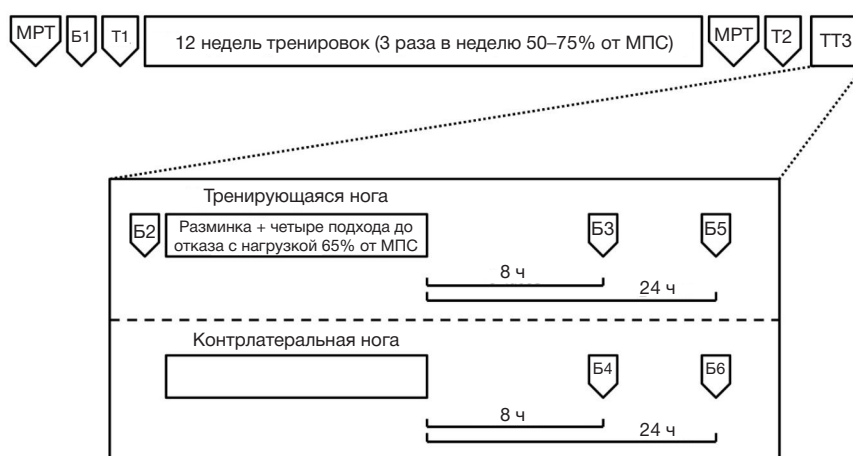
## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Организация исследования

В исследовании участвовало десять молодых мужчин в возрасте 23 (20,8–25,9) года, с ИМТ 22 (20,9–25,1) кг/м<sup>2</sup>. Критерии включения: полностью здоровые; отсутствие острых и хронических заболеваний; отсутствие опыта длительных силовых тренировок; отсутствие травм и операций в области спины и нижних конечностей. Критерии исключения: отказ от участия в тренировочных

сессиях и тестовых манипуляциях; выявление нежелательных угрожающих здоровью и жизни состояний в ходе тренировок или манипуляций; нарушение рекомендованного режима питания или злоупотребление вредными привычками в ходе эксперимента. Участники в течение 12 недель тренировали мышцы-разгибатели ног в упражнении «жим платформы обеими ногами в положении сидя». До начала эксперимента был выполнен опрос участников, все испытуемые сообщили о разнообразном и регулярном питании с достаточным количеством потребляемых белков, жиров и углеводов, адекватным количеством потребляемой жидкости в течение дня. В ходе эксперимента всем участникам было рекомендовано придерживаться обычного для них пищевого режима. Все участники не курили ранее и на момент проведения эксперимента, а также не употребляли каких-либо биологически активных добавок за 3–4 месяца до и на протяжении исследования. Вегетарианцы и веганы в эксперименте участие не принимали. Увеличение мышечной массы при регулярных силовых тренировках зависит, прежде всего, от того, что каждое упражнение (подход) выполняется до выраженного утомления (до отказа), а не от величины используемой нагрузки [12]; при этом оптимальная для роста мышечной силы тренировочная программа состоит из 25 рабочих подходов за тренировку и не менее чем двух тренировок в неделю [13, 14]. Поэтому в нашем исследовании добровольцы тренировались 3 раза в неделю с чередованием нагрузок разной интенсивности: понедельник (65% максимальной произвольной силы, до отказа) — три подхода, среда (50% МПС, 25 повторов) — три подхода и пятница (75% МПС, до отказа) — четыре подхода; подходы разделяли четыре минуты отдыха. Помимо этого, каждая тренировочная сессия включала разминку (50% МПС, 12 повторов). Все участники эксперимента сообщили о средней продолжительности сна около 8 ч в сутки, в ходе эксперимента испытуемые не сообщали об изменениях в их режиме сна. Всем испытуемым рекомендовали умеренный и привычный для них режим физической активности на протяжении 24 ч после каждого тренировочного занятия и воздержание от употребления алкоголя на протяжении 24–48 ч восстановления после тренировок.

Перед тренировочным периодом проводили биопсию из *m. vastus lateralis* (рис. 1; Б1). Через 2 дня проводили ознакомительное занятие и еще через 2 дня определяли



**Рис. 1.** Схема физиологического эксперимента. Т1, Т2 — тесты для оценки максимальной произвольной силы (МПС); ТТ3 — тестовое тренировочное занятие (однократное тренировочное занятие со взятием биопсических проб из обеих ног до и после выполнения упражнений одной ногой); Б1–Б6 — взятие материала для биопсии из латеральной головки четырехглавой мышцы бедра (*m. vastus lateralis*). Материал для биопсии Б1, Б2, Б3, Б5 были взяты из ноги, нагружаемой во время ТТ3. Биопсии Б4 и Б6 — из контрлатеральной не работавшей ноги. Во время 12 недель тренировок тренировали обе ноги

МПС как наибольшую нагрузку, при которой доброволец мог выполнить полное разгибание обеих ног. МПС оценивали каждые 2–3 недели во время, а также после тренировочного периода (рис. 1; T2). Отдельно определяли МПС той ноги, которая в дальнейшем работала во время тестового тренировочного занятия (ТТЗ); для снижения эффекта доминантной конечности ногу для ТТЗ выбирали в случайном порядке (рис. 1; T1). Через 4 дня добровольцы выполняли ТТЗ с упражнением «жим платформы одной ногой в положении сидя» (рис. 1): разминка (50% МПС, 12 повторов) + (65% МПС, до отказа) — четыре подхода. Через 8 ч и 24 ч после окончания занятия брали пробы мышечной ткани при помощи биопсии из *m. vastus lateralis* работавшей и неработавшей ног. Изменение генного ответа через несколько часов после нагрузки может быть связано не только с мышечным сокращением, но и с действием системных факторов (циркадные осцилляции, питание и т. п.) [15,16]. В нашей работе для исключения влияния системных факторов на генную экспрессию после однократной нагрузки мы оценивали различия транскриптомного профиля в пробах, полученных из работавшей мышцы и не работавшей (контрольной) мышцы контралатеральной конечности.

Весь биопсийный материал отбирали после 30 мин покоя в положении лежа из средней трети *m. vastus lateralis* под локальной анестезией (2 мл 2%-го лидокаина) с помощью 6 мм модифицированной иглы Бергстрёма с аспирацией [17]. Каждый последующий биопсийный образец брали на 4 см проксимальнее предыдущего. Полученные образцы ткани быстро очищали от крови и соединительной ткани, замораживали в жидком азоте и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### Транскриптомный анализ

Образцы мышечной ткани (~20 мг) гомогенизировали с помощью гомогенизатора TissueLyser II (Qiagen; ФРГ) в режиме два цикла по 1 мин при частоте 30 Гц, РНК выделяли с использованием набора RNeasy mini kit (Qiagen; ФРГ).

**Таблица 1.** Результаты анализа функционального обогащения для генов, изменивших экспрессию в *m. vastus lateralis* после тренировочного периода и в ответ на однократную тренировочную нагрузку

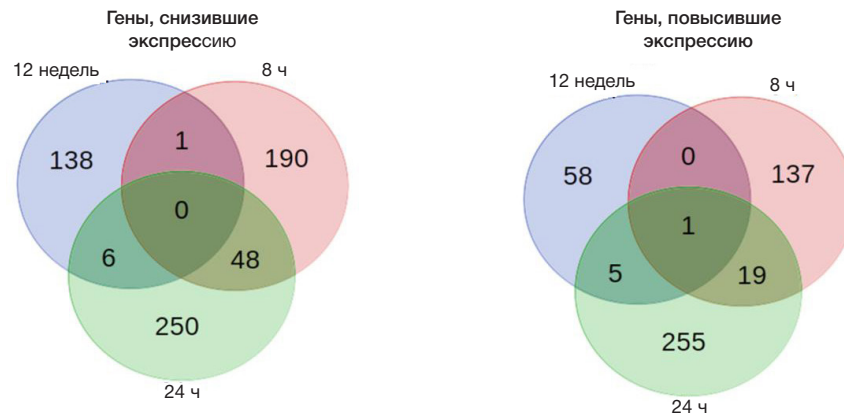
Сравнение	Термин UniProt	$P_{adj}$	Число генов	Гены
После/до тренировочного периода	Secreted (секретируемые белки)	5,40E-12	39	COL15A1, SPARC, PCOLCE2, LAMA4, HTRA1, F13A1, C10RF54, CHRDL1, NID2, FSTL1, THBS4, SERPINA5, CNPY4, CTSK, PENK, S100A13, CCN1, PAMR1, POSTN, CD163, IGFBP3, LAMB1, RNASE1, PLXDC1, ASPN, FNDC5, MFAP5, COL1A1, SFRP4, SMOC2, COL3A1, COL1A2, FNDC1, TCN2, COL5A2, MGP, SAA1, S100A4, MASP1
	Extracellular matrix (внеклеточный матрикс)	1,70E-06	14	POSTN, COL15A1, SPARC, LAMA4, LAMB1, NID2, ASPN, THBS4, MFAP5, COL1A1, SMOC2, COL3A1, COL1A2, COL5A2
	Basement membrane (базальная мембрана)	0,0098	5	SMOC2, SPARC, LAMA4, LAMB1, NID2
Работающая/неработающая мышца, 8 ч после упражнения	–	n.s.	–	–
Работающая/неработающая мышца, 24 ч после упражнения	Cytoskeleton (цитоскелет)	0,0087	64	RIPOR2, RIF1, WDR1, CBY1, HSPB1, HNRNP1, NR3C1, TUBA1C, TUBA1B, CSRP3, TUBA1A, SGCD, MPRIIP, CEP250, CEP170, DYNLT1, TUBB, ANXA11, CSNK1D, PPP4R3B, ANK3, RANGAP1, MLF1, TUBA4A, ACTA2, KAT2B, KIF9, PALLD, EVL, EZR, PFN1, FKBP4, MACF1, DCTN4, CEP85L, PXN, UACA, AURKA, FGD4, TTC21B, FLNB, CEP192, FLNC, CCT5, MAP2K6, CEP350, RAB31P, SYNJ2, PARVB, ARHGAP26, ARHGAP24, SEPTIN7, RAB10, DIAPH1, KITLG, TTLL4, ACTC1, APPBP2, KATNBL1, JMY, SPIRE1, PKN2, PTPN4, CALM2

Концентрацию РНК оценивали с помощью флуориметра Qubit 3.0 (Thermo Scientific; США), а целостность РНК — с помощью капиллярного электрофореза (Bioanalyzer 2100, Agilent; США). Очистку РНК от контаминации ДНК проводили с использованием набора Turbo DNA-free Kit (Thermo Scientific, США). Синтез двуцепочечной кДНК осуществляли с использованием набора Mint-2 («Евроген»; РФ). Очистку полученного ПЦР-продукта проводили методом SPRI на AMPure XP beads (Beckman-Coulter; США), фрагментацию дцкДНК — при помощи ультразвукового устройства ME220 (Covaris; США) в режиме получения дцкДНК фрагментов размером 250 пн в стрипах по восемь пробирок в объеме 50 мкл (Peak Incident Power 75W, Duty Factor 20%, Cycles per Burst 1000, Treatment Time 75 s). Полученные фрагменты дцкДНК также очищали методом SPRI на AMPure XP beads (Beckman-Coulter; США).

Для подготовки библиотек для 10 нг фрагментов полученной дцкДНК использовали набор Universal DNA Library Prep Set (MGI-Tech; KHP). Протокол включал репарацию и фосфорилирование концов фрагментов, лигирование асимметричных адаптеров и 4–7 циклов амплификации продуктов лигирования для количественной наработки библиотек. Секвенирование РНК проводили на анализаторе DNBseq-G400 (MGI; KHP) в соответствии с инструкциями производителя с использованием набора реагентов DNBSEQ-G400RS High-throughput Sequencing Set PE100 с длиной прочтения 100 нуклеотидов и глубиной 50 млн пар прочтений на образец.

### Биоинформатическая обработка данных РНК-секвенирования

Контроль качества данных секвенирования проводили при помощи программы FastQC v0.11.9 (Babraham Institute; Великобритания). Прочтения низкого качества и адаптерную последовательность удаляли из анализа с помощью программы Trimmomatic v0.39 (USADLLAB; США) при стандартных параметрах. Парные прочтения картировали на референсный геном человека версии



**Рис. 2.** Число генов, изменивших экспрессию в *m. vastus lateralis* после 12-недельной тренировочной программы, а также через 8 ч и 24 ч после однократного тренировочного занятия. Круговые диаграммы показывают количество мРНК, уникальных и общих для разных экспериментальных условий для генов, увеличивших и снизивших экспрессию

GRCh38.p13 (gencode v37) с помощью программы STAR v2.7.4a (Cold Spring Harbor Laboratory, США) при стандартных параметрах. Количество уникальных прочтений для экзонов каждого гена определяли при помощи функции featureCounts пакета Rsubread (язык программирования R, Lucent Technologies, США) с использованием аннотации генома gencode v37.

Для поиска дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) между группами сравнения использовали пакет DESeq2 языка программирования R (Lucent Technologies; США). Порог для определения ДЭГ составлял  $\text{Padj} < 0,1$  (скорректированное  $p$ -значение с поправкой Бенджамини–Хохберга). Для анализа функционального обогащения ДЭГ использовали инструмент DAVID (Frederick National Laboratory for Cancer Research; США), используя базы данных биологических процессов и клеточных компартментов UniProt.

Для поиска транскрипционных факторов, потенциально регулирующих экспрессию генов в ответ на силовые упражнения, и соответствующих мотивов связывания были проанализированы промоторные области ДЭГ (области открытого хроматина вокруг старта инициации транскрипции, определенные для скелетной мышцы и опубликованные ранее [18]). Поиск мотивов (и ассоциированных с ними транскрипционных факторов) проводили с помощью платформы GeneXplain, используя базу данных позиционных весовых матриц TRANSFAC v2022.1, как описано ранее [18]. Максимальное обогащение (FEadj, скорректированное отношение шансов частот сайтов при доверительном интервале 99%) было определено для каждой позиционной весовой матрицы (PWM) относительно случайного набора 5000 промоторов. Скорректированная величина обогащения (FEadj)  $> 1,5$  для сайтов связывания с транскрипционными факторами (биномиальный тест) и  $\text{FDR} < 0,05$  были выбраны в качестве критериев значимости.

### Статистическая обработка

Для оценки изменения МПС после тренировок использовали программу GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Dotmatics; США), критерий Уилкоксона, пороговое значение  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Двенадцать недель силовых тренировок увеличили максимальную произвольную силу в 1,19 раз ( $p = 0,002$ ),

что сопоставимо с результатами работ с аналогичным дизайном тренировок [19, 20]. Это свидетельствует об эффективности используемой нами тренировочной программы.

### Влияние регулярных силовых тренировок на изменения базального транскриптома

Тренировки привели к изменению базальной (утром натощак) экспрессии 209 генов, из которых 145 мРНК увеличили и 64 мРНК снизили содержание (сравнение Б2–Б1; рис. 1). Анализ функционального обогащения выявил значимое обогащение для функциональных терминов «внеклеточный матрикс», «секретируемые белки» и «базальная мембрана». Среди этих генов были различные коллагены, кальмодулин-подобные белки и молекулы адгезии (табл. 1). Такой результат, несмотря на небольшой объем изменений, хорошо согласуется с данными метаанализов изменений транскриптома в ответ на регулярные силовые тренировки [21, 22]. С одной стороны, вероятно, активация экспрессии генов белков внеклеточного матрикса является одним из механизмов, участвующих в адаптации тренируемой скелетной мышцы к регулярным силовым тренировкам. С другой стороны, в нашей и в других работах отмечено относительно слабое влияние длительных силовых тренировок на транскриптом скелетной мышцы, даже при длительности тренировок в 15 и более лет [23]. Это может быть связано с тем, что силовые упражнения активируют, прежде всего, трансляцию, а не транскрипцию.

### Изменение транскриптома в ответ на однократное силовое упражнение

Через 8 ч и 24 ч после однократной силовой нагрузки изменилось содержание 396 и 584 мРНК соответственно, больше половины из них увеличили экспрессию: 239 мРНК и 304 мРНК соответственно. Наборы генов, изменивших экспрессию на 8 ч и 24 ч после однократной нагрузки, пересекались слабо (рис. 2). При анализе обогащения не выявлено функциональных категорий через 8 ч после нагрузки. Тем не менее, обнаружена активация экспрессии ряда генов, известных по предыдущим работам как маркеры раннего ответа на сократительную активность (в т. ч. при аэробных упражнениях): *ATF3*, *DDIT3*, *JUND*, *MAFF*, *NR4A3*, *VDR*, *PRKAG2*, *PPARGC1A* и др. [22, 24–26]. Гены, изменившие экспрессию через 24 ч после однократной нагрузки, были ассоциированы

ТФ, ассоциированные с генами, повысившими экспрессию				ТФ, ассоциированные с генами, понизившими экспрессию			
	Трен.	+8 ч	+24 ч		Трен.	+8 ч	+24 ч
FOXJ2	1.51			FOX	PKNOX1	1.52	
FOXP1	1.95			FOX	TGIF1	1.64	
RELA	1.50			NfκappaB-related	TCF12	1.52	
NFATC1	1.62			NFAT-related	MYOG	1.60	
NFATC3	1.65			NFAT-related	MYF5	1.86	
NFATC4	1.62			NFAT-related	MSC	1.72	
STAT6	1.51			STAT	SOX13		1.87
TBP	1.78		1.65	TBP-related	SOX6	1.62	
ZNF713	1.52			C2H2 zinc finger factors	RELB	1.52	
ZFP3	1.61			C2H2 zinc finger factors	TBP	1.76	
ZNF677	1.50			C2H2 zinc finger factors	FOXO1	1.60	
ZBTB45	2.64			C2H2 zinc finger factors	FOXO4	1.56	
ZNF362	2.21			C2H2 zinc finger factors	FOXP1	1.69	
ZNF384	1.68			C2H2 zinc finger factors	FOXX1		1.83
ZNF260	1.89			C2H2 zinc finger factors	ZBTB11	1.76	
ZFP30	2.63			C2H2 zinc finger factors	ZNF770	1.56	
ZNF354A	1.68			C2H2 zinc finger factors	ZNF132		1.55
ZNF611	2.31			C2H2 zinc finger factors	RBAK		2.62
ZNF251	1.51			C2H2 zinc finger factors	ZNF263		1.63
ZNF224		1.63		C2H2 zinc finger factors	ZNF664		1.51
ZNF569		1.60		C2H2 zinc finger factors	ZNF774		1.54
ZNF16			2.08	C2H2 zinc finger factors	ZFP30		1.54
ZBTB11			1.53	C2H2 zinc finger factors	ZNF341		1.58
ERG	1.74			Ets-related	TEF		1.71
SOX18	1.52			SOX	DMRT2		2.10
HBP1		1.67		SOX	ARID3A		2.01
MEF2A	1.52			MADS box factors			
POU6F1	1.70			POU			
MSX2	1.50			NK			
HOXA13	1.68			HOX			
HOXA10	1.61			HOX			
HOXA6		1.75		HOX			
HOXB6		1.54		HOX			
HOXB7		2.31		HOX			
JUN		2.00		Jun-related			
JUNB		1.95		Jun-related			
JUND		1.86		Jun-related			
BACH1		1.89		Jun-related			
BACH2		2.02		Fos-related			
FOS		1.97		Fos-related			
FOSL2		2.34		Fos-related			
ATF3		2.35		Fos-related			
JDP2		1.87		Maf-related			
MAF		1.79		Maf-related			
MAFK		1.95		ATF4			
ATF4		2.21		CREB-related			
CREB1		1.52		Tal-related			
MSC		1.68		BHLH-ZIP			
TFAP4		1.51		Steroid hormone receptors			
ESR1		1.65		Thyroid hormone receptors			
PPARG		1.66		TALE-type HD			
IRX3		1.98		TALE-type HD			
PKNOX1		1.59		HD-CUT			
SATB1			1.56	Ets-related			
ETS2			1.76	GMEB			
GMEB2			1.68	CEBP-related			
CEBPA	1.79		2.72	CEBP-related			
CEBPB	1.78		1.64	CEBP-related			
CEBPD	1.91		1.59	CEBP-related			
CEBPG	1.51	1.98		CEBP-related			
DDIT3		1.78		CEBP-related			
DBP			1.59	CEBP-related			
HLF			1.63	CEBP-related			

Рис. 3. Транскрипционные факторы (ТФ), ассоциированные с генами, увеличившими и снизившими экспрессию после периода регулярных силовых тренировок (Трен.) и через 8 ч и 24 ч после однократного тренировочного занятия. Оттенками цвета и цифрами обозначена величина обогащения мотива связывания с транскрипционным фактором в индивидуальных промоторах генов, изменивших экспрессию, относительно 5000 случайных генов, не изменивших экспрессию (см. ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ)

с термином «цитоскелет» (табл. 1). Более половины из них увеличили экспрессию и были представлены генами моторных белков (альфа- и бета-тубулина, актинов *ACTA2* и *ACTC1*, компонентов кинезин-динеинового комплекса *KIF9* и *DYNLT1*), шаперонов (*CRYAB1*, *HSPB1*) и др. Стоит отметить, что некоторые экспрессионные маркеры ответа на сократительную активность (*ATF3*, *DDIT3*, *VDR*, *PRKAG2*) оставались активированными вплоть до 24 ч восстановления после упражнения, что предполагает их важную роль в регуляции ответа на силовую физическую нагрузку. Интересно, что еще меньшее пересечение наблюдается между генным ответом на однократное тренировочное занятие и регулярные тренировки (рис. 2).

Так, после 12-недельного периода силовых тренировок обеих ног мы выявили изменение транскриптомного профиля *m. vastus lateralis*, сопоставимое с тем, что описано ранее в подобных исследованиях. Используя

тестовую модель — упражнение одной ногой, и сопоставляя генную экспрессию в работающей и не работающей *m. vastus lateralis*, нам впервые удалось охарактеризовать специфичный для силовых упражнений (т. е. не зависящий от циркадианных и системных влияний) транскрипционный ответ в скелетной мышце человека (на 8-м и 24-м ч восстановления). Наборы генов, изменивших экспрессию, слабо пересекались между различными экспериментальными условиями, что можно объяснить наличием специфических механизмов регуляции генной экспрессии в каждом из них.

### Анализ транскрипционных факторов, ассоциированных с изменением экспрессии генов

Результаты поиска транскрипционных факторов, ассоциированных с изменением генной экспрессии в

каждом из исследуемых экспериментальных условий, представлены на рис. 3. При адаптации к регулярным силовым тренировкам изменение базальной экспрессии генов в *m. vastus lateralis* было ассоциировано с разнообразными семействами транскрипционных регуляторов; наиболее обогащенными из них оказались малоизученные факторы с доменами цинковых пальцев. Помимо этого, был выявлен ряд факторов, изменение активности которых после регулярных силовых тренировок было вполне ожидаемо. Так, активация экспрессии генов была ассоциирована с факторами, непосредственно связанными с сократительной активностью, например, NFATC — компонент Ca<sup>2+</sup>-зависимого кальциневрин–NFAT-сигнального пути [27]. Известно, что NFATC1 может контролировать рост мышц [28–30] и соотношение типов мышечных волокон у мышей, а также подавлять активность MyoD-зависимых промоторов [31].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регулярные физические упражнения приводят к активации экспрессии генов внеклеточного матрикса, в том числе генов, кодирующих белки — регуляторы ангиогенеза. Среди обнаруженных нами транскрипционных факторов потенциальными регуляторами ангиогенеза являются ERG и SOX18. Известно, что ERG регулирует ангиогенез, контролируя экспрессию E-кадгерина и сигнальный путь Wnt/ $\beta$ -catenin [27]. SOX18 экспрессируется преимущественно в эндотелиальных клетках и регулирует ангиогенез за счет активации их миграции и пролиферации, при этом паттерн экспрессии SOX18 в эндотелиальных клетках совпадает с VEGFA и его рецептором [32]. Среди факторов, ассоциированных с увеличением генной экспрессии, ожидаемо был найден регулятор миогенеза MEF2A, а также MSX2. Неожиданно, снижение экспрессии некоторых генов было ассоциировано с миогенными E-box-связывающими факторами (MYOG, MYF5, MSC), контролирующими дифференцировку миобластов на разных этапах. Можно предположить, что увеличение активности одних миогенных факторов и подавление других связано с изменением фенотипа мышцы после тренировки. Известно, что подобные программы силовых тренировок приводят к преимущественному увеличению размеров мышечных волокон типа II и оказывают слабое влияние на волокна типа I [1].

Функции других транскрипционных факторов, ассоциированных с изменением транскрипционного профиля при регулярных силовых тренировках, оценить сложно. Так, FOXP1 описан как репрессор транскрипции, его сверхэкспрессия вызывает атрофию и потерю мышечной массы у мышей [33]. Помимо этого, FOXP1 ингибирует активность MyoD [34]. RELA и STAT6 известны в качестве регуляторов воспаления, однако они также играют роль в регуляции миогенеза и атрофии [35, 36].

Через 8 ч после однократного упражнения регуляция экспрессии генов была связана, прежде всего, с

факторами класса bZIP (семейства факторов раннего ответа JUN, FOS, MAF и др.). Известно, что некоторые из них (ATF4, AP-1 факторы (FOS, JUN), DDIT3, CEBP) активируются при нарушении протеостаза и ЭПР-стрессе [37, 38]. Активация этих факторов достаточно ожидаема, поскольку высокоинтенсивные силовые упражнения вызывают выраженный метаболический и механический стресс; примечательно, что активация этих факторов не обнаружена на более поздних этапах восстановления (24 ч) после однократного тренировочного занятия. Напротив, снижение экспрессии генов на 8-м ч восстановления было ассоциировано с факторами семейства FOXO, которые в мышце регулируют активность убиквитин-протеасомной системы [39–41].

Через 24 ч после упражнения изменение генной экспрессии было ассоциировано с небольшим количеством транскрипционных факторов: увеличение, главным образом, с факторами семейства CEBP, а подавление — с факторами, содержащими домены цинковых пальцев, в частности KRAB-домен содержащий репрессор RBAK.

Таким образом, мы показали, что наборы генов, изменивших экспрессию в ответ на 12-недельную силовую тренировку и на однократное тренировочное занятие, и ассоциированные с ними транскрипционные факторы достаточно уникальны. Это, по-видимому, связано с наличием множества сигнальных путей, регулирующих активацию различных наборов транскрипционных факторов и их генов-мишеней в базальном состоянии после периода регулярных аэробных тренировок и на разных этапах восстановления после однократного тренировочного занятия. Для некоторых транскрипционных факторов, предсказанных в нашей работе, в литературе описана их роль в регуляции миогенеза, что косвенно характеризует корректность используемого нами биоинформатического анализа. Роль других транскрипционных факторов в регуляции миогенеза не столь очевидна. Изучение роли этих факторов в адаптации скелетной мышцы к высокоинтенсивным упражнениям, стимулирующим рост мышечной массы, представляется перспективной задачей.

## ВЫВОДЫ

Показаны выраженные изменения в транскриптом скелетной мышцы в ответ на однократную силовую нагрузку и на 12-недельную силовую тренировку, сопровождаемую ростом силовых возможностей тренируемых мышц. Эти изменения хорошо сопоставимы с результатами других работ со схожими тренировками. Примечательно, что транскриптомные ответы и ассоциированные с ними транскрипционные факторы выражено различались как через 8 ч и 24 ч после однократной нагрузки, так и после 12-недельного периода регулярных тренировок. Согласно полученным результатам, регуляция экспрессии генов при адаптации к силовым нагрузкам имеет сложный характер, что, по-видимому, обусловлено большим количеством процессов, вовлеченных в регуляцию роста мышечной массы.

## Литература

1. Виноградова О. Л., Попов Д. В., Нетреба А. И., Цвиркун Д. В., Курочкина Н. С., Бачинин А. В. и др. Оптимизация процесса физической тренировки: разработка новых “щадящих” подходов к тренировке силовых возможностей. Физиология человека. 2013; 39: 71–85. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.7868/S0131164613050172>.
2. Solsona R, Pavlin L, Bernardi H, Sanchez AMJ. Molecular regulation of skeletal muscle growth and organelle biosynthesis:

- Practical recommendations for exercise training. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 1–31. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22052741>.
3. Mesquita PHC, Vann CG, Phillips SM, McKendry J, Young KC, Kavazis AN, et al. Skeletal muscle ribosome and mitochondrial biogenesis in response to different exercise training modalities. *Front Physiol.* 2021; 12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.725866>.
  4. Gordon PM, Liu D, Sartor MA, IglayReger HB, Pistilli EE, Gutmann L, et al. Resistance exercise training influences skeletal muscle immune activation: a microarray analysis. *J Appl Physiol.* 2012; 112: 443–53. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00860.2011>.
  5. Dickinson JM, D'Lugos AC, Naymik MA, Siniard AL, Wolfe AJ, Curtis DP, et al. Transcriptome response of human skeletal muscle to divergent exercise stimuli. *J Appl Physiol.* 2018; 124: 1529–40. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00014.2018>.
  6. Damas F, Ugrinowitsch C, Libardi CA, Jannig PR, Hector AJ, Mcglory C, et al. Resistance training in young men induces muscle transcriptome-wide changes associated with muscle structure and metabolism refining the response to exercise-induced stress. *Eur J Appl Physiol.* 2018; 118: 2607–16. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3984-y>.
  7. Raue U, Trappe TA, Estrem ST, Qian HR, Helvering LM, Smith RC, et al. Transcriptome signature of resistance exercise adaptations: Mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults. *J Appl Physiol.* 2012; 112: 1625–36. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00435.2011>.
  8. Lundberg TR, Fernandez-Gonzalo R, Gustafsson T, Tesch PA. Aerobic exercise does not compromise muscle hypertrophy response to short-term resistance training. *J Appl Physiol.* 2013; 114: 81–89. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01013.2012>.
  9. Liu D, Sartor MA, Nader GA, Gutmann L, Treutelaar MK, Pistilli EE, et al. Skeletal muscle gene expression in response to resistance exercise: Sex specific regulation. *BMC Genomics.* 2010; 11: 659. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-659>.
  10. Nascimento EBM, Hangelbroek RWJ, GHooiveld GJEJ, Hoeks J, Van Marken Lichtenbelt WD, Hesselink MHC, et al. Comparative transcriptome analysis of human skeletal muscle in response to cold acclimation and exercise training in human volunteers. *BMC Med Genomics.* 2020; 13: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12920-020-00784-z>.
  11. Stepto NK, Coffey VG, Carey AL, Ponnampalam AP, Canny BJ, Powell D, et al. Global gene expression in skeletal muscle from well-trained strength and endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2009; 41: 546–65. Available from: <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31818c6be9>.
  12. Schoenfeld BJ, Grgic J, Ogborn D, Krieger JW. Strength and hypertrophy adaptations between low- vs. High-load resistance training: A systematic review and meta-analysis. *J Strength Cond Res.* 2017; 31: 3508–23. Available from: <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002200>.
  13. Krieger JW. Single Vs. Multiple Sets of Resistance. *J Strength Cond Res.* 2010; 24: 1150–9. Available from: <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181d4d36>.
  14. Schoenfeld BJ, Ogborn D, Krieger JW. Effects of Resistance Training Frequency on Measures of Muscle Hypertrophy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sport Med.* 2016; 46: 1689–97. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0543-8>.
  15. Catoire M, Mensink M, Boekschoten MV, Hangelbroek R, Müller M, Schrauwen P, et al. Pronounced Effects of Acute Endurance Exercise on Gene Expression in Resting and Exercising Human Skeletal Muscle. *PLoS One.* 2012; 7. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051066>.
  16. Schroder EA, Harfmann BD, Zhang X, Srikuea R, England JH, Hodge BA, et al. Intrinsic muscle clock is necessary for musculoskeletal health. *J Physiol.* 2015; 593: 5387–404. Available from: <https://doi.org/10.1113/JP271436>.
  17. Shanely AR, Zwetsloot KA, Travis Triplett N, Meaney MP, Farris GE, Nieman DC. Human skeletal muscle biopsy procedures using the modified Bergström technique. *J Vis Exp.* 2014; 1–8. Available from: <https://doi.org/10.3791/51812>.
  18. Makhnovskii PA, Gusev OA, Bokov RO, Gazizova GR, Vepkhvadze TF, Lysenko EA, et al. Alternative transcription start sites contribute to acute-stress-induced transcriptome response in human skeletal muscle. *Hum Genomics.* 2022; 16: 1–13. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00399-8>.
  19. Campos GER, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: Specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol.* 2002; 88: 50–60. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00421-002-0681-6>.
  20. Yapici H, Güllü M, Yagin FH, Ugurlu D, Comertpay E, Eroglu O et al. The effect of 8-weeks of combined resistance training and chocolate milk consumption on maximal strength, muscle thickness, peak power and lean mass, untrained, university-aged males. *Front Physiol.* 2023; 14: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1148494>.
  21. Deane CS, Willis CRG, Phillips BE, Atherton PJ, Hamies LW, Ames RM, et al. Transcriptomic meta-analysis of disuse muscle atrophy vs. resistance exercise-induced hypertrophy in young and older humans. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021; 12: 629–45. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12706>.
  22. Pilon NJ, Gabriel BM, Dollet L, Smith JAB, Sardón Puig L, Botella J, et al. Transcriptomic profiling of skeletal muscle adaptations to exercise and inactivity. *Nat Commun.* 2020; 11: 470. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13869-w>.
  23. Chapman MA, Arif M, Emanuelsson EB, Reitzner SM, Lindholm ME, Mardinoglu A, et al. Skeletal Muscle Transcriptomic Comparison between Long-Term Trained and Untrained Men and Women. *Cell Rep.* 2020; 31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107808>.
  24. Dzik KP, Grzywacz T, Łuszczczyk M, Kujach S, Flis DJ, Kaczor JJ. Single bout of exercise triggers the increase of vitamin D blood concentration in adolescent trained boys: a pilot study. *Sci Rep.* 2022; 12: 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05783-x>.
  25. Rundqvist HC, Montelius A, Osterlund T, Norman B, Esbjornsson M, Jansson E. Acute sprint exercise transcriptome in human skeletal muscle. *PLoS One.* 2019; 14: 1–24. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223024>.
  26. Makhnovskii PA, Bokov RO, Kolpakov FA, Popov DV. Transcriptomic signatures and upstream regulation in human skeletal muscle adapted to disuse and aerobic exercise. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 1–20. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22031208>.
  27. Birdsey GM, Shah AV, Dufton N, Reynolds LE, Almagro LO, Yang Y et al. The endothelial transcription factor erg promotes vascular stability and growth through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Dev Cell.* 2015; 32: 82–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.016>.
  28. Sakuma K, Yamaguchi A. The functional role of calcineurin in hypertrophy, regeneration, and disorders of skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010. Available from: <https://doi.org/10.1155/2010/721219>.
  29. Hudson MB, Price SR. Calcineurin: A poorly understood regulator of muscle mass. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013; 45: 2173–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.06.029>.
  30. Dunn SE, Burns JL, Michel RN. Calcineurin is required for skeletal muscle hypertrophy. *J Biol Chem.* 1999; 274: 21908–12. Available from: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21908>.
  31. Ehlers ML, Celona B, Black BL. NFATc1 controls skeletal muscle fiber type and is a negative regulator of MyoD activity. *Cell Rep.* 2014; 8: 1639–48. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.035>.
  32. Darby IA, Bisucci T, Raghoenath S, Olsson J, Muscat GEO, Koopman P. Sox18 is transiently expressed during angiogenesis in granulation tissue of skin wounds with an identical expression pattern to Flk-1 mRNA. *Lab Invest.* 2001; 81: 937–43. Available from: <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780304>.
  33. Neyroud D, Nosacka RL, Callaway CS, Trevino JG, Hu H, Judge SM, et al. FoxP1 is a transcriptional repressor associated with cancer cachexia that induces skeletal muscle wasting and weakness. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021; 12: 421–42. Available from:

- <https://doi.org/10.1002/jcsm.12666>.
34. Wright WE, Li C, Zheng C, Tucker HO. FOXP1 Interacts with MyoD to Repress its Transcription and Myoblast Conversion. *J Cell Signal.* 2021; 2: 9–26.
  35. Kurosaka M, Ogura Y, Sato S, Kohda K, Funabashi T. Transcription factor signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) is an inhibitory factor for adult myogenesis. *Skelet Muscle.* 2021; 11: 1–14. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13395-021-00271-8>.
  36. Yamaki T, Wu CL, Gustin M, Lim J, Jackman RW, Kandarian SC. Rel A/p65 is required for cytokine-induced myotube atrophy. *Am J Physiol. Cell Physiol.* 2012; 303: 135–43. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00111.2012>.
  37. Arensdorf AM, Diedrichs D, Rutkowski DT. Regulation of the transcriptome by ER stress: Non-canonical mechanisms and physiological consequences. *Front Genet.* 2013; 4: 1–16. Available from: <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00256>.
  38. Marafon BB, Pinto AP, Ropelle ER, de Moura LP, Cintra DE, Pauli JR, et al. Muscle endoplasmic reticulum stress in exercise. *Acta Physiol.* 2022; 235: e13799. Available from: <https://doi.org/10.1111/apha.13799>.
  39. Møller AB, Vendelbo MH, Schjerling P, Couppe C, Møller N, Kjær M et al. Immobilization decreases foxo3a phosphorylation and increases autophagy-related gene and protein expression in human skeletal muscle. *Front Physiol.* 2019; 10: 1–14. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00736>.
  40. Senf SM, Dodd SL, Judge AR. FOXO signaling is required for disuse muscle atrophy and is directly regulated by Hsp70. *Am J Physiol. Cell Physiol.* 2010; 298. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00315.2009>.
  41. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell.* 2004; 117: 399–412. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00400-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00400-3).
- ## References
1. Vinogradova OL, Popov DV, Netreba AI, Cvirkun DV, Kurochkina NS, Bachinin AV, i dr. Optimizaciya processa fizicheskoy trenirovki: razrabotka novykh "shhadyashnih" podxodov k trenirovke silovykh vozmozhnostej, Fiziologiya cheloveka. 2013; 39: 71–85. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.7868/S0131164613050172>. Russian.
  2. Solsona R, Pavlin L, Bernardi H, Sanchez AMJ. Molecular regulation of skeletal muscle growth and organelle biosynthesis: Practical recommendations for exercise training. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 1–31. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22052741>.
  3. Mesquita PHC, Vann CG, Phillips SM, McKendry J, Young KC, Kavazis AN, et al. Skeletal muscle ribosome and mitochondrial biogenesis in response to different exercise training modalities. *Front Physiol.* 2021; 12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.725866>.
  4. Gordon PM, Liu D, Sartor MA, IglayReger HB, Pistilli EE, Gutmann L, et al. Resistance exercise training influences skeletal muscle immune activation: a microarray analysis. *J Appl Physiol.* 2012; 112: 443–53. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00860.2011>.
  5. Dickinson JM, D'Lugos AC, Naymik MA, Siniard AL, Wolfe AJ, Curtis DP, et al. Transcriptome response of human skeletal muscle to divergent exercise stimuli. *J Appl Physiol.* 2018; 124: 1529–40. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00014.2018>.
  6. Damas F, Ugrinowitsch C, Libardi CA, Jannig PR, Hector AJ, McGlory C, et al. Resistance training in young men induces muscle transcriptome-wide changes associated with muscle structure and metabolism refining the response to exercise-induced stress. *Eur J Appl Physiol.* 2018; 118: 2607–16. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3984-y>.
  7. Raue U, Trappe TA, Estrem ST, Qian HR, Helvering LM, Smith RC, et al. Transcriptome signature of resistance exercise adaptations: Mixed muscle and fiber type specific profiles in young and old adults. *J Appl Physiol.* 2012; 112: 1625–36. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00435.2011>.
  8. Lundberg TR, Fernandez-Gonzalo R, Gustafsson T, Tesch PA. Aerobic exercise does not compromise muscle hypertrophy response to short-term resistance training. *J Appl Physiol.* 2013; 114: 81–89. Available from: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01013.2012>.
  9. Liu D, Sartor MA, Nader GA, Gutmann L, Treutelaar MK, Pistilli EE, et al. Skeletal muscle gene expression in response to resistance exercise: Sex specific regulation. *BMC Genomics.* 2010; 11: 659. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-659>.
  10. Nascimento EBM, Hangelbroek RWJ, GHooiveld GJEJ, Hoeks J, Van Marken Lichtenbelt WD, Hesselink MHC, et al. Comparative transcriptome analysis of human skeletal muscle in response to cold acclimation and exercise training in human volunteers. *BMC Med Genomics.* 2020; 13: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12920-020-00784-z>.
  11. Stepto NK, Coffey VG, Carey AL, Ponnampalam AP, Canny BJ, Powell D, et al. Global gene expression in skeletal muscle from well-trained strength and endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2009; 41: 546–65. Available from: <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31818c6be9>.
  12. Schoenfeld BJ, Grgic J, Ogborn D, Krieger JW. Strength and hypertrophy adaptations between low- vs. High-load resistance training: A systematic review and meta-analysis. *J Strength Cond Res.* 2017; 31: 3508–23. Available from: <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002200>.
  13. Krieger JW. Single Vs. Multiple Sets of Resistance. *J Strength Cond Res.* 2010; 24: 1150–9. Available from: <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181d4d36>.
  14. Schoenfeld BJ, Ogborn D, Krieger JW. Effects of Resistance Training Frequency on Measures of Muscle Hypertrophy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sport Med.* 2016; 46: 1689–97. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0543-8>.
  15. Catoire M, Mensink M, Boekschoten MV, Hangelbroek R, Müller M, Schrauwen P, et al. Pronounced Effects of Acute Endurance Exercise on Gene Expression in Resting and Exercising Human Skeletal Muscle. *PLoS One.* 2012; 7. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051066>.
  16. Schroder EA, Harfmann BD, Zhang X, Srikuea R, England JH, Hodge BA, et al. Intrinsic muscle clock is necessary for musculoskeletal health. *J Physiol.* 2015; 593: 5387–404. Available from: <https://doi.org/10.1113/JP271436>.
  17. Shanely AR, Zwetsloot KA, Travis Triplett N, Meaney MP, Farris GE, Nieman DC. Human skeletal muscle biopsy procedures using the modified Bergström technique. *J Vis Exp.* 2014; 1–8. Available from: <https://doi.org/10.3791/51812>.
  18. Makhnovskii PA, Gusev OA, Bokov RO, Gazizova GR, Vepkhvadze TF, Lysenko EA, et al. Alternative transcription start sites contribute to acute-stress-induced transcriptome response in human skeletal muscle. *Hum Genomics.* 2022; 16: 1–13. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00399-8>.
  19. Campos GER, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF et al. Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: Specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol.* 2002; 88: 50–60. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00421-002-0681-6>.
  20. Yapici H, Gülü M, Yagin FH, Ugurlu D, Comertpay E, Eroglu O et al. The effect of 8-weeks of combined resistance training and chocolate milk consumption on maximal strength, muscle thickness, peak power and lean mass, untrained, university-aged males. *Front Physiol.* 2023; 14: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1148494>.
  21. Deane CS, Willis CRG, Phillips BE, Atherton PJ, Harries LW, Ames RM, et al. Transcriptomic meta-analysis of disuse muscle atrophy vs. resistance exercise-induced hypertrophy in young and older humans. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021; 12: 629–45.

- Available from: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12706>.
22. Pillon NJ, Gabriel BM, Dollet L, Smith JAB, Sarcón Puig L, Botella J, et al. Transcriptomic profiling of skeletal muscle adaptations to exercise and inactivity. *Nat Commun.* 2020; 11: 470. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13869-w>.
  23. Chapman MA, Arif M, Emanuelsson EB, Reitzner SM, Lindholm ME, Mardinoglu A, et al. Skeletal Muscle Transcriptomic Comparison between Long-Term Trained and Untrained Men and Women. *Cell Rep.* 2020; 31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107808>.
  24. Dzik KP, Grzywacz T, Łuszczczyk M, Kujach S, Flis DJ, Kaczor JJ. Single bout of exercise triggers the increase of vitamin D blood concentration in adolescent trained boys: a pilot study. *Sci Rep.* 2022; 12: 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05783-x>.
  25. Rundqvist HC, Montelius A, Osterlund T, Norman B, Esbjornsson M, Jansson E. Acute sprint exercise transcriptome in human skeletal muscle. *PLoS One.* 2019; 14: 1–24. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223024>.
  26. Makhnovskii PA, Bokov RO, Kolpakov FA, Popov DV. Transcriptomic signatures and upstream regulation in human skeletal muscle adapted to disuse and aerobic exercise. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 1–20. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22031208>.
  27. Birdsey GM, Shah AV, Dufton N, Reynolds LE, Almagro LO, Yang Y et al. The endothelial transcription factor *erg* promotes vascular stability and growth through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Dev Cell.* 2015; 32: 82–96. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.016>.
  28. Sakuma K, Yamaguchi A. The functional role of calcineurin in hypertrophy, regeneration, and disorders of skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010. Available from: <https://doi.org/10.1155/2010/721219>.
  29. Hudson MB, Price SR. Calcineurin: A poorly understood regulator of muscle mass. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013; 45: 2173–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.06.029>.
  30. Dunn SE, Burns JL, Michel RN. Calcineurin is required for skeletal muscle hypertrophy. *J Biol Chem.* 1999; 274: 21908–12. Available from: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21908>.
  31. Ehlers ML, Celona B, Black BL. NFATc1 controls skeletal muscle fiber type and is a negative regulator of MyoD activity. *Cell Rep.* 2014; 8: 1639–48. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.035>.
  32. Darby IA, Bisucci T, Raghoenath S, Olsson J, Muscat GEO, Koopman P. Sox18 is transiently expressed during angiogenesis in granulation tissue of skin wounds with an identical expression pattern to Flk-1 mRNA. *Lab Invest.* 2001; 81: 937–43. Available from: <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780304>.
  33. Neyroud D, Nosacka RL, Callaway CS, Trevino JG, Hu H, Judge SM, et al. FoxP1 is a transcriptional repressor associated with cancer cachexia that induces skeletal muscle wasting and weakness. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021; 12: 421–42. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcsm.12666>.
  34. Wright WE, Li C, Zheng C, Tucker HO. FOXP1 Interacts with MyoD to Repress its Transcription and Myoblast Conversion. *J Cell Signal.* 2021; 2: 9–26.
  35. Kurosaka M, Ogura Y, Sato S, Kohda K, Funabashi T. Transcription factor signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) is an inhibitory factor for adult myogenesis. *Skelet Muscle.* 2021; 11: 1–14. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13395-021-00271-8>.
  36. Yamaki T, Wu CL, Gustin M, Lim J, Jackman RW, Kandarian SC. Rel A/p65 is required for cytokine-induced myotube atrophy. *Am J Physiol. Cell Physiol.* 2012; 303: 135–43. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00111.2012>.
  37. Arensdorf AM, Diedrichs D, Rutkowski DT. Regulation of the transcriptome by ER stress: Non-canonical mechanisms and physiological consequences. *Front Genet.* 2013; 4: 1–16. Available from: <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00256>.
  38. Marafon BB, Pinto AP, Ropelle ER, de Moura LP, Cintra DE, Pauli JR, et al. Muscle endoplasmic reticulum stress in exercise. *Acta Physiol.* 2022; 235: e13799. Available from: <https://doi.org/10.1111/apha.13799>.
  39. Møller AB, Vendelbo MH, Schjerling P, Couppé C, Møller N, Kjær M et al. Immobilization decreases foxo3a phosphorylation and increases autophagy-related gene and protein expression in human skeletal muscle. *Front Physiol.* 2019; 10: 1–14. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00736>.
  40. Senf SM, Dodd SL, Judge AR. FOXO signaling is required for disuse muscle atrophy and is directly regulated by Hsp70. *Am J Physiol. Cell Physiol.* 2010; 298. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00315.2009>.
  41. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell.* 2004; 117: 399–412. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00400-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00400-3).



## ПРИ КОМОРБИДНОЙ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ ИНИЦИАЛЬНОЕ НАЗНАЧЕНИЕ $\beta_2$ -АГОНИСТОВ СНИЖАЕТ РИСК БРОНХОСПАЗМА, ВЫЗВАННОГО $\beta_1$ -АДРЕНОБЛОКАТОРАМИ

Е. В. Смолякова<sup>1,2</sup>✉, Е. А. Синецын<sup>2</sup>, К. А. Зыков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

При лечении пациентов с кардиореспираторной патологией часто необходимо одновременное использование препаратов, воздействующих на  $\beta$ -адренорецепторы:  $\beta_1$ -адреноблокаторы и  $\beta_2$ -агонисты. Из-за возможности развития бронхоспазма у пациентов с бронхообструктивными заболеваниями на фоне использования  $\beta_1$ -адреноблокаторов, практикующие врачи нередко отказываются от их назначения. Целью работы было оценить функциональные параметры у пациентов с сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями при различной последовательности назначения селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов (бисопролола) и  $\beta_2$ -агонистов длительного действия (формотерола). В пилотное одноцентровое проспективное исследование было включено 30 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и бронхообструктивными заболеваниями, длительность исследования составила 2 недели. Пациенты методом «конвертов» были разделены на две группы по 15 человек. Первая группа пациентов начинала старт терапии с приема  $\beta_2$ -агониста длительного действия, а вторая группа — с приема селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора. На фоне приема  $\beta_1$ -адреноблокатора пациентам проводили четырехчасовую спирометрическую пробу с оценкой параметров функции внешнего дыхания. Показано, что у начинающих старт терапии с приема селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора (бисопролола 2,5 мг) снижение ОФВ1 происходило у 33,3% человек, в то время как у принимающих бисопролол 2,5 мг на фоне недельного приема  $\beta_2$ -агониста длительного действия процент выявленных случаев снижения ОФВ1 составил всего 7%. Таким образом, предварительное назначение  $\beta_2$ -агонистов длительного действия, в частности формотерола, снижало риск бронхоспастического действия селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора — бисопролола у пациентов с кардиореспираторной патологией.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистые заболевания, бронхообструктивные заболевания, кардиореспираторная патология,  $\beta_1$ -адреноблокаторы,  $\beta_2$ -агонисты

**Вклад авторов:** Е. В. Смолякова — набор пациентов, обработка результатов, написание статьи; Е. А. Синецын — обсуждение результатов; К. А. Зыков — руководство лечением пациентов и обсуждение результатов исследования, написание статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России (протокол № 220 от 31 октября 2016 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Владимировна Смолякова  
Ореховый бульвар, д. 28, 115682, г. Москва, Россия; smolyakovak@mail.ru

**Статья получена:** 21.07.2023 **Статья принята к печати:** 04.09.2023 **Опубликована онлайн:** 28.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.033

## INITIAL ADMINISTRATION OF $\beta_2$ -AGONISTS REDUCES THE RISK OF BRONCHOSPASM CAUSED BY $\beta_1$ -BLOCKERS IN COMORBID CARDIORESPIRATORY PATHOLOGY

Smolyakova EV<sup>1,2</sup>✉, Sinitsyn EA<sup>2</sup>, Zykov KA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Pulmonology Research Institute of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

In the treatment of patients with cardiorespiratory pathology, it is often necessary to simultaneously administer drugs that affect  $\beta$ -adrenergic receptors:  $\beta_1$ -adrenoblockers and  $\beta_2$ -agonists.  $\beta_1$ -blockers can trigger a bronchospasm in patients with bronchoobstructive diseases, therefore, practitioners often decide not to prescribe them. This work aimed to evaluate functional parameters of patients with cardiovascular and bronchoobstructive diseases in the context of different sequences of administration of selective  $\beta_1$ -blockers (bisoprolol) and long-acting  $\beta_2$ -agonists (formoterol). This prospective, single-center 2-week pilot study involved 30 individuals suffering from the aforementioned diseases. Using the envelopes method, we divided the patients into two groups of 15 people each. First group started therapy with a long-acting  $\beta_2$ -agonist, second group — with a selective  $\beta_1$ -adrenoblocker. While taking the  $\beta_1$ -adrenoblocker, patients underwent a four-hour spirometric test enabling assessment of the external respiration function parameters. The tests and assessments have shown that the value of FEV1 went down in 33.3% of those who started therapy with a selective  $\beta_1$ -adrenoblocker (bisoprolol 2.5 mg), and in the group that first took a long-acting  $\beta_2$ -agonist for a week and then added bisoprolol 2.5 mg to the regimen the said value dropped in 7% of patients only. Thus, preceding long-acting  $\beta_2$ -agonists, formoterol in particular, reduced the risk of bronchospastic incidents triggered by selective  $\beta_1$ -adrenoblocker (bisoprolol) in patients with cardiorespiratory pathology.

**Keywords:** cardiovascular diseases, bronchoobstructive diseases, cardiorespiratory pathology,  $\beta_1$ -adrenoblockers,  $\beta_2$ -agonists

**Author contribution:** Smolyakova EV — recruitment of patients, processing of the results, article authoring; Sinitsyn EA — discussion of the results; Zykov KA — patient treatment management, discussion of the study results, article authoring.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center for Cardiology named after academician Yevgeniy Chazov of the Ministry of Health of the Russian Federation (Minutes № 220 of October 31, 2016)

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina V. Smolyakova  
Orekhovy bulvar, 28, 115682, Moscow, Russia; smolyakovak@mail.ru

**Received:** 21.07.2023 **Accepted:** 04.09.2023 **Published online:** 28.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.033

Сердечно-сосудистые и бронхообструктивные заболевания, а именно бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), являются одними из основных проблем общественного здравоохранения у людей в возрасте 40 лет и старше

[1]. Причинами высокого роста коморбидной сердечно-сосудистой и бронхообструктивной патологий являются общие факторы риска, патофизиологические процессы, которые в совокупности утяжеляют течение заболеваний [2, 3]. С эпидемиологической точки зрения смертность

от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у пациентов с ХОБЛ и БА занимает одно из первых мест [4]. Лечение пациентов с кардиореспираторной патологией основано на применении таких препаратов, как  $\beta_1$ -адреноблокаторы и  $\beta_2$ -агонисты, фармакологические эффекты которых обусловлены блокадой или активацией адренергической системы. Ввиду близкого расположения рецепторов и несто процентной селективности препаратов возможно развитие перекрестного рецепторного взаимодействия, которое нередко приводит к возникновению побочных эффектов и к неоптимальному медикаментозному лечению обоих состояний: недоназначению или отказу от патогномичной терапии [5].

Так,  $\beta_1$ -адреноблокаторы широко применяют в лечении ССЗ, в частности у пациентов с ишемической болезнью сердца, нарушением ритма сердца и сердечной недостаточностью [6]. Существуют два типа  $\beta$ -адреноблокаторов: неселективные, который блокируют как  $\beta_1$ -, так и  $\beta_2$ -адренорецепторы, и селективные (кардиоселективные)  $\beta_1$ -адреноблокаторы, которые действуют главным образом на  $\beta_1$ -адренорецепторы. Традиционно существуют опасения по поводу назначения  $\beta$ -адреноблокаторов пациентам с сопутствующей ХОБЛ и БА ввиду возможного снижения жизненной емкости легких, развития бронхоспазма, снижения эффективности приема  $\beta_2$ -агонистов короткого действия для купирования приступа, снижения эффективности лечения  $\beta_2$ -агонистами длительного действия, обусловленных прямой блокадой  $\beta_2$ -адренорецепторов гладкой мускулатуры бронхов. Поэтому предпочтение следует отдавать назначению кардиоселективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов [7, 8]. Стоит также отметить, что селективность  $\beta_1$ -адреноблокаторов носит дозозависимый характер и с увеличением дозы препарата отмечается ее снижение [9]. Даже при приеме небиволола с селективностью 1:22-46 сохраняются риски развития бронхоспазма ввиду неравномерности распределения  $\beta$ -АР по органам и тканям.

В свою очередь  $\beta_2$ -агонисты являются основными симптоматическими препаратами у пациентов с бронхообструктивной патологией. Однако в связи с наличием  $\beta_2$ -адренорецепторов в сердце у пациентов, коморбидных по ССЗ, прием данной группы препаратов, особенно короткодействующих, может опосредовано через активацию симпатoadrenalовой системы провоцировать повышение артериального давления, увеличение частоты сердечного сокращения, а снижение концентрации калия крови на фоне увеличения дозировки данных препаратов, по мнению некоторых авторов, может быть причиной развития жизнеугрожающих аритмий [10].

В то же время, сочетанный прием селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов и  $\beta_2$ -агонистов показал снижение сердечно-сосудистых событий, за счет подавления тахикардии и гипертензии, связанных с лечением высокими дозами  $\beta_2$ -агонистов, при обострении ХОБЛ и БА. Некоторые рандомизированные исследования, а также ряд проведенных метаанализов продемонстрировал снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с ХОБЛ и БА, принимающих  $\beta_1$ -адреноблокаторы [11, 12]. Есть также данные, позволяющие предположить, что  $\beta_2$ -агонисты могут снижать риск сердечно-сосудистых осложнений: за счет уменьшения остаточного объема воздуха в легких, сопровождающегося снижением инспираторной одышки [13]. Также улучшаются показатели податливости правого желудочка [13], снижается давление в легочной артерии [14], что приводит к снижению частоты обострений ХОБЛ и БА, которые связаны с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний и смертностью.

Таким образом, при лечении пациентов с сочетанной кардиореспираторной патологией зачастую требуется одновременное назначение селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора и  $\beta_2$ -агониста. У практикующих врачей имеется запрос на практические рекомендации по порядку назначения этих препаратов при необходимости их совместного использования. Следует отметить, что

**Таблица 1.** Клиническая характеристика пациентов с ССЗ и БОЗ 1-й и 2-й групп (анамнестические данные)

Характеристика пациентов	Пациенты с ССЗ и БОЗ (n = 15), группа 1	Пациенты с ССЗ и БОЗ (n = 15), группа 2
Возраст, лет	65,9 ± 10	68 ± 10,3
Пол, мужчины/женщины, %	46,7 / 53,3	73,5 / 26,5
АГ I, II, III степени, %	0; 46,7; 53,3	0; 40%; 60,2.
ИБС I, II, III функциональный класс, %	6,6; 40; 0	26,7; 13,3; 20
ПИКС, %	26,7	40
НРС, %	46,7	26,7
БА, %	26,7	20
ХОБЛ, %	53,3	66,7
ХОБЛ + БА, %	20	13,3
АСТ, баллы	17,00 [15,50; 20,00]	17,00 [13,00; 18,00]
САТ, баллы	16,00 [14,00; 24,00]	22,00 [21,00; 25,00]
mMRC, баллы	2 [1,50; 3,00]	3,00 [2,00; 3,00]
Терапия БКК, %	40	53,3
Терапия иАПФ, %	13,3	26,7
Терапия БРА, %	73,5	60,2

**Примечание:** данные представлены в виде M ± SD и % от общего числа пациентов; \* —  $p < 0,05$ ; АГ — артериальная гипертензия; АСТ — asthma control test; БА — бронхиальная астма; БКК — блокаторы кальциевых каналов; БРА — блокаторы рецепторов ангиотензина-2; ИБС — ишемическая болезнь сердца; иАПФ — ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента; mMRC — modified medical research council dyspnea scale; НРС — нарушение ритма сердца; ПИКС — постинфарктный кардиосклероз; САТ — COPD assessment test; ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких.

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов с ССЗ и БОЗ 1-й и 2-й групп (данные лабораторно-инструментальных исследований)

Характеристика пациентов	Пациенты с ССЗ и БОЗ (n = 15), группа 1	Пациенты с ССЗ и БОЗ (n = 15), группа 2
ЭКП, мкг/л	21,9 ± 12,1	18,8 ± 15,2
СРБ, мг/л	18,8 ± 15,2	5,91 ± 7,5
СОЭ, мм/ч	12,9 ± 10,8	13,7 ± 13,5
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	8,2 ± 1,8	7,9 ± 1,4
Эритроциты, 10 <sup>9</sup> /л	5,2 ± 0,9	4,9 ± 0,4
Эозинофилы, %	2,88 ± 2,07	3,99 ± 2,2
САД/ДАД, мм рт. ст.	128,8/79,8 ± 11/3,8	126,7/78 ± 8,8/5,5
ЧСС, уд/мин	70,9 ± 9	68,9 ± 10,1
ОФВ1, % от должного значения	73,2 ± 11,7	78,86 ± 17,3
ФЖЕЛ, % от должного значения	95,8 ± 19,6	96,7 ± 17,9

**Примечание:** данные представлены в виде  $M \pm SD$ ; \* —  $p < 0,05$ ; ДАД — диастолическое артериальное давление; ОФВ1 — объем форсированного выдоха за 1 с; САД — систолическое артериальное давление; СОЭ — скорость оседания эритроцитов; СРБ — С-реактивный белок; ЭКП — эозинофильный катионный протеин; ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких; ЧСС — частота сердечного сокращения.

доказательных данных о сравнительной безопасности и эффективности инициального назначения  $\beta$ -агонистов с последующим назначением  $\beta$ -блокаторов и подхода, предусматривающего первичное назначение  $\beta$ -блокаторов, в настоящий момент не существует. Целью работы было определить предпочтительную последовательность назначения селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов (бисопролола) и  $\beta_2$ -агонистов длительного действия (формотерола) у пациентов с сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями на основании оценки функциональных параметров.

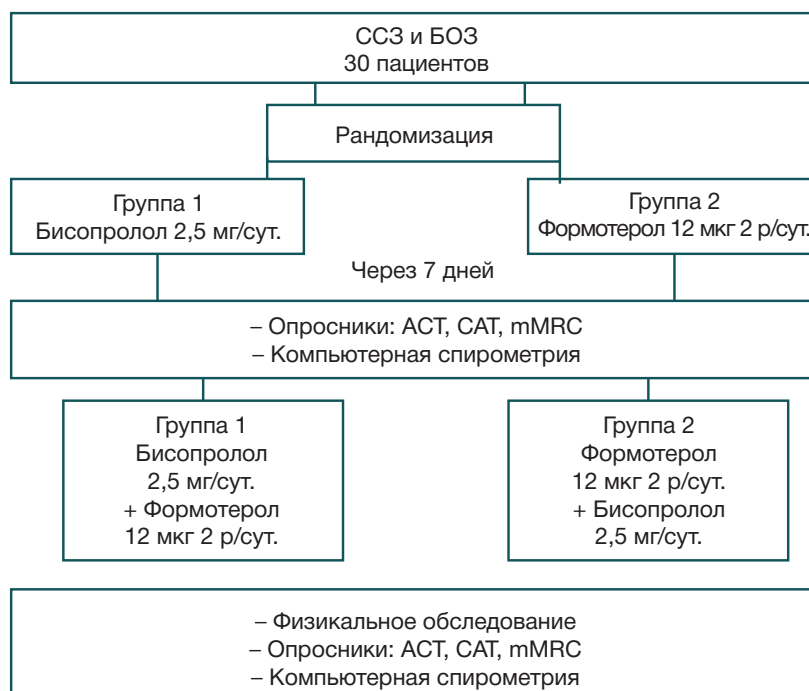
#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Было проведено пилотное, одноцентровое проспективное исследование 30 пациентов ( $66,97 \pm 9,84$  лет, 18 мужчин, 12 женщин). Критерии включения: наличие ССЗ (артериальная гипертония, ишемическая болезнь

сердца, нарушение ритма сердца) и БОЗ (бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких). Всем пациентам был показан прием селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора (бисопролола) и  $\beta_2$ -агониста (формотерола).

Пациенты методом «конвертов» были разделены на две группы, сопоставимые по возрасту, полу, принимаемой на момент включения в исследование терапии. В табл. 1 и 2 представлена клиническая характеристика пациентов [15].

В 1-й группе пациентам старт терапии начинали с приема  $\beta_1$ -адреноблокатора – бисопролола в дозе 2,5 мг, во 2-й группе пациентам был инициально назначен прием длительно действующего  $\beta_2$ -агониста — формотерола в дозе 12 мкг 2 раза в день. Через неделю в 1-й группе к терапии добавили прием формотерола, а во 2-й — бисопролола. При назначении первых доз препаратов проводили компьютерную спирометрию и заполнение специализированных тестов и опросников (рис. 1).



**Рис. 1.** Дизайн исследования. АД — артериальное давление; АСТ — Asthma Control Test; БОЗ — бронхообструктивные заболевания; САТ — COPD Assessment Test, mMRC — modified Medical Research Council Dyspnea Scale

Таблица 3. Динамика показателей опросников CAT, АСТ и МРС у пациентов с ССЗ и БОЗ по группам

	ССЗ и БОЗ 1-й группы		ССЗ и БОЗ 2-й группы	
	исходно	через неделю	исходно	через неделю
АСТ, баллы	17 [15,50; 20,00]	20 [19,00; 23,00]	17,00 [13,00; 18,00]	19,00 [17,00; 21,00]*
CAT, баллы	16 [14,00; 24,00]	13 [9,00; 15,00]	22,00 [21,00; 25,00]	17,00 [14,50; 21,50]*
mMRC, баллы	2 [1,50; 3,00]	1 [1,00; 2,00]	3,00 [2,00; 3,00]	2,00 [1,00; 2,50]*

Примечание: \* —  $p < 0,05$ .

Компьютерную спирометрию проводили с использованием аппарата SuperSpiro (MICRO MEDICAL; Великобритания). Для оценки легочных величин использовали систему должных величин, разработанную в 1993 г. Европейским сообществом стали и угля (European Coal and Steel Community, ECSC).

Всем пациентам с целью предупреждения развития бронхоспазма перед назначением первой дозы  $\beta_1$ -адреноблокатора проводили острую 4-часовую спирометрическую пробу. Принцип данной пробы заключается в оценке исходных параметров функции внешнего дыхания (ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких, ОФВ1 — объем форсированного выдоха за 1 с, ОФВ1/ФЖЕЛ) до приема препарата и через 30 мин, 90 мин, 150 мин и 240 мин после приема бисопролола 2,5 мг.

#### Участники исследования

Всего в исследование было включено 30 пациентов (66,97 ± 9,84 лет, 18 мужчин и 12 женщин), которые были разделены на две группы по 15 человек, сопоставимые между собой.

Критерии включения: наличие у пациента ССЗ и БОЗ в состоянии компенсации и отсутствие острой патологии на момент включения; наличие достоверного диагноза БА, установленного в соответствии с общепринятыми клинико-лабораторными и функциональными критериями (GINA 2017 [16]); наличие диагноза ХОБЛ на основании критериев GOLD 2017 [17]; наличие подписанного письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения: тяжелые ССЗ (острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда менее 6 месяцев до включения в исследование, нестабильная стенокардия); обострение ХОБЛ, БА менее чем за 1 месяц до включения в исследование; противопоказания к назначению селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов и

$\beta_2$ -агонистов; онкологические заболевания; беременность, грудное вскармливание; клинические состояния, которые, по мнению врача, мешают участию в исследовании.

Исследование было проведено на базе ФГБУ «НМИЦК имени академика Е. И. Чазова» Минздрава России в отделении гипертонии. Продолжительность исследования составила 2 недели. Основным исход исследования — оценка функциональных параметров у коморбидных пациентов при различной последовательности назначения селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов и  $\beta_2$ -агонистов длительного действия.

#### Статистический анализ

Исследование носило пилотный характер, в связи с чем мощность выборки не определяли. Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы PSP 1.2.0 (проект GNY; США). С целью проверки гипотез о характере распределения был проведен тест Колмогорова–Смирнова. Для количественных переменных в случае нормального распределения использовали среднее ± стандартное отклонение или медиану и перцентили [25; 75] для непараметрических показателей. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении острой 4-часовой спирометрической пробы достоверно значимого снижения уровня ФЖЕЛ и ОФВ1 (более 20% от исходного), а также субъективного ухудшения состояния по данным опросников АСТ, CAT, mMRC (табл. 3) в целом по группам у пациентов с кардиореспираторной патологией выявлено не было. Однако при анализе данных всех пациентов было отмечено, что назначение бисопролола 2,5 мг/сут. у 29 пациентов из 30 приводило к обратимому снижению уровня ОФВ1,

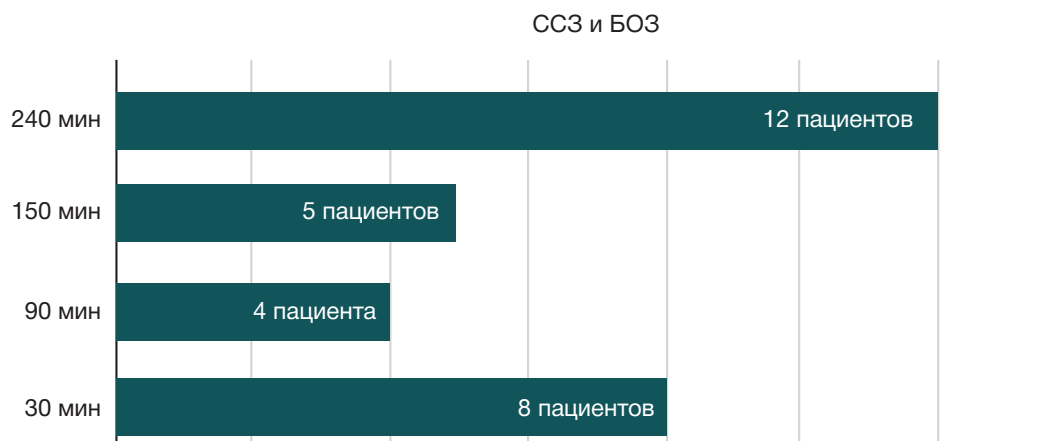


Рис. 2. Распределение пациентов с наибольшим снижением ОФВ1 (процент от должного значения) в различные периоды времени в группе ССЗ и БОЗ

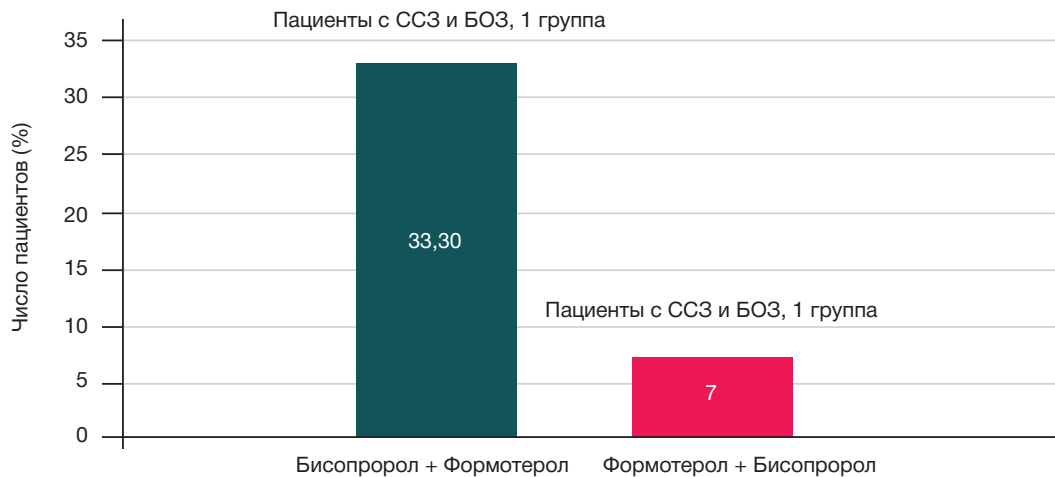


Рис. 3. Число пациентов ССЗ и БОЗ со снижением ОФВ1 более чем 2% от должного

максимально было зарегистрировано снижение ОФВ1 до 300 мл и 17% с восстановлением до исходного уровня после проведения бронходилатационного теста с сальбутамолом 400 мг (рис. 2). Чаще всего снижение ОФВ1 в абсолютных и величинах и в % от должного регистрировалось через 30 мин и через 240 мин после инициального приема бисопролола 2,5 мг. При расчетах мы учитывали снижение уровня ОФВ1 более 2% от исходного (рис. 2), что позволяет исключить погрешность измерения.

При статистической обработке данных пациентов по группам был выявлен больший процент снижения ОФВ1 среди пациентов 1-й группы, начинающих старт терапии с приема селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора (бисопролола 2,5 мг) — 33,3% человек. В то время как среди пациентов 2-й группы, где инициально пациенты получали  $\beta_2$ -агонист длительного действия (формотерол 24 мкг) и только после 7 дней бронходилатационной терапии начинали прием бисопролола 2,5 мг, число пациентов со снижением ОФВ1 достигло всего 7% (рис. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблемы лекарственной терапии сочетанной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологии, в частности ХОБЛ и БА, остаются актуальными по настоящее время. Необходимость применения  $\beta_1$ -адреноблокаторов у пациентов с бронхообструктивными заболеваниями остается предметом дискуссий. Проведенный метаанализ обсервационных исследований, объединивший 15 когортных исследований со сроком наблюдения до 7,2 лет по применению  $\beta_1$ -адреноблокаторов у пациентов с ССЗ и БОЗ, продемонстрировал, что эти препараты приводят к значительному снижению смертности и обострений БОЗ [18]. Результаты этого анализа подтверждают два других крупных исследования. Одно из них показало, что кардиоселективные  $\beta_1$ -адреноблокаторы повышают ответ на прием  $\beta_2$ -агонистов и не вызывают клинически значимых побочных эффектов со стороны респираторной системы [7], согласно другому, прием  $\beta_1$ -адреноблокаторов снижает общую смертность и внезапную сердечную смерть за счет снижения частоты сердечных сокращений и продления диастолического периода сердечного цикла, что улучшает перфузию миокарда [19]. Но даже несмотря на эти данные, у некоторых пациентов фиксируется снижение показателей жизненной емкости легких при инициальном приеме  $\beta_1$ -адреноблокаторов. Это нашло подтверждение в полученных нами результатах, где

при полном клиническом благополучии и отсутствии субъективного ухудшения состояния у коморбидных пациентов ССЗ и БОЗ происходило обратимое снижение ОФВ1 максимально до 300 мл и 7% от исходных данных. Авторы одной из ранних работ также регистрировали среди пациентов с кардиореспираторной патологией снижение ОФВ1 в острой 4-часовой спирометрической пробе, а процент пациентов со значимым снижением ОФВ1 более 20% составил 6,4%. Однако в данной работе подчеркивалось, что длительный прием селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов (бисопролола) не приводил к достоверному снижению ОФВ1 и ФЖЕЛ по результатам спирометрии [20].

Принимая во внимание полученные нами результаты, пациентам, находящимся в группе высокого риска развития бронхоспазма, которым требуется назначение  $\beta_1$ -адреноблокатора, можно рекомендовать проведение острой 4-часовой пробы в условиях стационара. Это поможет практикующим врачам инициировать прием  $\beta$ -блокаторов пациентам, начиная с малых доз и придерживаться постепенного их титрования.

Несмотря на недостаточную статистическую мощность нашего исследования для формирования однозначного вывода, было продемонстрировано преимущество инициального назначения  $\beta_2$ -агониста длительного действия с целью снижения риска развития бронхоспастического компонента у пациентов с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией, нуждающихся в постоянном и длительном приеме  $\beta_1$ -адреноблокаторов. Безусловно, данное заключение требует проведения более широких клинических исследований, конечной точкой которых будет определение вариабельности ОФВ1 на фоне различной тактики одновременного назначения селективных  $\beta_1$ -адреноблокаторов и  $\beta_2$ -агонистов.

## Ограничение исследования

Ограничением исследования является малая выборка пациентов. Однако стоит отметить, что несмотря на небольшой набор были получены достоверные результаты, которые требуют дальнейших исследований в этой области с достаточной статистической мощностью.

## ВЫВОДЫ

Несмотря на тесные патогенетические связи ССЗ и БОЗ и наличие клинических рекомендаций по лечению данной

коморбидной патологии, в повседневной врачебной практике по настоящее время приходится сталкиваться с трудностями в подборе терапии данным пациентам. Проведенная нами работа показала, что при одновременном приеме  $\beta_2$ -агонистов и  $\beta_1$ -адреноблокаторов порядок назначения препаратов имеет значение. Предварительное

назначение  $\beta_2$ -агонистов длительного действия, в частности формотерола, снижает риск бронхоспастического действия селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора биспролола у пациентов с кардиореспираторной патологией. Это явление заслуживает внимания для проведения дальнейших исследований на большей выборке пациентов.

## Литература

- World Health Organization. 2022. Available from: <https://www.who.int>.
- Ingebrigtsen TS, Marott JL, Vestbo J, Nordestgaard BG, Lange P. Coronary heart disease and heart failure in asthma, COPD and asthma-COPD overlap. *BMJ Open Respir Res.* 2020; 7 (1): e000470. DOI: 10.1136/bmjresp-2019-000470. PMID: 33371008; PMCID: PMC7011896.
- Rabe KF, Hurst JR, Suissa S. Cardiovascular disease and COPD: dangerous liaisons? *Eur Respir Rev.* 2018; 27 (149): 180057. DOI: 10.1183/16000617.0057-2018. Erratum in: *Eur Respir Rev.* 2018; 27 (150): PMID: 30282634; PMCID: PMC9488649.
- Shnoda M, Gajjar K, Ivanova V. COPD and Cardiovascular Disease: A Review of Association, Interrelationship, and Basic Principles for Integrated Management. *Crit Care Nurs Q.* 2021; 44 (1): 91–102. DOI: 10.1097/CNQ.0000000000000342. PMID: 33234862.
- Arcoraci V, Squadrito F, Rottura M, Barbieri MA, Pallio G, Irrera N, et al. Beta-Blocker use in older hospitalized patients affected by heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: an Italian survey from the REPOSI register. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9: 876693. DOI: 10.3389/fcvm.2022.876693. PMID: 35651906; PMCID: PMC9149000.
- Небиеридзе Д. В. Актуальные вопросы применения  $\beta$ -адреноблокаторов в различных клинических ситуациях. *Медицинский совет.* 2018; 12: 12–17. DOI 10.21518/2079-701X-2018-12-12-17.
- GOLD, 2023. Available from: <https://goldcopd.org/2023-gold-report-2/>.
- GINA, 2023. Available from: <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/>.
- Reiter MJ. Cardiovascular drug class specificity: beta-blockers. *Prog Cardiovasc Dis.* 2004; 47: 11–33.
- Guhan AR, Cooper S, Osborne J, Lewis S, Bennett J, Tattersfield AE. Systemic effects of formoterol and salmeterol: a dose-response comparison in healthy subjects. *Thorax.* 2000; 55 (8): 650–6. DOI: 10.1136/thorax.55.8.650. PMID: 10899240; PMCID: PMC1745819.
- Yang YL, Xiang ZJ, Xiang RL. Increasing the prescription rate of  $\beta$ -blockers is beneficial for patients with chronic obstructive pulmonary and cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2021; 42 (34): 3409. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab239. PMID: 33948636.
- Gulea C, Quint JK, Zakeri R. Clinical and methodological considerations when interpreting meta-analyses of beta-blocker use in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Heart J.* 2021; 42 (34): 3407–8. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab217. PMID: 33948644.
- Santus P, Radovanovic D, Di Marco S, et al. Effect of indacaterol on lung deflation improves cardiac performance in hyperinflated COPD patients: an interventional, randomized, double-blind clinical trial. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015; 10: 1917–23.
- Cazzola M, Mantero A, Santus P, et al. Dopplerechocardiographic assessment of the effects of inhaled long-acting  $\beta_2$ -agonists on pulmonary artery pressure in COPD patients. *Pulm Pharmacol Ther.* 2007; 20: 258–64.
- Смолякова Е. В. Влияние терапии селективным  $\beta_1$ -адреноблокатором и  $\beta_2$ -агонистом на изменение характеристик  $\beta$ -адренорецепторов у пациентов с кардиореспираторной патологией (диссертация). 2019.
- GINA, 2017. Available from: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2019/01/2017-GINA.pdf>.
- GOLD, 2017. Available from: <https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/02/wms-GOLD-2017-FINAL.pdf>.
- Du Q, Sun Y, Ding N, Lu L, Chen Y. Beta-blockers reduced the risk of mortality and exacerbation in patients with COPD: a meta-analysis of observational studies. *PLoS One.* 2014; 9 (11): e113048. DOI: 10.1371/journal.pone.0113048.
- Gulea C, Zakeri R, Alderman V, Morgan A, Ross J, Quint JK. Beta-blocker therapy in patients with COPD: a systematic literature review and meta-analysis with multiple treatment comparison. *Respir Res.* 2021; 22 (1): 64. DOI: 10.1186/s12931-021-01661-8. PMID: 33622362; PMCID: PMC7903749.
- Назаров Б. М. Изучение безопасности и эффективности лечения селективным  $\beta$ -адреноблокатором больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями в сочетании с бронхообструктивными заболеваниями (диссертация). 2014.

## References

- World Health Organization. 2022. Available from: <https://www.who.int>.
- Ingebrigtsen TS, Marott JL, Vestbo J, Nordestgaard BG, Lange P. Coronary heart disease and heart failure in asthma, COPD and asthma-COPD overlap. *BMJ Open Respir Res.* 2020; 7 (1): e000470. DOI: 10.1136/bmjresp-2019-000470. PMID: 33371008; PMCID: PMC7011896.
- Rabe KF, Hurst JR, Suissa S. Cardiovascular disease and COPD: dangerous liaisons? *Eur Respir Rev.* 2018; 27 (149): 180057. DOI: 10.1183/16000617.0057-2018. Erratum in: *Eur Respir Rev.* 2018; 27 (150): PMID: 30282634; PMCID: PMC9488649.
- Shnoda M, Gajjar K, Ivanova V. COPD and Cardiovascular Disease: A Review of Association, Interrelationship, and Basic Principles for Integrated Management. *Crit Care Nurs Q.* 2021; 44 (1): 91–102. DOI: 10.1097/CNQ.0000000000000342. PMID: 33234862.
- Arcoraci V, Squadrito F, Rottura M, Barbieri MA, Pallio G, Irrera N, et al. Beta-Blocker use in older hospitalized patients affected by heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: an Italian survey from the REPOSI register. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9: 876693. DOI: 10.3389/fcvm.2022.876693. PMID: 35651906; PMCID: PMC9149000.
- Nebieridze DV. Aktual'nye voprosy primeneniya  $\beta$ -adrenoblokatorov v razlichnykh klinicheskikh situatsiyah. *Medicinskij sovet.* 2018; 12: 12–17. DOI 10.21518/2079-701X-2018-12-12-17. Russian.
- GOLD, 2023. Available from: <https://goldcopd.org/2023-gold-report-2/>.
- GINA, 2023. Available from: <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/>.
- Reiter MJ. Cardiovascular drug class specificity: beta-blockers. *Prog Cardiovasc Dis.* 2004; 47: 11–33.
- Guhan AR, Cooper S, Osborne J, Lewis S, Bennett J, Tattersfield AE. Systemic effects of formoterol and salmeterol: a dose-response comparison in healthy subjects. *Thorax.* 2000; 55 (8): 650–6. DOI: 10.1136/thorax.55.8.650. PMID: 10899240; PMCID: PMC1745819.
- Yang YL, Xiang ZJ, Xiang RL. Increasing the prescription rate of  $\beta$ -blockers is beneficial for patients with chronic obstructive pulmonary and cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2021; 42 (34): 3409. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab239. PMID: 33948636.
- Gulea C, Quint JK, Zakeri R. Clinical and methodological considerations when interpreting meta-analyses of beta-blocker use in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Heart J.* 2021; 42 (34): 3407–8. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab217. PMID: 33948644.

- 3407–8. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab217. PMID: 33948644.
13. Santus P, Radovanovic D, Di Marco S, et al. Effect of indacaterol on lung deflation improves cardiac performance in hyperinflated COPD patients: an interventional, randomized, double-blind clinical trial. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015; 10: 1917–23.
  14. Cazzola M, Mantero A, Santus P, et al. Doppler echocardiographic assessment of the effects of inhaled long-acting  $\beta$ 2-agonists on pulmonary artery pressure in COPD patients. *Pulm Pharmacol Ther.* 2007; 20: 258–64.
  15. Smolyakova EV. Vliyaniye terapii selektivnym  $\beta$ 1-adrenoblokatorom i  $\beta$ 2-agonistom na izmeneniye harakteristik  $\beta$ -adrenoreceptorov u pacientov s kardiorespiratornoj patologiej (dissertaciya). 2019. Russian.
  16. GINA, 2017. Available from: <https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2019/01/2017-GINA.pdf>.
  17. GOLD, 2017. Available from: <https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/02/wms-GOLD-2017-FINAL.pdf>.
  18. Du Q, Sun Y, Ding N, Lu L, Chen Y. Beta-blockers reduced the risk of mortality and exacerbation in patients with COPD: a meta-analysis of observational studies. *PLoS One.* 2014; 9 (11): e113048. DOI: 10.1371/journal.pone.0113048.
  19. Gulea C, Zakeri R, Alderman V, Morgan A, Ross J, Quint JK. Beta-blocker therapy in patients with COPD: a systematic literature review and meta-analysis with multiple treatment comparison. *Respir Res.* 2021; 22 (1): 64. DOI: 10.1186/s12931-021-01661-8. PMID: 33622362; PMCID: PMC7903749.
  20. Nazarov BM. Izuchenie bezopasnosti i ehffektivnosti lecheniya selektivnym  $\beta$ -adrenoblokatorom bol'nyh s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami v sochetanii s bronhoobstruktivnymi zabolevaniyami (dissertaciya). 2014. Russian.

## ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ НА СОСУДИСТЫЙ ТОНУС МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Н. Н. Мельникова ✉

Институт физиологии имени И. П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Острая кровопотеря сопровождается ухудшением кровообращения, в том числе, на микроциркуляторном уровне. В клинических и в экспериментальных исследованиях идет поиск возможности нивелировать последствия этих нарушений. Использование гипотермии рассматривают не только как один из способов повышения выживаемости, но и как средство для улучшения церебрального микроциркуляторного кровообращения при геморрагии. Целью исследования было изучить состояние артериальных церебральных сосудов крыс при воздействии легкой гипотермии после острой кровопотери средней степени. Исследование проведено на наркотизированных крысах линии Вистар с помощью методики прижизненного микрофотографирования. Изучали реакции пиальных артерий (начальный диаметр 10–40 мкм) при охлаждении животных до ректальной температуры 34 °С в условиях гемодинамической стабильности и при моделировании кровопотери (20% от ОЦК) при нормотермии и при гипотермии легкой степени. Результаты исследования показали, что 3,5 ч экспозиции в изучаемых условиях сопровождалась вазоконстрикцией у животных всех исследуемых групп. При гипотермическом состоянии организма наблюдали первоначальное уменьшение диаметра на 9% от уровня фона (от  $24,9 \pm 0,9$  мкм до  $22,7 \pm 0,7$  мкм;  $p < 0,05$ ), а затем его восстановление через 2 ч (до  $25,7 \pm 1,7$ ;  $p > 0,05$ ). При кровопотере диаметр церебральных микрососудов уменьшался на протяжении первого часа на 20–25% (от  $23,4 \pm 0,7$  мкм до  $17,6 \pm 1,1$  мкм;  $p < 0,001$ ) без дальнейшего восстановления (диаметр через 3,5 ч наблюдений составлял  $16,7 \pm 0,8$  мкм). Вазоконстрикция при использовании гипотермии после кровопотери составила 8–10% за первые 45 мин наблюдений (от  $22,6 \pm 1,3$  мкм до  $20,3 \pm 1,2$  мкм;  $p < 0,05$ ) с последующим уменьшением сокращения (диаметр через 3,5 ч наблюдений составлял  $21,4 \pm 1,4$  мкм). Сделан вывод, что использование легкой гипотермии приводило к сокращению вазоконстрикторного влияния умеренной кровопотери на пиальные микрососуды.

**Ключевые слова:** гипотермия, кровопотеря, церебральные сосуды

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030), тема 0134-2019-003.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Комиссии по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных ФГБУН Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (протокол № 05/10 от 10 мая 2021 г.), проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации 2013 г.

✉ **Для корреспонденции:** Надежда Николаевна Мельникова  
наб. Макарова, д. 6, г. Санкт-Петербург, 199034; melnn@mail.ru

**Статья получена:** 30.06.2023 **Статья принята к печати:** 07.08.2023 **Опубликована онлайн:** 20.08.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.026

## EFFECTS OF MILD HYPOTHERMIA ON THE CEREBRAL MICROVASCULAR TONE

Melnikova NN ✉

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Acute blood loss is associated with deterioration of blood circulation, including microcirculation. Clinical and experimental studies are focused on the search for the possibility of neutralizing the consequences of such impairment. The use of hypothermia is considered not only as a method to improve survival, but also as a method to improve cerebral microcirculation in hemorrhage. The study was aimed to assess the state of the rats' cerebral arteries in cases of mild hypothermic exposure after acute moderate blood loss. The study involving anesthetized Wistar rats was performed by vital microscopy. We assessed the responses of pial arteries (initial diameter 10–40  $\mu\text{m}$ ) in animals cooled to the rectal temperature of 34 °C under conditions of hemodynamic stability and when simulating blood loss (20% of total blood loss) in normothermic animals and animals with mild hypothermia. The findings showed that 3.5 h of exposure were associated with vasoconstriction in animals of all studied groups. Hypothermic state of the body was associated with initial decrease in the diameter by 9% of the baseline ( $24.9 \pm 0.9 \mu\text{m}$  to  $22.7 \pm 0.7 \mu\text{m}$ ;  $p < 0.05$ ) followed by restoration of the diameter after 2 h (to  $25.7 \pm 1.7$ ;  $p > 0.05$ ). Blood loss was associated with the decrease in the diameter of cerebral blood vessels by 20–25% within the first hour ( $23.4 \pm 0.7 \mu\text{m}$  to  $17.6 \pm 1.1 \mu\text{m}$ ;  $p < 0.001$ ) and no subsequent restoration (the diameter was  $16.7 \pm 0.8 \mu\text{m}$  after 3.5 h of monitoring). When using hypothermia, vasoconstriction following blood loss was 8–10% in the first 45 min of monitoring ( $22.6 \pm 1.3 \mu\text{m}$  to  $20.3 \pm 1.2 \mu\text{m}$ ;  $p < 0.05$ ), then the constriction decrease was observed (the diameter was  $21.4 \pm 1.4 \mu\text{m}$  after 3.5 h of monitoring). It was concluded that the use of mild hypothermia resulted in the reduced vasoconstrictor effect of moderate blood loss on the pial microvessels.

**Keywords:** hypothermia, blood loss, cerebral vessels

**Funding:** the study was supported by the State Programme 47 GP “Scientific and Technological Development of the Russian Federation” (2019–2030), project 0134-2019-003.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Commission for Care and Use of Laboratory Animals, Pavlov Institute of Physiology RAS (protocol № 05/10 of 10 May 2021) and conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki (2013).

✉ **Correspondence should be addressed:** Nadezhda N. Melnikova  
nab. Makarova, 6, Saint Petersburg, 199034; melnn@mail.ru

**Received:** 30.06.2023 **Accepted:** 07.08.2023 **Published online:** 20.08.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.026



Кровопотеря при травмах — одна из основных причин повышенного уровня смертности как среди гражданских лиц, так и среди военнослужащих [1, 2]. В большинстве случаев тяжелое состояние пациентов с геморрагической гипотермией обусловлено непреднамеренная гипотермия организма [3–5].

Согласно существующим рекомендациям по лечению травм с кровотечением, гипотермию следует избегать [6, 7]. Однако еще в начале 2000-х гг. в ряде зарубежных исследований были проведены эксперименты на животных с моделированием геморрагического шока и с использованием охлаждения. Большинство исследований, выполненных на различных видах животных, было сфокусировано на влиянии разных температур на выживаемость. Так, у крыс, подвергшихся летальному неконтролируемому кровотечению, охлаждение поверхности тела до 34 и 30 °C приводило к увеличению выживаемости (119 и 132 мин соответственно против 51 мин) по сравнению с нормотермными крысами [8]. Аналогичные результаты показаны для крыс, подвергшихся контролируемому геморрагическому шоку и охлажденных до 34 °C в течение 12 ч во время реанимации [9]. Терапевтическая легкая гипотермия (34 °C) при отсроченной ограниченной инфузионной терапии улучшала выживаемость крыс после неконтролируемого геморрагического шока [10].

Модели геморрагического шока на свиней также продемонстрировали улучшение выживаемости при гипотермии. Так, поверхностное охлаждение до Tr 34 °C улучшает выживаемость свиней, подвергшихся длительному геморрагическому шоку с регулируемым объемом и разрыву селезенки [11]. Глубокое гипотермическое искусственное кровообращение может улучшить выживаемость у свиней со смертельным неконтролируемым кровотечением [12]. Изучение травматического неконтролируемого геморрагического шока у кроликов показало, что легкая гипотермия (ректальная температура, или TR, — 34 °C) после возобновления кровообращения улучшает раннюю выживаемость с улучшением работы органов без нарушений гомеостаза [13].

В дальнейшем были предприняты попытки изучения нейротекторных механизмов гипотермии. В одном из последних обзоров приведены доказательства эффективности использования терапевтической гипотермии при операциях на сердце, при черепно-мозговых травмах и неонатальной энцефалопатии как в исследованиях на животных, так и в клинических испытаниях [14]. Основным результатом использования гипотермии является предотвращение необратимого некроза нейронов и ишемического повреждения головного мозга.

Применение терапевтической гипотермии в клинической практике при геморрагическом шоке и реанимации может быть эффективным в снижении образования активных форм кислорода и уменьшении проницаемости сосудов [15], что способствует более успешной реанимации пациентов. Доказано, что терапевтическая гипотермия до 34 °C при контролируемом или неконтролируемом геморрагическом шоке у крыс уменьшает кровопотерю и потребление кислорода и не вызывает коагулопатии [16]. На модели овец показано, что применение умеренной гипотермии у здоровых животных ассоциировалось со значительным снижением плотности подъязычных капилляров при отсутствии выраженных изменений системной гемодинамики [17].

Подтверждено позитивное влияние легкой гипотермии на микроциркуляцию коры головного мозга, измеряемую с помощью многоканальной лазерной флоуметрии,

на модели остановки сердца у кроликов [18]. Подобный эффект улучшения церебрального микроциркуляторного кровообращения наблюдали у крыс, получавших раннюю легкую гипотермию всего тела во время реанимации после остановки сердца [19]. В то же время, легкая гипотермия снижала как церебральный кровоток в микрососудах свиней, так и церебральный метаболизм после восстановления циркуляции крови по сравнению с нормотермическими животными [20, 21]. Общий эффект заключался в том, что во время гипотермии улучшалось соотношение потребности и снабжения мозга кислородом.

Пилотное исследование, оценивающее влияние системной гипотермии на микроциркуляцию при тяжелом геморрагическом шоке, было осуществлено в 2021 г. [22]. В нем показано, что, хотя геморрагия вызывает серьезные нарушения микроциркуляции в сублингвальной области, в ворсинках кишечника и в коре почек овец, последующее снижение ректальной температуры до 33–34 °C улучшает микроциркуляторное кровоснабжение этих областей.

В нашей предыдущей работе иммерсионное охлаждение организма усугубляло микроциркуляторную дисфункцию, вызванную острой массивной кровопотерей [23]. При таком быстром охлаждении крыс на стадии умеренной гипотермии наблюдалось аддитивное влияние гипотермии и геморрагии на вазоконстрикторные реакции церебральных микрососудов. Для установления картины взаимовлияний гипотермии и кровопотери была поставлена цель — изучить воздействие легкой гипотермии при предварительно вызванной кровопотере средней степени на микрососудистое русло коры головного мозга крыс.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar ( $n = 23$ ) массой 280–310 г из биокolleкции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Наркотизацию животным осуществляли с помощью раствора уретана (в/б, 1000 мг/кг). Для исследования *in vivo* церебральных микрососудов производили краниотомию теменных костей размером 7–5 мм, в пределах окна удаляли твердую мозговую оболочку. В левую бедренную артерию вставляли катетер, заполненный гепаринизированным (40 Ед/мл) физиологическим раствором, для прямого измерения артериального давления, а в правую бедренную артерию — для отбора крови. Во время операций у крыс поддерживали Tr на уровне 37–38 °C с помощью электрической грелки для мелких животных.

При проведении эксперимента животных случайным образом распределяли на три группы. Животных 1-й группы ( $n = 7$ ) охлаждали до Tr 34 °C, затем температуру поддерживали на этом уровне на протяжении 3,5 ч эксперимента. У животных 2-й группы ( $n = 6$ ) моделировали кровопотерю из расчета 20% от ОЦК, в дальнейшем животное с начальной Tr 37 °C находилось при комнатной температуре 20–22 °C на протяжении 3,5 ч эксперимента. Животных 3-й группы ( $n = 10$ ) после предварительно вызванной кровопотери (из расчета 20% от ОЦК) охлаждали в воздушной среде до Tr 34 °C, которую поддерживали на протяжении 3,5 ч.

Отбор артериальной крови осуществляли из расчета 1,2 мл на 100 г веса животного или 20% от ОЦК, что приравнивается к кровопотере средней тяжести, т. е. у крысы с весом 300 г доза эксфузии крови составляла

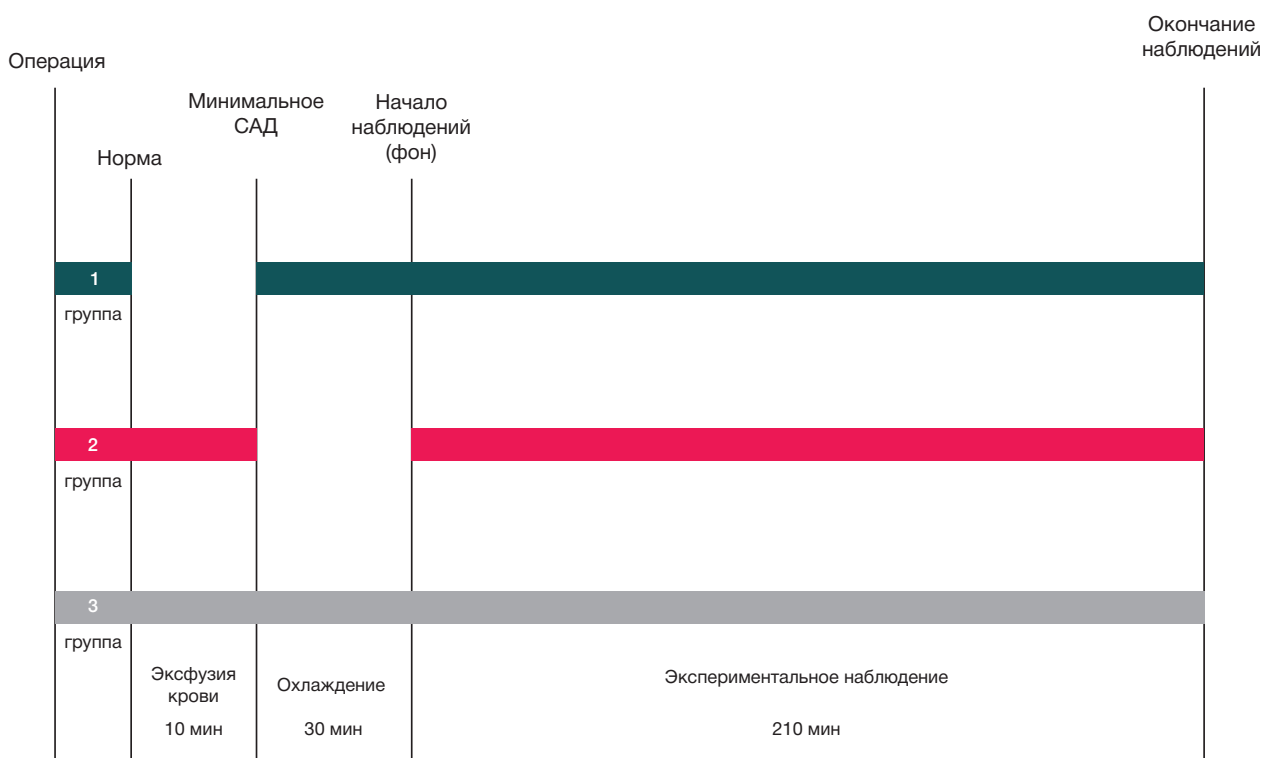


Рис. 1. Дизайн эксперимента

3,6 мл. Время забора крови составляло около 10 мин, средняя скорость эксфузии — 0,36 мл/мин.

Охлаждение крыс до  $T_{tr}$  34 °С осуществляли в воздушной среде при обычной комнатной температуре путем частичного смачивания спины животного и использования направленного потока воздуха с помощью бытового вентилятора. Длительность охлаждения составляла около 30 мин.

Порядок воздействий в каждой группе во время эксперимента представлен на рис. 1.

Визуализацию и мониторинг микрососудистого русла мягкой (сосудистой) оболочки коры головного мозга осуществляли на установке витальной микроскопии, в состав которой входили микроскоп ЛЮМАМ К-1 («ЛОМО»; Россия) с контактным темнопольным объективом и цветная видеокамера ACUMEN AiP-B84A (ACUMEN Int. Corp.; Тайвань). Полученное изображение обрабатывали на компьютере в пакете программ Pinnacle Studio. Калибровку измерений производили при помощи стандартного объект-микрометра ОШ-1 (цена деления — 10 мкм).

После предварительных процедур (охлаждение / эксфузия / их совместное воздействие) на протяжении 3,5 ч эксперимента каждые 15 мин регистрировали реакции пиальных артериальных сосудов. Исходный диаметр микрососудов составлял 10–40 мкм, большинство

артерий имели диаметр порядка 20–25 мкм. В каждой серии эксперимента на каждом временном отрезке делали по 50–90 измерений на идентичных участках сосудов. После окончания экспериментов животных усыпляли передозировкой раствора уретана.

Непрерывно регистрировали частоту сердечных сокращений по ЭКГ, среднее артериальное давление (прямое измерение через катетер от бедренной артерии) и частоту дыхания (угольный датчик). С помощью АЦП Е-154 (L-Card; Россия) аналоговые сигналы оцифровывали и записывали в память компьютера.

При статистической обработке данных использовали пакет программ STATISTICA 6.0, достоверность различий внутри каждой группы оценивали с помощью непараметрического критерия Уилкоксона, для выявления различий между группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, уровень достоверности различий —  $p < 0,05$ . Все экспериментальные данные представлены как средняя  $\pm$  ошибка средней ( $M \pm SE$ ).

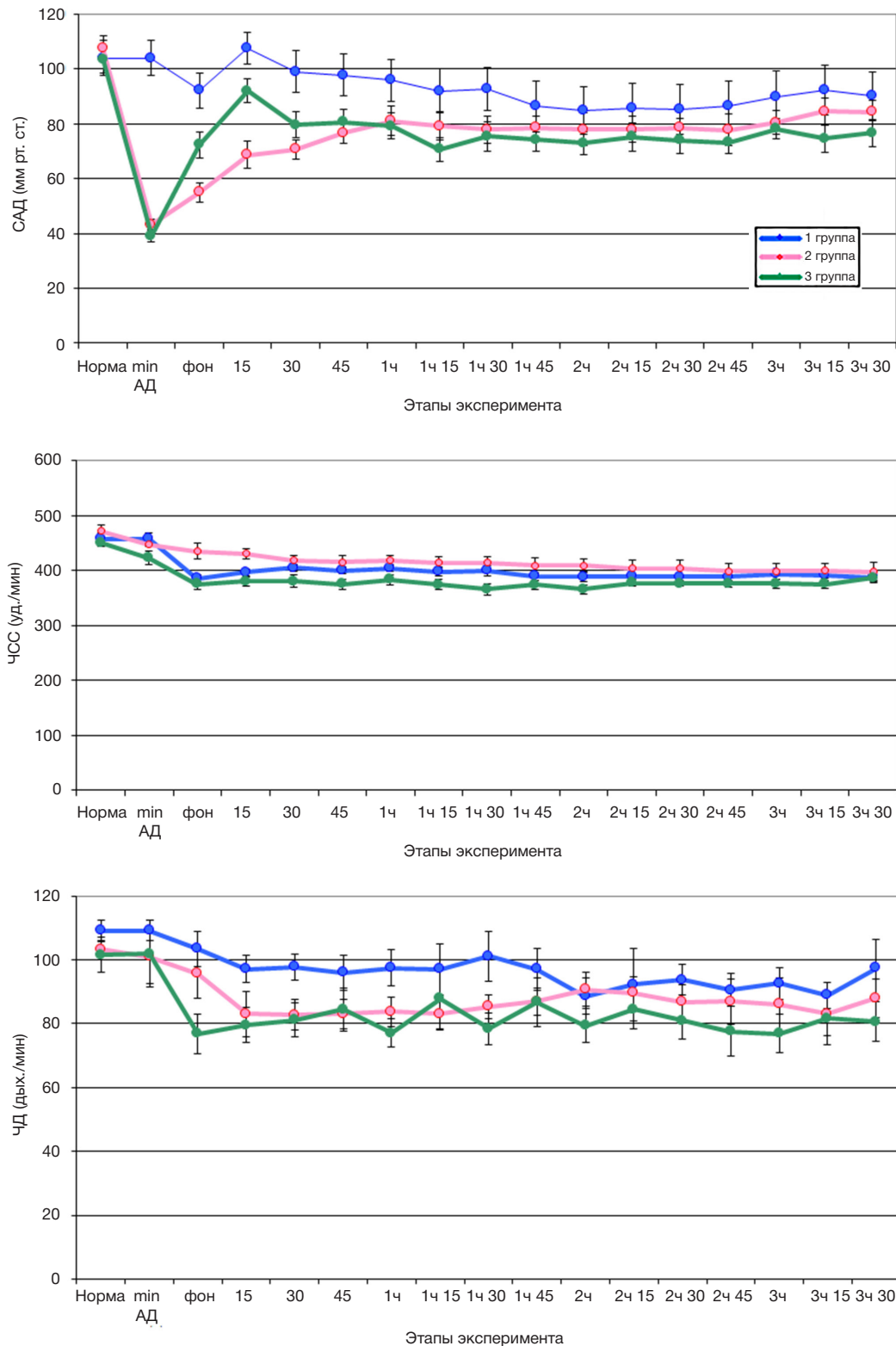
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показатели функционального состояния организма до начала воздействия (обозначены как норма) были одинаковыми ( $p > 0,05$ ) во всех экспериментальных

Таблица. Параметры функционального состояния крыс до начала наблюдений

Группы	1	2	3	2	3	1	3	2
	Норма			Забор крови, min САД		Начало наблюдений (фон)		
						Гипотермия, $T_{tr}$ 34 °С		Нормотермия, $T_{tr}$ 37 °С
САД	104,0 $\pm$ 6,4	107,5 $\pm$ 4,6	103,5 $\pm$ 4,9	42,7 $\pm$ 2,8 <sup>***</sup>	39,0 $\pm$ 1,9 <sup>***</sup>	92,2 $\pm$ 6,3 <sup>*</sup>	72,4 $\pm$ 4,7 <sup>***†††</sup>	55,0 $\pm$ 3,5 <sup>***††</sup>
ЧСС	458 $\pm$ 11,1	471,5 $\pm$ 10,8	450,4 $\pm$ 7,4	447,3 $\pm$ 11 <sup>*</sup>	422,9 $\pm$ 13,1 <sup>*</sup>	385,7 $\pm$ 6,8 <sup>**</sup>	374,7 $\pm$ 8,7 <sup>**</sup>	435,3 $\pm$ 14,5
ЧД	109,1 $\pm$ 3,2	103,3 $\pm$ 2,4	101,6 $\pm$ 5,6	101,0 $\pm$ 8,3	101,9 $\pm$ 10,5	103,4 $\pm$ 5,5	76,8 $\pm$ 6,2 <sup>**†</sup>	95,7 $\pm$ 7,8

Примечание: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$  при сравнении показателей с нормой; † —  $p < 0,05$ , †† —  $p < 0,01$ , ††† —  $p < 0,001$  при сравнении показателей начала наблюдений и забора крови.



**Рис. 2.** Среднее артериальное давление, частота сердечных сокращений и частота дыхательных движений у крыс во время эксперимента

группах (таблица). Во 2-й и 3-й группах предварительная эксфузия крови, эквивалентная 20% ОЦК, приводила к резкому снижению САД на 60% ( $p < 0.001$ ), небольшому снижению ЧСС на 5–7% ( $p < 0.05$ ), однако ЧД оставалась без изменений ( $p > 0.05$ ). В 1-й и 3-й группах при достижении к началу наблюдений  $T_{\text{р}} 34^{\circ}\text{C}$  (обозначено как фон) показатель САД был ниже значений нормы на 11% ( $p < 0.05$ ) и на 30% ( $p < 0.001$ ) соответственно, ЧСС снижался на 16–17% ( $p < 0.01$ ) в обеих группах,

ЧД на 5% ( $p > 0.05$ ) в 1-й группе и на 24% ( $p < 0.01$ ) — в 3-й группе. Во 2-й группе к началу наблюдений (фон) показатель САД увеличился на 29% ( $p < 0.01$ ) от зафиксированного минимального САД во время забора крови, а значения ЧСС и ЧД несколько уменьшились ( $p > 0.05$ ), при этом  $T_{\text{р}}$  составляла  $37,1 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ . Таким образом, к началу наблюдений (фон) физиологические показатели животных достигали определенных значений, отличающихся от параметров нормы, после

чего в течение 3,5 ч в 1-й и 3-й группах у животных поддерживалась нужная по условиям эксперимента  $T_{tr}$  34 °С, а животные 2-й группы находились при комнатной температуре.

В 1-й группе (рис. 2) на 15-й минуте гипотермического состояния крысы САД несколько повышалось до  $107,7 \pm 5,7$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ), но в дальнейшем находилось в интервале 85–98 мм рт. ст. ЧСС у животных этой группы в течение первых 1,5 ч наблюдений была несколько выше фона, а затем — на его уровне, но до значений нормы не поднималась. Попарное сравнение ЧД в 1-й группе показало небольшое статистически значимое различие между этим показателем в норме и при гипотермическом состоянии животного ( $p < 0,05$ ) на протяжении всего эксперимента.

Во 2-й группе на всем этапе экспериментального наблюдения животных  $T_{tr}$  снижалась и к концу наблюдений (через 3,5 ч) достигала значения  $34,3 \pm 0,3$  °С. САД равномерно поднималось в течение 1 ч до значений 80 мм рт. ст. ( $p < 0,01$ ), затем оставалось на этом уровне до конца наблюдений. ЧСС имела тенденцию к снижению на всем периоде наблюдений, в конце этого периода значение ЧСС было на 16% ниже нормы и на 9% ниже фона ( $p < 0,01$ ). ЧД удерживалась на уровне фоновых значений.

В 3-й группе САД к моменту начала охлаждения животных поднялось до уровня  $53,9 \pm 3,7$  мм рт. ст., при дальнейшем охлаждении продолжило увеличение до  $72,4 \pm 4,7$  мм рт. ст. в точке начала наблюдений и имело максимальное значение после кровопотери на 15-й минуте наблюдений  $92,1 \pm 4,2$  мм рт. ст. ( $p < 0,001$ ). ЧСС и ЧД на всем периоде наблюдений находились на уровне фона.

На рис. 3 представлены результаты прямых измерений диаметра пиальных артерий в мкм.

На этапе эксперимента от исходного состояния животного до фоновых значений в начале наблюдения изменение диаметра сосудов рассчитывали в процентах от исходного диаметра (норма). Вазоконстрикцию наблюдали во всех трех группах, как при предварительной эксфузии крови, так и при охлаждении животных. В момент минимального САД сужение сосудов составило 9% во 2-й группе и 4% в 3-й группе. После охлаждения животных к началу наблюдений уменьшение диаметра составило в 1-й группе  $17,2 \pm 2,8\%$ , в 3-й —  $18,4 \pm 2,3\%$  от нормы ( $p < 0,001$ ).

Для объективной оценки дальнейших изменений микрососудистого русла в ходе экспериментального наблюдения за 100% взяли величину диаметра сосудов в начале этого этапа (фон). Эти изменения показаны на рис. 4. При продолжающемся гипотермическом состоянии организма (1-я группа) происходило первоначальное уменьшение диаметра, а затем его восстановление до уровня фона через 2 ч. Во 2-й группе в ходе экспериментального наблюдения при комнатной температуре диаметр церебральных микрососудов продолжил уменьшаться на протяжении первого часа, а затем оставался на уровне 80% от фона, не демонстрируя тенденции к восстановлению. Сужение артерий у животных 3-й группы, подвергшихся сочетанному воздействию кровопотери и гипотермии, за первые 45 мин экспериментальных наблюдений было в 2 раза меньше, чем у животных 2-й группы, в дальнейшем это соотношение увеличивалось.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основными факторами синдрома острой кровопотери являются уменьшение ОЦК, изменения сосудистого тонуса и снижение сердечного выброса [7, 24]. Считается, что при кровопотере 15% ОЦК действует компенсаторный механизм, но при большей кровопотере для предотвращения прогрессирующей гипотонии он оказывается несостоятельным. В нашей работе была использована модель острой кровопотери средней степени для мелких животных (средняя скорость эксфузии составляла 0,36 мл/мин) при общей кровопотере 20% ОЦК, которая приводила к снижению САД до значений  $\approx 40$  мм рт. ст. В дальнейшем при нормотермии происходила незначительная компенсация давления: к началу наблюдений во 2-й группе САД поднялось до  $55 \pm 3,5$  мм рт. ст., а затем плавно увеличивалось во времени до 70–80 мм рт. ст. При гипотермическом воздействии на фоне кровопотери (3-я группа) компенсаторное увеличение САД наступало раньше и было более значительным (до 90 мм рт. ст.). На основании этих результатов можно отметить, что в условиях острой кровопотери 20% ОЦК компенсация САД происходила быстрее и эффективнее при гипотермии легкой степени, чем при нормотермии.

Безусловно, артериальное давление служит лишь средством энергообеспечения тканей и не отражает в

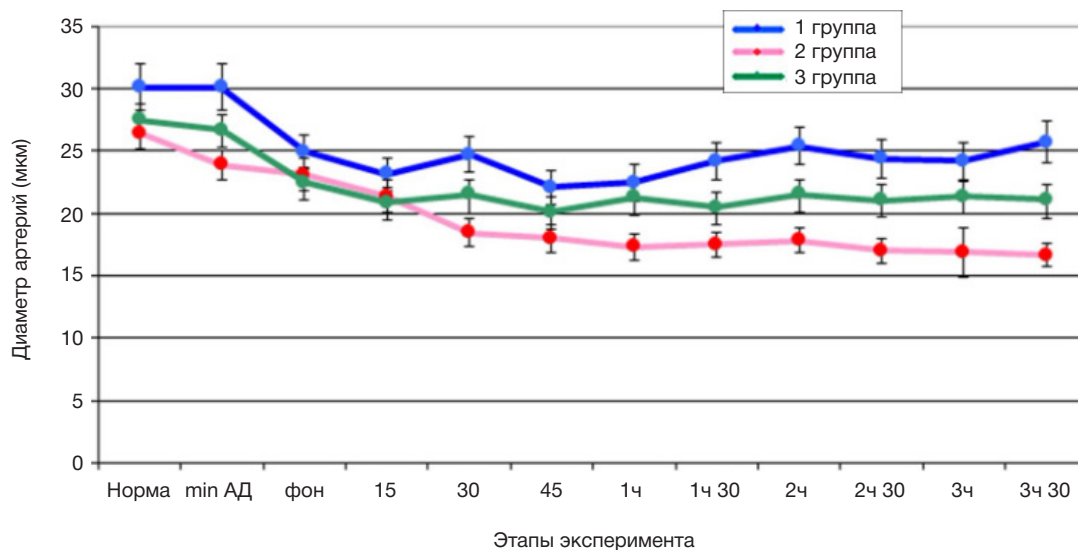


Рис. 3. Изменение диаметра пиальных артерий на разных этапах эксперимента

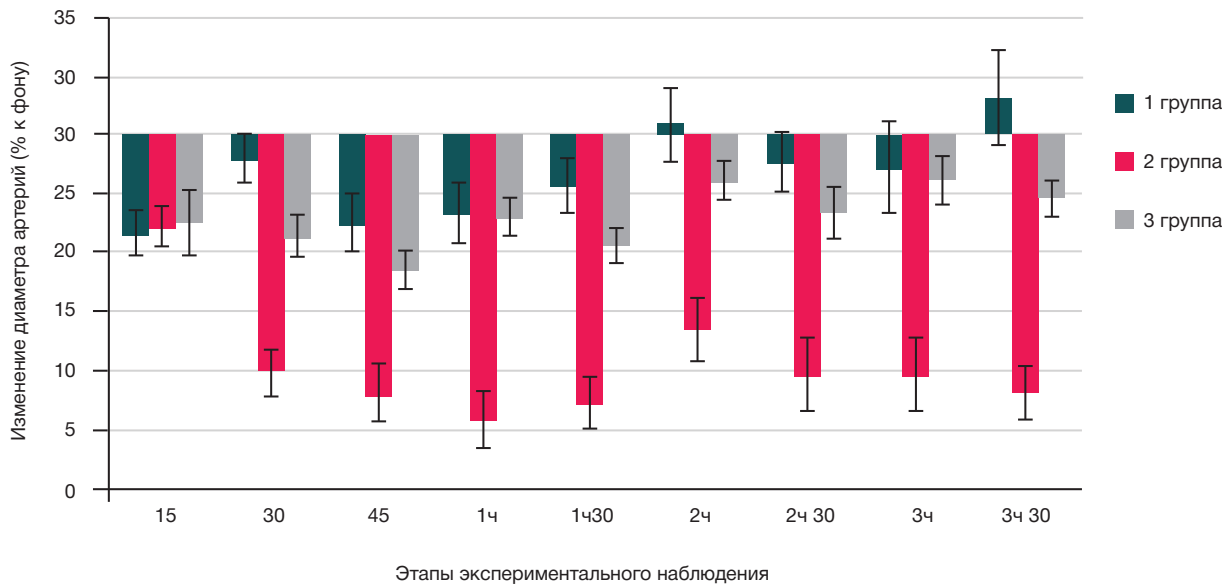


Рис. 4. Динамика изменений диаметров пиальных артерий крыс по отношению к фону в различных экспериментальных группах

полной мере гипоперфузию тканей, возникающую при острой потере части ОЦК, тем не менее, по изменению величины САД можно ориентировочно оценить состояние тканевого кровотока. Считается, что при САД более 80 мм рт. ст. капиллярный кровоток сохранен, при САД ниже 55 мм рт. ст. прекращается ауторегуляция в органах, а критическое нарушение перфузии головного мозга возникает при САД ниже 35 мм рт. ст. [24]. Поскольку в нашем исследовании при использовании гипотермии наблюдалась более быстрая компенсация САД до 90 мм рт. ст. и его последующее поддержание на уровне 75–80 мм рт. ст., можно предположить, что гипотермическое воздействие легкой степени предотвращает или существенно снижает риск развития гипоксии органов.

Результаты данной экспериментальной работы подтверждают, что легкая степень гипотермии как при средней степени кровопотери, так и без нее однозначно влияет на изменение состояния микроциркуляторного русла у наркотизированных крыс. Мы наблюдали вазоконстрикцию по сравнению с исходными показателями у животных всех экспериментальных групп (рис. 3). На протяжении 3,5 ч наблюдений были отмечены лишь небольшие различия в показателях ЧСС и ЧД у крыс разных экспериментальных групп в первые 90 мин, а на заключительном этапе эти показатели не отличались ( $p > 0,05$ ), более того, и различия в значениях САД между всеми группами в конце наблюдений не были статистически достоверны. Таким образом, было показано, что экспозиция животных в течение 3,5 ч при гипотермии, при нормотермии после кровопотери и при сочетанном воздействии кровопотери и гипотермии не приводила к существенным отличиям САД, ЧСС и ЧД на заключительном этапе, однако сопровождалась изменением диаметра пиальных артерий у крыс всех исследуемых групп.

Компенсация при кровопотере возникает в том числе в результате рефлекторной симпатико-опосредованной артериолярной вазоконстрикции, вызванной катехоламинами, действующими на  $\alpha 1$ -рецепторы [7]. В нашей работе показано, что происходит спазм не только периферических, но и церебральных артериальных сосудов, по крайней мере, в изучаемой нами теменной области коры. Считается, что основная роль в

перераспределении крови для обеспечения адекватного кровоснабжения ткани мозга принадлежит именно пиальным артериям [25].

При гипотермии с самого начала процесса охлаждения нами зарегистрированы микроциркуляторные нарушения, что согласуется с существующими исследованиями. Так, при изучении влияния умеренной степени гипотермии на динамику показателей микроциркуляторного русла зоны проекции хвостовой вены крыс были показаны развитие вазоконстрикции и снижение показателей микроциркуляции [26]. Эксперименты на сосудах мозга показали ту же зависимость: во время охлаждения кровотока в церебральных микрососудах прогрессивно снижается [21]. Микроциркуляция может играть решающую роль, когда клеточный метаболизм адаптируется к колебаниям температуры. При снижении температуры и, соответственно, скорости метаболизма, сужаются прекапиллярные резистивные сосуды, уменьшая кровоток, что приводит к менее эффективной перфузионной способности микроциркуляции [20, 21]. Тем не менее, в этих работах показано, что охлаждение не приводило к ухудшению снабжения мозга кислородом, поскольку при снижении перфузии церебральных сосудов концентрация кислорода оставалась стабильной или даже повышенной. Этот важный факт свидетельствует, что при гипотермии соотношение потребности и снабжения мозга кислородом улучшается.

Взаимосвязь гипотермии и геморрагии неоднократно изучали в различных условиях, однако число исследований, оценивающих влияние системного гипотермического воздействия на микроциркуляторное русло головного мозга при острой кровопотере, невелико. Модели геморрагического шока на различных видах животных продемонстрировали улучшение выживаемости при гипотермии [8–13]. Было показано улучшение микроциркуляторного кровоснабжения головного мозга при сердечно-легочной реанимации с помощью легкой гипотермии [18, 19, 27]. Наше исследование также показало, что использование гипотермии легкой степени улучшало состояние микроциркуляторного русла коры головного мозга крыс после острой умеренной кровопотери. Это согласуется с результатами исследований, показавших, что при геморрагическом шоке системное переохлаждение

организма защищало от дальнейших нарушений в области микрососудистого русла коры почек, ворсинок кишечника и сублингвальной области [22].

В нашем предыдущем исследовании при непрерывном иммерсионном охлаждении животных до гипотермической остановки дыхания в период глубокой гипотермии происходило сужение сосудов примерно на 20% от нормы, а при предварительно вызванной кровопотере (35% ОЦК) и последующем охлаждении сужение сосудов составляло более 30% [23]. В этой работе охлаждение до столь низких температур не проводили, охлаждение животных 1-й и 3-й групп выполняли лишь до  $T_{\text{р}} 34^{\circ}\text{C}$ , а величина эксфузии крови составляла 20% от ОЦК. При таких более мягких условиях сужение менее выражено, что свидетельствует о прямой зависимости величины вазоконстрикции от степени воздействия негативных факторов на организм.

Нейропротекторные механизмы гипотермии при использовании ее после нарушений церебральной микроциркуляции до конца не изучены. Легкая гипотермия после реперфузионного повреждения снижает повышенный коэффициент экстракции кислорода в головном мозге [19]. В обзоре, посвященном влиянию терапевтической гипотермии при неврологических состояниях, отмечалось, что определяющим механизмом протекторного действия гипотермии служат замедление

скорости метаболизма и снижение потребности мозга в кислороде и глюкозе [28]. Можно предположить, что именно снижение потребности в кислороде лежит в основе компенсации гипотермией сниженного мозгового кровотока после острого геморрагического воздействия.

## Выводы

Результаты исследования свидетельствуют, что в условиях гипотермии легкой степени, геморрагии 20% ОЦК и их сочетанном воздействии в пилальных микрососудах наркотизированных крыс наблюдались преимущественно вазоконстрикторные эффекты. Использование легкой гипотермии приводило к существенному сокращению вазоконстрикторного влияния острой кровопотери средней степени на церебральные микрососуды. Необходимо отметить, что на сегодняшний день, несмотря на обширные исследования в области применения гипотермии в медицинской практике, данные относительно использования гипотермии в моделях травмы и геморрагии животных и человека довольно немногочисленны. Необходимы дальнейшие исследования для определения возможности и наиболее эффективных схем применения гипотермии при травматическом повреждении и кровопотере.

## Литература

1. Perlman R, Callum J, Laflamme C, Tien H, Nascimento B, Beckett A, Alam A. A recommended early goal-directed management guideline for the prevention of hypothermia-related transfusion, morbidity, and mortality in severely injured trauma patients. *Crit Care*. 2016; 20 (1): 107. PubMed PMID: 27095272.
2. Poh PY, Gagnon D, Romero SA, Convertino VA, Adams-Huet B, Crandall CG. Hemodynamic stability to surface warming and cooling during sustained and continuous simulated hemorrhage in humans. *Shock*. 2016; 46 (3 Suppl 1): 42–9. PubMed PMID: 27224744.
3. van Veelen MJ, Brodmann Maeder M. Hypothermia in trauma. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (16): 8719. PubMed PMID: 34444466.
4. Rösli D, Schnüriger B, Candinas D, Haltmeier T. The impact of accidental hypothermia on mortality in trauma patients overall and patients with traumatic brain injury specifically: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg*. 2020; 44 (12): 4106–17. PubMed PMID: 32860141.
5. Rauch S, Miller C, Bräuer A, Wallner B, Bock M, Paal P. Perioperative Hypothermia-A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (16): 8749. PubMed PMID: 34444504.
6. Григорьев Е. В., Лебединский К. М., Щеголев А. В., Бобовник С. В., Буланов А. Ю., Заболотских И. Б. и др. Реанимация и интенсивная терапия при острой массивной кровопотере у взрослых пациентов. *Анестезиология и реаниматология*. 2020; (1): 5–24.
7. Bonanno FG. Management of hemorrhagic shock: physiology approach, timing and strategies. *J Clin Med*. 2023; 12 (1): 260. PubMed PMID: 36615060.
8. Takasu A, Carrillo P, Stezoski SW, Safar P, Tisherman SA. Mild or moderate hypothermia but not increased oxygen breathing prolongs survival during lethal uncontrolled hemorrhagic shock in rats, with monitoring of visceral dysoxia. *Crit Care Med*. 1999; 27 (8): 1557–64. PubMed PMID: 10470764.
9. Wu X, Stezoski J, Safar P, Nozari A, Tisherman SA. After spontaneous hypothermia during hemorrhagic shock, continuing mild hypothermia (34 degrees C) improves early but not late survival in rats. *J Trauma*. 2003; 55 (2): 308–16. PubMed PMID: 12913642.
10. Hachimi-Idrissi S, Yang X, Nguyen DN, Huyghens L. Combination of therapeutic mild hypothermia and delayed fluid resuscitation improved survival after uncontrolled haemorrhagic shock in mechanically ventilated rats. *Resuscitation*. 2004; 62 (3): 303–10. PubMed PMID: 15325450.
11. Wu X, Kochanek PM, Cochran K, Nozari A, Henchir J, Stezoski SW, et al. Mild hypothermia improves survival after prolonged, traumatic hemorrhagic shock in pigs. *J Trauma*. 2005; 59 (2): 291–301. PubMed PMID: 16294067.
12. Alam HB, Rhee P, Honma K, Chen H, Ayuste EC, Lin T et al. Does the rate of rewarming from profound hypothermic arrest influence the outcome in a swine model of lethal hemorrhage? *J Trauma*. 2006; 60 (1): 134–46. PubMed PMID: 16456447.
13. Jiang SY, Zhao YY, Zhao XG. Potential role of therapeutic hypothermia in the salvage of traumatic hemorrhagic shock. *Crit Care*. 2013; 17 (3): 318. PubMed PMID: 23714428.
14. Hong JM, Choi ES, Park SY. Selective brain cooling: a new horizon of neuroprotection. *Front Neurol*. 2022; 20; 13: 873165. PubMed PMID: 35795804.
15. Childs EW, Udobi KF, Hunter FA. Hypothermia reduces microvascular permeability and reactive oxygen species expression after hemorrhagic shock. *J Trauma*. 2005; 58 (2): 271–7. PubMed PMID: 15706187.
16. Li T, Lin X, Zhu Y, Li L, Liu L. Short-term, mild hypothermia can increase the beneficial effect of permissive hypotension on uncontrolled hemorrhagic shock in rats. *Anesthesiology*. 2012; 116 (6): 1288–98. PubMed PMID: 22546964.
17. He X, Su F, Taccone FS, Maciel LK, Vincent JL. Cardiovascular and microvascular responses to mild hypothermia in an ovine model. *Resuscitation*. 2012; 83 (6): 760–6. PubMed PMID: 22155698.
18. Chun-Lin H, Jie W, Xiao-Xing L, Xing L, Yu-Jie L, Hong Z, et al. Effects of therapeutic hypothermia on coagulopathy and microcirculation after cardiopulmonary resuscitation in rabbits. *Am J Emerg Med*. 2011; 29 (9): 1103–10. PubMed PMID: 20951524.
19. Gong P, Zhao S, Wang J, Yang Z, Qian J, Wu X, et al. Mild hypothermia preserves cerebral cortex microcirculation after resuscitation in a rat model of cardiac arrest. *Resuscitation*. 2015; 97: 109–14. PubMed PMID: 26485658.

20. Wu J, Yuan W, Li J, Zhao Y, Li J, Li Z. Effects of mild hypothermia on cerebral large and small microvessels blood flow in a porcine model of cardiac arrest. *Neurocrit Care*. 2017; 27 (2): 297–303. PubMed PMID: 28405859.
21. Donadello K, Su F, Annoni F, Scolletta S, He X, Peluso L, et al. The effects of temperature management on brain microcirculation, oxygenation and metabolism. *Brain Sci*. 2022; 12 (10): 1422. PubMed PMID: 36291355.
22. Caminos Eguillor JF, Ferrara G, Kanoore Edul VS, Buscetti MG, Canales HS, Lattanzio B, et al. Effects of systemic hypothermia on microcirculation in conditions of hemodynamic stability and in hemorrhagic shock. *Shock*. 2021; 55 (5): 686–92. PubMed PMID: 32694390.
23. Мельникова Н. Н. Воздействие системной гипотермии на реакции пиллярных артерий при острой массивной кровопотере у наркотизированных крыс линии Wistar. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2022; 58 (5): 382–92.
24. Васильев А. Г., Хайцев Н. В., Балашов А. Л., Балашов Л. Д., Кравцова А. А., Трашков А.П. и др. О патогенезе синдрома острой кровопотери. *Педиатр*. 2019; 10 (3): 93–100.
25. Маркина Л. Д., Ширяева Е. Е., Маркин В. В. Морфофункциональные особенности пиллярных артерий зон смежного кровоснабжения головного мозга в условиях острой циркуляторной гипоксии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2015; (1): 40–2.
26. Лычева Н. А., Седов А. В., Макушкина Д. А., Шахматов И. И., Вдовин В. М. Непреднамеренная гипотермия как фактор нарушения работы микроциркуляторного русла. *Казанский медицинский журнал*. 2019; 100 (2): 252–6.
27. Yu H, Wang L, Zhang H, Wei W, Chen Y, Tang W. Effect of mild hypothermia on cerebral microcirculation in a murine cardiopulmonary resuscitation model. *Microcirculation*. 2019; 26 (6): e12537. PubMed PMID: 30801897.
28. Kurisu K, Kim JY, You J, Yenari MA. Therapeutic hypothermia and neuroprotection in acute neurological disease. *Curr Med Chem*. 2019; 26 (29): 5430–55. PubMed PMID: 31057103.

## References

1. Perlman R, Callum J, Laflamme C, Tien H, Nascimento B, Beckett A, Alam A. A recommended early goal-directed management guideline for the prevention of hypothermia-related transfusion, morbidity, and mortality in severely injured trauma patients. *Crit Care*. 2016; 20 (1): 107. PubMed PMID: 27095272.
2. Poh PY, Gagnon D, Romero SA, Convertino VA, Adams-Huet B, Crandall CG. Hemodynamic stability to surface warming and cooling during sustained and continuous simulated hemorrhage in humans. *Shock*. 2016; 46 (3 Suppl 1): 42–9. PubMed PMID: 27224744.
3. van Veelen MJ, Brodmann Maeder M. Hypothermia in trauma. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (16): 8719. PubMed PMID: 34444466.
4. Rösli D, Schnüriger B, Candinas D, Haltmeier T. The impact of accidental hypothermia on mortality in trauma patients overall and patients with traumatic brain injury specifically: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg*. 2020; 44 (12): 4106–17. PubMed PMID: 32860141.
5. Rauch S, Miller C, Bräuer A, Wallner B, Bock M, Paal P. Perioperative Hypothermia-A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18 (16): 8749. PubMed PMID: 34444504.
6. Grigorev EV, Lebedinskij KM, Shhegolev AV, Bobovnik SV, Bulanov AY, Zabolotskix IB, i dr. Reanimaciya i intensivnaya terapiya pri ostroj massivnoj krvopotere u vzroslyx pacientov. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2020; (1): 5–24. Russian.
7. Bonanno FG. Management of hemorrhagic shock: physiology approach, timing and strategies. *J Clin Med*. 2023; 12 (1): 260. PubMed PMID: 36615060.
8. Takasu A, Carrillo P, Stezoski SW, Safar P, Tisherman SA. Mild or moderate hypothermia but not increased oxygen breathing prolongs survival during lethal uncontrolled hemorrhagic shock in rats, with monitoring of visceral dysoxia. *Crit Care Med*. 1999; 27 (8): 1557–64. PubMed PMID: 10470764.
9. Wu X, Stezoski J, Safar P, Nozari A, Tisherman SA. After spontaneous hypothermia during hemorrhagic shock, continuing mild hypothermia (34 degrees C) improves early but not late survival in rats. *J Trauma*. 2003; 55 (2): 308–16. PubMed PMID: 12913642.
10. Hachimi-Idrissi S, Yang X, Nguyen DN, Huyghens L. Combination of therapeutic mild hypothermia and delayed fluid resuscitation improved survival after uncontrolled haemorrhagic shock in mechanically ventilated rats. *Resuscitation*. 2004; 62 (3): 303–10. PubMed PMID: 15325450.
11. Wu X, Kochanek PM, Cochran K, Nozari A, Henchir J, Stezoski SW, et al. Mild hypothermia improves survival after prolonged, traumatic hemorrhagic shock in pigs. *J Trauma*. 2005; 59 (2): 291–301. PubMed PMID: 16294067.
12. Alam HB, Rhee P, Honma K, Chen H, Ayuste EC, Lin T et al. Does the rate of rewarming from profound hypothermic arrest influence the outcome in a swine model of lethal hemorrhage? *J Trauma*. 2006; 60 (1): 134–46. PubMed PMID: 16456447.
13. Jiang SY, Zhao YY, Zhao XG. Potential role of therapeutic hypothermia in the salvage of traumatic hemorrhagic shock. *Crit Care*. 2013; 17 (3): 318. PubMed PMID: 23714428.
14. Hong JM, Choi ES, Park SY. Selective brain cooling: a new horizon of neuroprotection. *Front Neurol*. 2022; 20; 13: 873165. PubMed PMID: 35795804.
15. Childs EW, Udobi KF, Hunter FA. Hypothermia reduces microvascular permeability and reactive oxygen species expression after hemorrhagic shock. *J Trauma*. 2005; 58 (2): 271–7. PubMed PMID: 15706187.
16. Li T, Lin X, Zhu Y, Li L, Liu L. Short-term, mild hypothermia can increase the beneficial effect of permissive hypotension on uncontrolled hemorrhagic shock in rats. *Anesthesiology*. 2012; 116 (6): 1288–98. PubMed PMID: 22546964.
17. He X, Su F, Taccone FS, Maciel LK, Vincent JL. Cardiovascular and microvascular responses to mild hypothermia in an ovine model. *Resuscitation*. 2012; 83 (6): 760–6. PubMed PMID: 22155698.
18. Chun-Lin H, Jie W, Xiao-Xing L, Xing L, Yu-Jie L, Hong Z, et al. Effects of therapeutic hypothermia on coagulopathy and microcirculation after cardiopulmonary resuscitation in rabbits. *Am J Emerg Med*. 2011; 29 (9): 1103–10. PubMed PMID: 20951524.
19. Gong P, Zhao S, Wang J, Yang Z, Qian J, Wu X, et al. Mild hypothermia preserves cerebral cortex microcirculation after resuscitation in a rat model of cardiac arrest. *Resuscitation*. 2015; 97: 109–14. PubMed PMID: 26485658.
20. Wu J, Yuan W, Li J, Zhao Y, Li J, Li Z. Effects of mild hypothermia on cerebral large and small microvessels blood flow in a porcine model of cardiac arrest. *Neurocrit Care*. 2017; 27 (2): 297–303. PubMed PMID: 28405859.
21. Donadello K, Su F, Annoni F, Scolletta S, He X, Peluso L, et al. The effects of temperature management on brain microcirculation, oxygenation and metabolism. *Brain Sci*. 2022; 12 (10): 1422. PubMed PMID: 36291355.
22. Caminos Eguillor JF, Ferrara G, Kanoore Edul VS, Buscetti MG, Canales HS, Lattanzio B, et al. Effects of systemic hypothermia on microcirculation in conditions of hemodynamic stability and in hemorrhagic shock. *Shock*. 2021; 55 (5): 686–92. PubMed PMID: 32694390.
23. Melnikova NN. Vozdejstvie sistemnoj gipotermii na reakcii pial'nyx arterij pri ostroj massivnoj krvopotere u narkotizirovannyx kryx linii Wistar. *Zhurnal ehvolucionnoj bioximii i fiziologii*. 2022; 58 (5): 382–92. Russian.
24. Vasilev AG, Xajcev NV, Balashov AL, Balashov LD, Kravcova AA., Trashkov AP, i dr. O patogeneze sindroma ostroj krvopoteri. *Pediatr*. 2019; 10 (3): 93–100. Russian.
25. Markina LD, Shiryaeva EE, Markin VV. Morfofunkcional'nye osobennosti pial'nyx arterij zon smezhnogo krvosnabzheniya golovnogo mozga v usloviyax ostroj cirkulyatornoj gipoksii. *Tixookeanskij medicinskij zhurnal*. 2015; (1): 40–2. Russian.
26. Lycheva NA, Sedov AV, Makushkina DA, Shaxmatov II, Vdovin VM.

- Neprednamerennaya gipotermiya kak faktor narusheniya raboty mikrocirkulyatornogo rusla. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2019; 100 (2): 252–6. Russian.
27. Yu H, Wang L, Zhang H, Wei W, Chen Y, Tang W. Effect of mild hypothermia on cerebral microcirculation in a murine cardiopulmonary resuscitation model. *Microcirculation*. 2019; 26 (6): e12537. PubMed PMID: 30801897.
28. Kurisu K, Kim JY, You J, Yenari MA. Therapeutic hypothermia and neuroprotection in acute neurological disease. *Curr Med Chem*. 2019; 26 (29): 5430–55. PubMed PMID: 31057103.



## ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РЕТРОСПЛЕНИАЛЬНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

С. А. Гуляев<sup>1,2</sup>✉, Л. М. Ханухова<sup>2</sup>, А. А. Гармаш<sup>1</sup><sup>1</sup> Инженерно-физический институт биомедицины Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Москва, Россия<sup>2</sup> Клиника Ла Салюте, Москва, Россия

Головной мозг человека представляет собой один из самых сложных для исследования органов. Огромный интерес представляет возможность разработки технологий, обладающих достаточной научной точностью и экономической доступностью при полном соблюдении морально-этических норм человеческого сообщества. Целью работы было изучить возможность исследования активности структур ретроспленальной коры (RSC) на основе ЭЭГ-анализа биоэлектрической активности головного мозга в альфа-диапазоне частот у 36 здоровых добровольцев возрастом в среднем 29,1 года, не имевших острых и хронических заболеваний центральной нервной системы в стадии обострения, тяжелых черепно-мозговых травм, психических заболеваний и эпилепсии. Получены статистически достоверные локализации источников с помощью решения обратной ЭЭГ-задачи, позволяющие использовать их для идентификации биоэлектрической активности структур ретроспленальной коры головного мозга. Применение данной технологии позволит расширить объем исследований функциональной активности головного мозга как в научных, так и клинических учреждениях, создав условия для понимания особенностей работы мозговых структур в условиях физиологической нормы и при наличии психических заболеваний, основу которых составляют различные функциональные изменения головного мозга.

**Ключевые слова:** электроэнцефалография, математические методы, ретроспленальная кора, биоэлектрическая активность головного мозга

**Вклад авторов:** С. А. Гуляев — идея проекта, реализация клинико-нейрофизиологического исследования, статистический анализ результатов; Л. М. Ханухова — организация исследования; А. А. Гармаш — общее руководство исследованием.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом НИЯУ МИФИ (протокол № 05/23 от 25 мая 2023 г.), проведено в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующими обновлениями.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Александрович Гуляев  
Раменки, д. 31, к. 136, г. Москва, 119607, Россия; s.gulyaev73@gmail.com

**Статья получена:** 27.06.2023 **Статья принята к печати:** 04.09.2023 **Опубликована онлайн:** 25.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.028

## FEATURES OF BIOELECTRIC ACTIVITY OF THE RETROSPLLENIAL CORTEX

Gulyaev SA<sup>1,2</sup>✉, Khanukhova LM<sup>2</sup>, Garmash AA<sup>1</sup><sup>1</sup> Institute for Physics and Engineering in Biomedicine, National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia<sup>2</sup> La Salute Clinic, Moscow, Russia

Human brain is one of the most difficult organs to study. The possibility of developing the technologies that have sufficient scientific accuracy and economic accessibility and never violate the moral and ethical standards of human society is of great interest. The study was aimed to study the possibility of assessing the retrosplenial cortex (RSC) structures' activity based on the EEG analysis of brain activity in the alpha frequency range in 36 healthy volunteers with an average age of 29.1 years, no acute central nervous system disorders or exacerbation of chronic central nervous system disorders, severe traumatic brain injuries, mental disorders or epilepsy. Significant source localizations were obtained by solving the EEG inverse problem that could be used for identification of the cerebral retrosplenial cortex structures' bioelectric activity. The use of such technology will allow us to expand the scope of the research focused on assessing the brain functional activity in both research and clinical centers, thereby paving the way for understanding the features of the brain structures' activity in physiologically normal conditions and in individuals with mental disorders caused by various functional alterations in the brain.

**Keywords:** electroencephalography, mathematical methods, retrosplenial cortex, bioelectrical activity of the brain

**Author contributions:** Gulyaev SA — study concept, clinical neurophysiological assessment, statistical analysis of the results; Khanukhova LM — research organization; Garmash AA — general management.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the National Research Nuclear University MEPhI (protocol № 05/23 of 25 May 2023) and conducted in accordance with the principles of biomedical ethics 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, Russia; s.gulyaev73@gmail.com

**Received:** 27.06.2023 **Accepted:** 04.09.2023 **Published online:** 25.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.028

Головной мозг человека представляет собой один из самых сложных для исследования органов, что обусловлено особенностями человеческой анатомии, необходимостью соблюдать этические нормы, а также экономической составляющей применения современных методов функциональной визуализации: компьютерной томографии (КТ), позитрон-эмиссионной (ПЭТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Поэтому большой интерес представляет возможность разработки таких исследовательских технологий, которые могли бы обладать достаточной научной точностью, экономической доступностью, а также не нарушать морально-этические нормы современного общества.

Одной из таких технологий стала электроэнцефалография (ЭЭГ), разработанная еще в начале прошлого века, но получившая новый стимул развития с внедрением систем математической обработки данных [1–3].

Активность головного мозга с позиции ЭЭГ-исследования представляет собой совокупность ритмических феноменов, отражающих изменения суммарного постсинаптического потенциала. Наиболее выраженным и часто регистрируемым ЭЭГ-феноменом является альфа-активность, которую в настоящее время связывают с работой зрительного анализатора или зрительной коры (VC) (полей 17, 18, 19 по Бродману) [4]. Занимая практически всю затылочную долю, он продуцирует

выраженную в затылочных отведениях ритмическую активность частотой 8–14 Гц, исчезающую при открывании глаз, связь которой со зрительной корой убедительно доказывает наличие ритмических феноменов, связанных с активностью других невральных анализаторов — мю- и каппа-ритмов, имеющих специфические раздражители и не реагирующие на пробу с открыванием глаз [5–9]. Однако в ряде исследований [10, 11] отмечена неоднородность альфа-активности у лиц с пограничными состояниями и психическими девиациями, проявляющаяся в виде полимодальности альфа-ритма, что формирует вопрос о возможном наличии измененного процесса восприятия у таких людей. В то же время выявлено [12], что источником данной неоднородности может быть не зрительная кора, а ритмическая активность задних отделов поясной извилины — структуры, относящейся к области ретроспленальной коры (retrosplenial cortex, RSC).

Изучение RSC интересно вследствие ее непосредственного участия в сложных когнитивных процессах, таких как пространственное познание, а также анализ и исправление ошибок для сенсорных состояний, связанных с внутренними представлениями об окружающей среде [13]. Расположенная в задней части поясной коры (области 26, 29, 30, 23, 31 по Бродману) [14], данная область связана с ядрами переднего таламуса, энторинальной и теменной корой, субикулумом и гиппокампом [15, 16, 17], что определяет ее основополагающую роль в процессах пространственно-временной ориентации (самоопределения человека и его ориентировки в окружающем пространстве). Изменение активности RSC может быть одним из наиболее ранних признаков деменции [18], что подтверждено клиническими исследованиями [19–21]. Помимо этого, RSC связана с процессами памяти и внимания [22–24], а также познания окружающего мира [24, 25]. RSC тесно связана со зрительной корой кодировкой визуальных стимулов [26], с формированием персональной направленности к конкретной цели [27–29]. Это мнение подтверждают наличие анатомических связей между RSC и префронтальной корой, парагиппокампальными областями, гиппокампом, ядрами переднего таламуса и теменной корой [30, 31]. В функциональных нейровизуализационных исследованиях обнаружено, что структуры RSC сильнее реагируют во время виртуального или воображаемого ориентирования по сравнению с другими задачами [32–34]. Таким образом, согласно проведенным в настоящее время исследованиям, RSC представляет собой одну из ключевых областей коры головного мозга, связанную с когнитивными и психическими функциями, а ее широкое изучение позволит получить новую информацию об особенностях функциональной активности головного мозга на самых ранних стадиях развития патологических состояний.

Целью работы было показать возможность исследования активности RSC на основе анализа ЭЭГ головного мозга в альфа-диапазоне частот для определения особенностей в различных состояниях пассивного бодрствования.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

По данным современной литературы RSC в первую очередь представляет собой область, ответственную за процессы пространственно-позиционного ориентирования

(возможно, временного ориентирования). В связи с этим ее ЭЭГ-идентификация возможна в периоды продуцирования структурами RSC ритмической активности в условиях выключения афферентных раздражителей от систем, контролирующих положение тела в пространстве, главной из которых является система проприорецепции. Поэтому основной функциональной пробой стало парное исследование, регистрирующее ЭЭГ-активность альфа-диапазона, когда испытуемый пребывал в состоянии пассивного расслабленного бодрствования в положении «сидя» в кресле (проприоцептивная система активна), и в положении «лежа» в постели перед периодом засыпания (выделяли аналогичный первому исследованию по продолжительности участок ЭЭГ-записи с выраженной альфа-активностью в затылочных отведениях перед началом ее фрагментации), когда проприоцептивная система была задействована минимально. Выбор данного функционального теста был основан на клиническом феномене «Falling sensation when falling asleep». Регистрацию первичных данных проводили с помощью цифрового электроэнцефалографа («Медицинские компьютерные системы»; г. Зеленоград, Россия). Частота дискретизации аналого-цифрового преобразователя составляла 500 Гц, входные параметры фильтрации сигнала — 0,03–70 Гц. Электроды располагали на поверхности скальпа головы согласно международной системе «10–20». Положение электрода уточняли при помощи линейных измерений с последующей коррекцией стандартных таблиц пространственного положения электродов. Выбор данной системы монтажа был обусловлен вопросом нарастания количества артефактов записи в многоканальной системе, связанных с воздействием внешних физических и технологических факторов [35].

На первом этапе обработки осуществляли минимизацию артефактов физической природы, для чего отключали сторонние электрические приборы, создающие паразитные электромагнитные поля, контролировали импеданс интерфейса. Также регулировали температуру в помещении, по возможности, минимизировали паразитные движения мышц, что уменьшало выраженность биологических артефактов.

На втором этапе полученный пул данных проходил процедуру стандартизации базового монтажа в единое электродное пространство с удалением артефактных сигналов посредством процедуры выделения независимых компонент сигнала, что позволяло очистить нативный сигнал от различных артефактов физиологической природы, не устраненных методом фильтрации.

На третьем этапе проводили сегментацию ЭЭГ-сигнала с выделением отдельных ЭЭГ-микросостояний посредством процедуры программного пакета sLORETA (v. 20210701 University of Zurich; Switzerland) с выделением восьми классов отдельных микросостояний (канонических I–IV [36] и четырех дополнительных (V и VIII) с учетом их вариабельности). Заключительный этап исследования включал решение обратной задачи ЭЭГ для каждого из выделенных классов ЭЭГ-микросостояний с помощью алгоритма решения обратной задачи ЭЭГ, реализованном в пакете прикладных программ sLORETA. Результаты представляли информацию о восьми вариантах источников отдельных ЭЭГ-микросостояний, согласно атласу полей К. Бродмана (по атласу Монреальского института нейрохирургии (MNI)).

**Таблица 1.** Парное сравнение частотных характеристик альфа-активности (Гц) в затылочных и теменных регионах в состоянии пассивного расслабленного бодрствования в положении «сидя» (наблюдение 1) и в состоянии пассивного расслабленного бодрствования перед засыпанием в положении «лежа» (наблюдение 2) (*t*-критерий Стьюдента, KS-test norm < 0,01)

Регион	O1		O2		P1		P2	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Наблюдение	1	2	1	2	1	2	1	2
M	10,3	10,3	10,3	10,3	10,3	10,1	10,3	10,1
$\sigma$	0,7	1	0,7	1	0,8	0,9	0,8	0,9
Mo	10	9,5	10	9	10	9,5	10	9,5
Me	10,2	10,4	10,2	10,3	10,2	9,8	10,2	9,8
<i>p t</i> -Student	1		0,8		0,2		0,1	

## Пациенты

Исследовали 36 здоровых добровольцев различного возраста, подписавших добровольное информированное согласие. Из них 19 человек — до 30 лет, 17 — старше 30 лет. Средний возраст обследованных составил 29,1 года, Mo — 10 лет, Me — 26 лет, I-й квартиль — 18 лет, III-й квартиль — 33 года. У обследованных в возрасте до 30 лет средний возраст обследованных составил 17,4 года, стандартное отклонение — 1,7 года, Mo — 10 лет, ME — 18 лет, I-й квартиль — 12,3 года, III-й квартиль — 23,3 года. У лиц старше 30 лет средний возраст составил 43,3 года, Mo — 31 лет, Me — 34,5 лет, I-й квартиль — 31 лет, III-й квартиль — 55,8 года.

Всем обследуемым проводили ЭЭГ-запись, включавшую исследование фоновой мозговой активности в состоянии пассивного расслабленного бодрствования с закрытыми глазами в положении «сидя» и аналогичное исследование в положении «лежа» (с контролем наступления физиологического сна), поскольку у здоровых людей проявления активности RSC представлены в виде развития феномена «Falling sensation when falling asleep», наблюдаемого перед засыпанием, во время пребывания в постели в положении лежа с закрытыми глазами. При этом ощущается пространственная дезориентация, описываемая как полет и/или падение перед наступлением сна [37]. Это позволяет использовать данный феномен в качестве физиологического теста для выделения активности RSC в эксперименте.

Критерии включения в исследование: отсутствие в анамнезе острых заболеваний центральной нервной системы; отсутствие хронических заболеваний в стадии обострения; отсутствие в анамнезе тяжелых черепно-мозговых травм, психических заболеваний, эпилепсии.

Клинические обследования проводили на базе ООО «Клиника ла Салюте» согласно договору о сотрудничестве между ООО «Клиника ла Салюте» и НИЯУ МИФИ № 09-01/23 от 09 января 2023 г.

**Таблица 2.** Парное сравнение частотных характеристик альфа-активности (Гц) в затылочных и теменных регионах в состоянии пассивного расслабленного бодрствования в положении «сидя» (наблюдение 1) и в состоянии пассивного расслабленного бодрствования перед засыпанием в положении «лежа» (наблюдение 2) у обследованных младше 30 лет (*t*-критерий Стьюдента, KS-test norm < 0,01)

Регион	O1		O2		P1		P2	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Наблюдение	1	2	1	2	1	2	1	2
M	10,3	10,7	10,3	10,6	10,2	10,3	10,2	10,3
$\sigma$	1	1,4	1	1,4	1,2	1,3	1,2	1,3
Mo	9,6	10,5	9,6	10,5	8,2	9,5	8,2	9,5
Me	10	10,6	10	10,6	10	10,5	10	10,5
<i>p t</i> -Student	0,357		0,525		0,789		0,857	

## Статистическая обработка

Полученные результаты обрабатывали согласно рекомендациям [38] с применением программы PSPP (GNU software ver. 1.6.2-g78a33a) под управлением ОС Linux Mate (v. 10.10 лицензия GNU-GPL). В расчетах использовали парное сравнение результатов решения обратной задачи ЭЭГ для восьми ЭЭГ-микросостояний с использованием теста Колмогорова–Смирнова (KS-test) для определения нормальности распределения; расчетом *t*-критерия Стьюдента для выборок с нормальным распределением и *T*-критерия Уилкоксона для взаимосвязанных статистических групп, не имеющих нормального распределения. Использовали одну степень свободы, уровень доказательности был принят как альфа < 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ альфа-активности в затылочных и теменных отведениях, проведенный в общей группе, выявил уменьшение частоты альфа-активности перед засыпанием, но показатели общей группы (табл. 1) и лиц младше 30 лет (табл. 2) не демонстрировали статистически достоверных изменений. Напротив, в группе обследованных старше 30 лет снижение частоты альфа-активности перед засыпанием было статистически значимым (табл. 3).

При исследовании отдельных ЭЭГ-микросостояний альфа-диапазона в общей группе выявлена неоднородность источников альфа-активности при изменении состояния обследуемого (табл. 4). Так, в положении сидя ритмические феномены преимущественно формировались полями 17, 18 и 19, что представляло собой ожидаемую продукцию альфа-активности со стороны структур зрительного анализатора, пребывающего в состоянии «холостого хода». Сохранение этих показателей в положении лежа (без появления статистически достоверных различий) также свидетельствовало о реакции зрительного анализатора на закрытие глаз, но в то же время пребывание в

**Таблица 3.** Парное сравнение частотных характеристик альфа-активности (Гц) в затылочных и теменных регионах в состоянии пассивного расслабленного бодрствования в положении сидя (наблюдение 1) и в состоянии пассивного расслабленного бодрствования перед засыпанием в положении лежа (наблюдение 2) у обследованных 30 лет и старше (*t*-критерий Стьюдента, KS-test norm < 0,01)

Регион	O1		O2		P1		P2	
	1	2	1	2	1	2	1	2
М	10,3	9,8	10,3	9,8	10,5	9,8	10,5	9,8
$\sigma$	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,9
Mo	10,2	9	10,2	9	10,5	9	10,2	9
Me	10,2	9,6	10,2	9,6	10,4	9,6	10,4	9,6
<i>p t-Student</i>	0,07		0,1		0,02		0,02	

положении «лежа» демонстрировало смещение источника регистрируемой альфа-активности в поля 23, 29, 30 и 31, характеризующие структуры RSC.

Исследование возрастных особенностей данной реакции показало, что в возрасте до 30 лет наблюдаются достоверные различия продукции альфа-ритма, так как в состоянии пассивного расслабленного бодрствования в положении «сидя» альфа-активность продуцируется структурами VC (поля 17, 18 и 19), а перед засыпанием источником альфа-активности становится RSC (поля 23, 29, 30 и 31). У лиц старше 30 лет отмечается достоверная реакция RSC, в то время как структуры зрительного анализатора (VC) не демонстрируют достоверных изменений перед засыпанием (табл. 5).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе проведенной работы было показано, что даже оценка частотных характеристик мозговых ритмов позволяет определить, что регистрируемый непосредственно в ходе классического ЭЭГ-исследования альфа-ритм не представляет собой какой-то стабильной величины, определяющей «базовые» характеристики активности головного мозга человека. Альфа-активность представляет собой группу ритмических феноменов, которые демонстрируют достоверные изменения, выраженные у лиц старше 30 лет, когда мозговые структуры уже полностью сформированы.

Тем не менее, у лиц младше 30 лет прослеживается четкая смена источника альфа-активности между структурами зрительного анализатора и ретроспленальной коры (клинически проявляющееся в феномене «Falling sensation when falling asleep»), которое возможно расценить как включение большего числа мозговых структур в решение высших нервных функций с потребностью единой интеграции их деятельности.

В то же время после 30 лет, скорее всего, формируется выраженная специализация нервных центров, особенно в структурах теменных областей головного мозга и RSC, которая проявляется в виде наблюдения изменений активности альфа-ритма теменных областей и регистрацией ритмической

активности структур RSC, что по нашим наблюдениям можно расценивать как взаимосвязанные феномены.

С помощью современных математических методов анализа ЭЭГ-сигнала возможно произвести четкую дифференцировку альфа-активности с определением источника в различных мозговых структурах [39]. В условиях применения целенаправленной функциональной нагрузки это позволяет связать повторяющиеся фрагменты ЭЭГ-записи с активностью отдельных мозговых нейронных сетей [40, 41], вовлеченных в формирование альфа-активности не только в структурах зрительной коры головного мозга [42–49]. Данные наблюдения можно расценить как формирование стабильных связей и возрастающей значимости зрительной коры как главного источника информации у лиц старше 30 лет, в том числе о положении тела в пространстве, что ранее было описано для других корковых областей [50–52].

Таким образом, определяемая при классическом ЭЭГ-исследовании альфа-активность представляет собой не единый «базовый» ритм, характерный для мозговых структур, а комбинацию нескольких сходных по частотно-амплитудным характеристиками ритмов. Указанную биоэлектрическую активность продуцируют различные мозговые структуры, в частности RSC, что подтверждают выводы ряда исследований [5–9], указывающих на корковую природу альфа-ритма. Это позволяет по-новому трактовать результаты работ [53], выявляющих неоднородность спектров альфа-ритма у людей с различными психическими девиациями, а также более ранних исследований [54], особенно в области вариантов полимодального альфа-ритма.

#### ВЫВОДЫ

Использование частотного анализа биоэлектрической активности головного мозга в классической методике не является эффективным методом исследования высших нервных функций. Для современного ЭЭГ-исследования необходимо применение комбинации математических методов выделения отдельных ЭЭГ-микросостояний и решения обратной ЭЭГ-задачи, что позволяет получить

**Таблица 4.** Данные о частоте регистрации ЭЭГ-активности (в %) в отдельных полях по Бродману, полученные в ходе решения обратной ЭЭГ-задачи для модели из восьми отдельных ЭЭГ-микросостояний в общей группе (*t*-критерий Уилкоксона, KS-test norm > 0,5)

Положение обследуемых	Поля 23, 29, 30, 31 по Бродману	Поля 17, 18, 19 по Бродману
Положение «сидя»	18,3%	34,2%
Положение «лежа»	41,7%	25,0%
<i>p (t-Уилкоксон)</i>	0,01	0,4

**Таблица 5.** Возрастные особенности частоты регистрации ЭЭГ-активности (в %) в отдельных полях по Бродману, полученные в ходе решения обратной ЭЭГ-задачи для модели из восьми отдельных ЭЭГ-микросостояний в разных возрастных группах (*t*-критерий Уилкоксона, KS-test norm > 0,5).

RSC (поля 23, 29, 30, 31 по Бродману)		
Возраст	1–30 лет	> 30 лет
Положение «сидя»	7,4%	12,5%
Положение «лежа»	28,7%	19,8%
<i>p</i> ( <i>t</i> -Уилкоксон)	0	0,05
VC (поля 17, 18, 19 по Бродману)		
Положение «сидя»	20,1%	15,6%
Положение «лежа»	27,1%	23%
<i>p</i> ( <i>t</i> -Уилкоксон)	0,03	0,5

простой, экономически доступный инструмент изучения функциональной активности мозговых структур. Использование данной технологии позволит расширить объем исследований функциональной активности головного

мозга как в научных, так и клинических учреждениях, что создаст условия для понимания особенностей работы мозговых структур в условиях физиологической нормы и при наличии психических заболеваний.

## Литература

- Delorme A, Makeig S. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J Neurosci Methods*. 2004; 134 (1): 9–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2003.10.009>. PMID: 15102499.
- Martínez-Cancino R, Delorme A, Truong D, Artoni F, Kreutz-Delgado K, Sivagnanam S, et al. The open EEGLAB portal Interface: High-Performance computing with EEGLAB. *Neuroimage*. 2021; 224: 116778. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116778>. Epub 2020 Apr 11. PMID: 32289453; PMCID: PMC8341158.
- Tadel F, Bock E, Niso G, Mosher JC, Cousineau M, Pantazis D, et al. MEG/EEG Group Analysis With Brainstorm. *Front Neurosci*. 2019; 13: 76. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00076>. PMID: 30804744; PMCID: PMC6378958.
- Jasper H, Penfield W. Electroencephalograms in man: effect of voluntary movement upon the electrical activity of the precentral gyrus. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*. 1949; 183: 163–74.
- Lopes Da Silva FH, Storm Van Leeuwen W. The cortical source of the alpha rhythm. *Neurosci Lett*. 1977; 6 (2-3): 237–41. Available from: [https://www.doi.org/10.1016/0304-3940\(77\)90024-6](https://www.doi.org/10.1016/0304-3940(77)90024-6).
- Klimesch W.  $\alpha$ -Band oscillations, attention, and controlled access to stored information. *Trends Cogn Sci*. 2012; 16 (12): 606–17. Available from: <https://www.doi.org/10.1016/j.tics.2012.10.007>.
- Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res Brain Res Rev*. 1999; 29 (2-3): 169–95. Available from: [https://www.doi.org/10.1016/S0165-0173\(98\)00056-3](https://www.doi.org/10.1016/S0165-0173(98)00056-3).
- Klimesch W, Sauseng P, Hanslmayr S. EEG alpha oscillations: the inhibition-timing hypothesis. *Brain Res Rev*. 2007; 53 (1): 63–88. Available from: <https://www.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.06.003>.
- Klimesch W, Doppelmayr M, Hanslmayr S. Upper alpha ERD and absolute power: their meaning for memory performance. *Prog Brain Res*. 2006; 159: 151–65. Available from: [https://www.doi.org/10.1016/S0079-6123\(06\)59010-7](https://www.doi.org/10.1016/S0079-6123(06)59010-7).
- Иванов Л. Б. Спектр мощности электроэнцефалограммы: ошибки и практика применения (лекция первая). *Медицинский алфавит*. 2021; (39): 45–52. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-39-45-52>.
- Lydon EA, Nguyen LT, Shende SA, Chiang HS, Spence JS, Mudar RA. EEG theta and alpha oscillations in early versus late mild cognitive impairment during a semantic Go/NoGo task. *Behav Brain Res*. 2022; 416: 113539. DOI: 10.1016/j.bbr.2021.113539. Epub 2021 Aug 17. PMID: 34416304.
- Rusiniak M, Lewandowska M, Wolak T, Pluta A, Milner R, Skarżyński H. Możliwości i problemy jednoczesnych rejestracji EEG-fMRI-badanie rytmu alfa [The possibilities and limitations of simultaneous EEG-fMRI registration—the alpha rhythm study]. *Przegl Lek*. 2015; 72 (11): 616–9. PMID: 27012118. Polish.
- Alexander AS, Place R, Starrett MJ, Chrastil ER, Nitz DA. Rethinking retrosplenial cortex: Perspectives and predictions. *Neuron*. 2023; 111 (2): 150–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.11.006>. Epub 2022 Dec 1. PMID: 36460006.
- Todd TP, Fournier DI, Bucci DJ. Retrosplenial cortex and its role in cue-specific learning and memory. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019; 107: 713–28. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.04.016>. Epub 2019 May 2. PMID: 31055014; PMCID: PMC6906080.
- Trask S, Fournier DI. Examining a role for the retrosplenial cortex in age-related memory impairment. *Neurobiol Learn Mem*. 2022; 189: 107601. DOI: 10.1016/j.nlm.2022.107601. Epub 2022 Feb 22. PMID: 35202816.
- Olsen GM, Ohara S, Iijima T, Witter MP. Parahippocampal and retrosplenial connections of rat posterior parietal cortex. *Hippocampus*. 2017; 27 (4): 335–58. Available from: <https://doi.org/10.1002/hipo.22701>. Epub 2017 Jan 16. PMID: 28032674.
- Sugar J, Witter MP, van Strien NM, Cappaert NL. The retrosplenial cortex: intrinsic connectivity and connections with the (para) hippocampal region in the rat. An interactive connectome. *Front Neuroinform*. 2011; 5: 7. Available from: <https://doi.org/10.3389/fninf.2011.00007>. PMID: 21847380; PMCID: PMC3147162.
- Dillen KNH, Jacobs HIL, Kukolja J, von Reutern B, Richter N, Onur ÖA, Dronse J, Langen KJ, Fink GR. Aberrant functional connectivity differentiates retrosplenial cortex from posterior cingulate cortex in prodromal Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2016; 44: 114–26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.04.010>. Epub 2016 Apr 22. PMID: 27318139.
- Squire LR, Genzel L, Wixted JT, Morris RG. Memory consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015; 7 (8): a021766. Available from: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021766>. PMID: 26238360; PMCID: PMC4526749.
- de Sousa AF, Cowansage KK, Zutshi I, Cardozo LM, Yoo EJ, Leutgeb S, Mayford M. Optogenetic reactivation of memory ensembles in the retrosplenial cortex induces systems consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019; 116 (17): 8576–81. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1818432116>. Epub 2019 Mar 15. PMID: 30877252; PMCID: PMC6486739
- Auger SD, Maguire EA. Retrosplenial Cortex Indexes

- Stability beyond the Spatial Domain. *J Neurosci*. 2018; 38 (6): 1472–81. Available from: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2602-17.2017>. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29311139; PMCID: PMC5815348.
22. Mitchell AS, Czajkowski R, Zhang N, Jeffery K, Nelson AJD. Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain Neurosci Adv*. 2018; 2: 2398212818757098. Available from: <https://doi.org/10.1177/2398212818757098>. PMID: 30221204; PMCID: PMC6095108.
  23. Corcoran KA, Yamawaki N, Leaderbrand K, Radulovic J. Role of retrosplenial cortex in processing stress-related context memories. *Behav Neurosci*. 2018; 132 (5): 388–95. Available from: <https://doi.org/10.1037/bne000223>. Epub 2018 Jun. 7. PMID: 29878804; PMCID: PMC6188831.
  24. Milczarek MM, Vann SD. The retrosplenial cortex and long-term spatial memory: from the cell to the network. *Curr Opin Behav Sci*. 2020; 32: 50–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2020.01.014>. PMID: 32715030; PMCID: PMC7374566.
  25. Mitchell AS, Czajkowski R, Zhang N, Jeffery K, Nelson AJD. Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain Neurosci Adv*. 2018; 2: 2398212818757098. Available from: <https://doi.org/10.1177/2398212818757098>. PMID: 30221204; PMCID: PMC6095108.
  26. Powell A, Connelly WM, Vasalaukaite A, Nelson AJD, Vann SD, Aggleton JP, et al. Stable Encoding of Visual Cues in the Mouse Retrosplenial Cortex. *Cereb Cortex*. 2020; 30 (8): 4424–37. Available from: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa030>. PMID: 32147692; PMCID: PMC7438634.
  27. Fischer LF, Mojica Soto-Albors R, Buck F, Harnett MT. Representation of visual landmarks in retrosplenial cortex. *Elife*. 2020; 9: e51458. Available from: <https://doi.org/10.7554/eLife.51458>. PMID: 32154781; PMCID: PMC7064342.
  28. Fournier DI, Monasch RR, Buccì DJ, Todd TP. Retrosplenial cortex damage impairs unimodal sensory preconditioning. *Behav Neurosci*. 2020; 134 (3): 198–207. DOI: 10.1037/bne000365. Epub 2020 Mar 9. PMID: 32150422; PMCID: PMC7244381.
  29. Mao D, Molina LA, Bonin V, McNaughton BL. Vision and Locomotion Combine to Drive Path Integration Sequences in Mouse Retrosplenial Cortex. *Curr Biol*. 2020; 30 (9): 1680–8.e4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.02.070>. Epub 2020 Mar 19. PMID: 32197086.
  30. Morris R, Pandya DN, Petrides M. Fiber system linking the mid-dorsolateral frontal cortex with the retrosplenial/presubicular region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 1999; 407 (2): 183–92. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19990503\)407:2<183::aid-cne3-3.0.co;2-n](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19990503)407:2<183::aid-cne3-3.0.co;2-n). PMID: 10213090.
  31. Clark BJ, Simmons CM, Berkowitz LE, Wilber AA. The retrosplenial-parietal network and reference frame coordination for spatial navigation. *Behav Neurosci*. 2018; 132 (5): 416–29. Available from: <https://doi.org/10.1037/bne0000260>. Epub 2018 Aug 9. PMID: 30091619; PMCID: PMC6188841.
  32. Aggleton JP, Yanakieva S, Sengpiel F, Nelson AJ. The separate and combined properties of the granular (area 29) and dysgranular (area 30) retrosplenial cortex. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 185: 107516. DOI: 10.1016/j.nlm.2021.107516. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34481970.
  33. Epstein RA, Parker WE, Feiler AM. Where am I now? Distinct roles for parahippocampal and retrosplenial cortices in place recognition. *J Neurosci*. 2007; 27 (23): 6141–9. Available from: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0799-07.2007>. PMID: 17553986; PMCID: PMC6672165.
  34. Spiers HJ, Maguire EA. Thoughts, behavior, and brain dynamics during navigation in the real world. *Neuroimage*. 2006; 31 (4): 1826–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.037>. Epub 2006 Apr 11. PMID: 16584892.
  35. Tamburro G, Fiedler P, Stone D, Hauelsen J, Comani S. A new ICA-based fingerprint method for the automatic removal of physiological artifacts from EEG recordings. *PeerJ*. 2018; 6: e4380. DOI: 10.7717/peerj.4380. PMID: 29492336; PMCID: PMC5826009.
  36. Lehmann D, Strik WK, Henggeler B, Koenig T, Koukkou M Brain electric microstates and momentary conscious mind states as building blocks of spontaneous thinking: I. Visual imagery and abstract thoughts. *Int J Psychophysiol*. 1998; 29 (1): 1–11. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(97\)00098-6](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00098-6).
  37. Schacter DL, Crovitz HF. "Falling" while falling asleep: sex differences. *Percept Mot Skills*. 1977; 44 (2): 656. DOI: 10.2466/pms.1977.44.2.656. PMID: 866074.
  38. Sarter M, Fritschy JM Reporting statistical methods and statistical results in *EJN*. *Eur J Neurosci*. 2008; 28 (12): 2363–4. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x>.
  39. Иванов Л. Б. Спектр мощности по электроэнцефалограмме: ошибки и практика применения (лекция вторая). Дисперсионный анализ электроэнцефалограммы по Росману. *Медицинский алфавит*. 2022; (9): 38–43. Available from: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-9-38-43>.
  40. Croce P, Quercia A, Costa S, Zappasodi F. EEG microstates associated with intra- and inter-subject alpha variability. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 2469. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58787-w>.
  41. Poskanzer C, Denis D, Herrick A, Stickgold R. Using EEG microstates to examine post-encoding quiet rest and subsequent word-pair memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 181: 107424. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107424>.
  42. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. *IEEE Trans Biomed Eng*. 1995; 42 (7): 658–65. Available from: <https://doi.org/10.1109/10.391164>.
  43. Milz P, Pascual-Marqui RD, Lehmann D, Faber PL. Modalities of Thinking: State and Trait Effects on Cross-Frequency Functional Independent Brain Networks. *Brain Topogr*. 2016; 29 (3): 477–90. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-016-0469-3>.
  44. Seitzman BA, Abell M, Bartley SC, Erickson MA, Bolbecker AR, Hetrick WP. Cognitive manipulation of brain electric microstates. *Neuroimage*. 2017; 146: 533–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.002>.
  45. Mishra A, Englitz B, Cohen MX. EEG microstates as a continuous phenomenon. *Neuroimage*. 2020; 208: 116454. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116454>. Epub 2019 Dec 10.
  46. Milz P, Faber PL, Lehmann D, Koenig T, Kochi K, Pascual-Marqui RD. The functional significance of EEG microstates--Associations with modalities of thinking. *Neuroimage*. 2016; 125: 643–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.08.023>.
  47. Pascual-Marqui RD, Esslen M, Kochi K, Lehmann D. Functional imaging with low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA): a review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2002; 24 Suppl C: 91–5. PMID: 12575492.
  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. Neuner I, Arrubla J, Werner CJ, Hitz K, Boers F, Kawohl W, et al. The default mode network and EEG regional spectral power: a simultaneous fMRI-EEG study. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e88214. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088214>.
  50. Vukovic N, Hansen B, Lund TE, Jespersen S, Shtyrov Y. Rapid microstructural plasticity in the cortical semantic network following a short language learning session. *PLoS Biol*. 2021; 19 (6): e3001290. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001290>. PMID: 34125828; PMCID: PMC8202930.
  51. Hubert V, Beaunieux H, Chételat G, Platel H, Landeau B, Viader F, Desgranges B, Eustache F. Age-related changes in the cerebral substrates of cognitive procedural learning. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30 (4): 1374–86. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.20605>. PMID: 18537110; PMCID: PMC2935916.
  52. Just MA, Keller TA. Converging measures of neural change at the microstructural, informational, and cortical network levels in the hippocampus during the learning of the structure of organic compounds. *Brain Struct Funct*. 2019; 224 (3): 1345–57. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00429-019-01838-4>. Epub 2019 Feb 6. PMID: 30725233.
  53. Nunez PL, Wingeier BM, Silberstein RB. Spatial-temporal structures of human alpha rhythms: theory, microcurrent sources, multiscale measurements, and global binding of local networks. *Hum Brain Mapp*. 2001; 13 (3): 125–64. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.1030>. PMID: 11376500;

PMCID: PMC6872048.

54. Rodriguez-Larios J, ElShafei A, Wiehe M, Haegens S. Visual working memory recruits two functionally distinct alpha rhythms

in posterior cortex. *eNeuro*. 2022; 9 (5): ENEURO.0159-22.2022. DOI: 10.1523/ENEURO.0159-22.2022. Epub ahead of print. PMID: 36171059; PMCID: PMC9536853.

## References

- Delorme A, Makeig S. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J Neurosci Methods*. 2004; 134 (1): 9–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2003.10.009>. PMID: 15102499.
- Martínez-Cancino R, Delorme A, Truong D, Artoni F, Kreutz-Delgado K, Sivagnanam S, et al. The open EEGLAB portal Interface: High-Performance computing with EEGLAB. *Neuroimage*. 2021; 224: 116778. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116778>. Epub 2020 Apr 11. PMID: 32289453; PMCID: PMC8341158.
- Tadel F, Bock E, Niso G, Mosher JC, Cousineau M, Pantazis D, et al. MEG/EEG Group Analysis With Brainstorm. *Front Neurosci*. 2019; 13: 76. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00076>. PMID: 30804744; PMCID: PMC6378958.
- Jasper H, Penfield W. Electrocorticograms in man: effect of voluntary movement upon the electrical activity of the precentral gyrus. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*. 1949; 183: 163–74.
- Lopes Da Silva FH, Storm Van Leeuwen W. The cortical source of the alpha rhythm. *Neurosci Lett*. 1977; 6 (2-3): 237–41. Available from: [https://www.doi.org/10.1016/0304-3940\(77\)90024-6](https://www.doi.org/10.1016/0304-3940(77)90024-6).
- Klimesch W.  $\alpha$ -Band oscillations, attention, and controlled access to stored information. *Trends Cogn Sci*. 2012; 16 (12): 606–17. Available from: <https://www.doi.org/10.1016/j.tics.2012.10.007>.
- Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res Brain Res Rev*. 1999; 29 (2-3): 169–95. Available from: [https://www.doi.org/10.1016/s0165-0173\(98\)00056-3](https://www.doi.org/10.1016/s0165-0173(98)00056-3).
- Klimesch W, Sauseng P, Hanslmayr S. EEG alpha oscillations: the inhibition-timing hypothesis. *Brain Res Rev*. 2007; 53 (1): 63–88. Available from: <https://www.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.06.003>.
- Klimesch W, Doppelmayr M, Hanslmayr S. Upper alpha ERD and absolute power: their meaning for memory performance. *Prog Brain Res*. 2006; 159: 151–65. Available from: [https://www.doi.org/10.1016/S0079-6123\(06\)59010-7](https://www.doi.org/10.1016/S0079-6123(06)59010-7).
- Ivanov LB. Spektr moshhnosti ehlektroehncefalogrammy: oshibki i praktika primeneniya (lekciya pervaya). *Medicinskij alfavit*. 2021; (39): 45–52. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-39-45-52>. Russian.
- Lydon EA, Nguyen LT, Shende SA, Chiang HS, Spence JS, Mudar RA. EEG theta and alpha oscillations in early versus late mild cognitive impairment during a semantic Go/NoGo task. *Behav Brain Res*. 2022; 416: 113539. DOI: 10.1016/j.bbr.2021.113539. Epub 2021 Aug 17. PMID: 34416304.
- Rusiniak M, Lewandowska M, Wolak T, Pluta A, Milner R, Skarżyński H. Możliwości i problemy jednoczesnych rejestracji EEG-fMRI–badanie rytmu alfa [The possibilities and limitations of simultaneous EEG-fMRI registration—the alpha rhythm study]. *Przegl Lek*. 2015; 72 (11): 616–9. PMID: 27012118. Polish.
- Alexander AS, Place R, Starrett MJ, Chrastil ER, Nitz DA. Rethinking retrosplenial cortex: Perspectives and predictions. *Neuron*. 2023; 111 (2): 150–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.11.006>. Epub 2022 Dec 1. PMID: 36460006.
- Todd TP, Fournier DI, Bucci DJ. Retrosplenial cortex and its role in cue-specific learning and memory. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019; 107: 713–28. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.04.016>. Epub 2019 May 2. PMID: 31055014; PMCID: PMC6906080.
- Trask S, Fournier DI. Examining a role for the retrosplenial cortex in age-related memory impairment. *Neurobiol Learn Mem*. 2022; 189: 107601. DOI: 10.1016/j.nlm.2022.107601. Epub 2022 Feb 22. PMID: 35202816.
- Olsen GM, Ohara S, Iijima T, Witter MP. Parahippocampal and retrosplenial connections of rat posterior parietal cortex. *Hippocampus*. 2017; 27 (4): 335–58. Available from: <https://doi.org/10.1002/hipo.22701>. Epub 2017 Jan 16. PMID: 28032674.
- Sugar J, Witter MP, van Strien NM, Cappaert NL. The retrosplenial cortex: intrinsic connectivity and connections with the (para) hippocampal region in the rat. An interactive connectome. *Front Neuroinform*. 2011; 5: 7. Available from: <https://doi.org/10.3389/fninf.2011.00007>. PMID: 21847380; PMCID: PMC3147162.
- Dillen KNH, Jacobs HIL, Kukolja J, von Reutern B, Richter N, Onur ÖA, Dronse J, Langen KJ, Fink GR. Aberrant functional connectivity differentiates retrosplenial cortex from posterior cingulate cortex in prodromal Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2016; 44: 114–26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.04.010>. Epub 2016 Apr 22. PMID: 27318139.
- Squire LR, Genzel L, Wixted JT, Morris RG. Memory consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015; 7 (8): a021766. Available from: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021766>. PMID: 26238360; PMCID: PMC4526749.
- de Sousa AF, Cowansage KK, Zutshi I, Cardozo LM, Yoo EJ, Leutgeb S, Mayford M. Optogenetic reactivation of memory ensembles in the retrosplenial cortex induces systems consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019; 116 (17): 8576–81. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1818432116>. Epub 2019 Mar 15. PMID: 30877252; PMCID: PMC6486739
- Auger SD, Maguire EA. Retrosplenial Cortex Indexes Stability beyond the Spatial Domain. *J Neurosci*. 2018; 38 (6): 1472–81. Available from: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2602-17.2017>. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29311139; PMCID: PMC5815348.
- Mitchell AS, Czajkowski R, Zhang N, Jeffery K, Nelson AJD. Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain Neurosci Adv*. 2018; 2: 2398212818757098. Available from: <https://doi.org/10.1177/2398212818757098>. PMID: 30221204; PMCID: PMC6095108.
- Corcoran KA, Yamawaki N, Leaderbrand K, Radulovic J. Role of retrosplenial cortex in processing stress-related context memories. *Behav Neurosci*. 2018; 132 (5): 388–95. Available from: <https://doi.org/10.1037/bne0000223>. Epub 2018 Jun. 7. PMID: 29878804; PMCID: PMC6188831.
- Milczarek MM, Vann SD. The retrosplenial cortex and long-term spatial memory: from the cell to the network. *Curr Opin Behav Sci*. 2020; 32: 50–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2020.01.014>. PMID: 32715030; PMCID: PMC7374566.
- Mitchell AS, Czajkowski R, Zhang N, Jeffery K, Nelson AJD. Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain Neurosci Adv*. 2018; 2: 2398212818757098. Available from: <https://doi.org/10.1177/2398212818757098>. PMID: 30221204; PMCID: PMC6095108.
- Powell A, Connelly WM, Vasalaukaite A, Nelson AJD, Vann SD, Aggleton JP, et al. Stable Encoding of Visual Cues in the Mouse Retrosplenial Cortex. *Cereb Cortex*. 2020; 30 (8): 4424–37. Available from: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa030>. PMID: 32147692; PMCID: PMC7438634.
- Fischer LF, Mojica Soto-Albors R, Buck F, Harnett MT. Representation of visual landmarks in retrosplenial cortex. *Elife*. 2020; 9: e51458. Available from: <https://doi.org/10.7554/eLife.51458>. PMID: 32154781; PMCID: PMC7064342.
- Fournier DI, Monasch RR, Bucci DJ, Todd TP. Retrosplenial cortex damage impairs unimodal sensory preconditioning. *Behav Neurosci*. 2020; 134 (3): 198–207. DOI: 10.1037/bne0000365. Epub 2020 Mar 9. PMID: 32150422; PMCID: PMC7244381.
- Mao D, Molina LA, Bonin V, McNaughton BL. Vision and Locomotion Combine to Drive Path Integration Sequences in

- Mouse Retrosplenial Cortex. *Curr Biol*. 2020; 30 (9): 1680–8.e4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.02.070>. Epub 2020 Mar 19. PMID: 32197086.
30. Morris R, Pandya DN, Petrides M. Fiber system linking the mid-dorsolateral frontal cortex with the retrosplenial/presubicular region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 1999; 407 (2): 183–92. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19990503\)407:2<183::aid-cne3>3.0.co;2-n](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19990503)407:2<183::aid-cne3>3.0.co;2-n). PMID: 10213090.
  31. Clark BJ, Simmons CM, Berkowitz LE, Wilber AA. The retrosplenial-parietal network and reference frame coordination for spatial navigation. *Behav Neurosci*. 2018; 132 (5): 416–29. Available from: <https://doi.org/10.1037/bne0000260>. Epub 2018 Aug 9. PMID: 30091619; PMCID: PMC6188841.
  32. Aggleton JP, Yanakieva S, Sengpiel F, Nelson AJ. The separate and combined properties of the granular (area 29) and dysgranular (area 30) retrosplenial cortex. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 185: 107516. DOI: 10.1016/j.nlm.2021.107516. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34481970.
  33. Epstein RA, Parker WE, Feiler AM. Where am I now? Distinct roles for parahippocampal and retrosplenial cortices in place recognition. *J Neurosci*. 2007; 27 (23): 6141–9. Available from: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0799-07.2007>. PMID: 17553986; PMCID: PMC6672165.
  34. Spiers HJ, Maguire EA. Thoughts, behavior, and brain dynamics during navigation in the real world. *Neuroimage*. 2006; 31 (4): 1826–40. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.037>. Epub 2006 Apr 11. PMID: 16584892.
  35. Tamburro G, Fiedler P, Stone D, Hauelsen J, Comani S. A new ICA-based fingerprint method for the automatic removal of physiological artifacts from EEG recordings. *PeerJ*. 2018; 6: e4380. DOI: 10.7717/peerj.4380. PMID: 29492336; PMCID: PMC5826009.
  36. Lehmann D, Strik WK, Henggele B, Koenig T, Koukkou M Brain electric microstates and momentary conscious mind states as building blocks of spontaneous thinking: I. Visual imagery and abstract thoughts. *Int J Psychophysiol*. 1998; 29 (1): 1–11. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(97\)00098-6](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00098-6).
  37. Schacter DL, Crovitz HF. "Falling" while falling asleep: sex differences. *Percept Mot Skills*. 1977; 44 (2): 656. DOI: 10.2466/pms.1977.44.2.656. PMID: 866074.
  38. Sarter M, Fritschy JM Reporting statistical methods and statistical results in *EJN*. *Eur J Neurosci*. 2008; 28 (12): 2363–4. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x>.
  39. Ivanov LB. Spekr moshnosti po ehlektroehncefalogramme: oshibki i praktika primeneniya (lekciya vtoraya). *Dispersionnyj analiz ehlektroehncefalogrammy po Rosmanu. Medicinskij alfavit*. 2022; (9): 38–43. Available from: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-9-38-43>. Russian.
  40. Croce P, Quercia A, Costa S, Zappasodi F. EEG microstates associated with intra- and inter-subject alpha variability. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 2469. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58787-w>.
  41. Poskanzer C, Denis D, Herrick A, Stickgold R. Using EEG microstates to examine post-encoding quiet rest and subsequent word-pair memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2021; 181: 107424. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107424>.
  42. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. *IEEE Trans Biomed Eng*. 1995; 42 (7): 658–65. Available from: <https://doi.org/10.1109/10.391164>.
  43. Milz P, Pascual-Marqui RD, Lehmann D, Faber PL. Modalities of Thinking: State and Trait Effects on Cross-Frequency Functional Independent Brain Networks. *Brain Topogr*. 2016; 29 (3): 477–90. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-016-0469-3>.
  44. Seitzman BA, Abell M, Bartley SC, Erickson MA, Bolbecker AR, Hetrick WP. Cognitive manipulation of brain electric microstates. *Neuroimage*. 2017; 146: 533–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.002>.
  45. Mishra A, Englitz B, Cohen MX. EEG microstates as a continuous phenomenon. *Neuroimage*. 2020; 208: 116454. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116454>. Epub 2019 Dec 10.
  46. Milz P, Faber PL, Lehmann D, Koenig T, Kochi K, Pascual-Marqui RD. The functional significance of EEG microstates--Associations with modalities of thinking. *Neuroimage*. 2016; 125: 643–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.08.023>.
  47. Pascual-Marqui RD, Esslen M, Kochi K, Lehmann D. Functional imaging with low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA): a review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2002; 24 Suppl C: 91–5. PMID: 12575492.
  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. Neuner I, Arrubla J, Werner CJ, Hitz K, Boers F, Kawohl W, et al. The default mode network and EEG regional spectral power: a simultaneous fMRI-EEG study. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e88214. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088214>.
  50. Vukovic N, Hansen B, Lund TE, Jespersen S, Shtyrov Y. Rapid microstructural plasticity in the cortical semantic network following a short language learning session. *PLoS Biol*. 2021; 19 (6): e3001290. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001290>. PMID: 34125828; PMCID: PMC8202930.
  51. Hubert V, Beaunieux H, Chételat G, Platel H, Landeau B, Viader F, Desgranges B, Eustache F. Age-related changes in the cerebral substrates of cognitive procedural learning. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30 (4): 1374–86. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.20605>. PMID: 18537110; PMCID: PMC2935916.
  52. Just MA, Keller TA. Converging measures of neural change at the microstructural, informational, and cortical network levels in the hippocampus during the learning of the structure of organic compounds. *Brain Struct Funct*. 2019; 224 (3): 1345–57. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00429-019-01838-4>. Epub 2019 Feb 6. PMID: 30725233.
  53. Nunez PL, Wingeier BM, Silberstein RB. Spatial-temporal structures of human alpha rhythms: theory, microcurrent sources, multiscale measurements, and global binding of local networks. *Hum Brain Mapp*. 2001; 13 (3): 125–64. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.1030>. PMID: 11376500; PMCID: PMC6872048.
  54. Rodriguez-Larios J, ElShafei A, Wiehe M, Haegens S. Visual working memory recruits two functionally distinct alpha rhythms in posterior cortex. *eNeuro*. 2022; 9 (5): ENEURO.0159-22.2022. DOI: 10.1523/ENEURO.0159-22.2022. Epub ahead of print. PMID: 36171059; PMCID: PMC9536853.



## КАТАМНЕЗ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ НА ПЕРВОМ ГОДУ ЖИЗНИ

В. В. Васильев<sup>1,2</sup>✉, Н. В. Рогозина<sup>1</sup>, И. В. Маркин<sup>1</sup>, Р. А. Иванова<sup>1,3</sup>, А. А. Гринева<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Северо-западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) продолжает оставаться серьезной проблемой общественного здравоохранения, занимая второе место после гипоксии и асфиксии в структуре заболеваемости и смертности новорожденных. Целью исследования было проанализировать лечебные подходы к ведению детей с врожденной цитомегаловирусной инфекцией с включением в терапию препарата прямого противовирусного действия и специфического антицитомегаловирусного иммуноглобулина (анти-ЦМВ ИГ) в зависимости от клинической формы заболевания. Пролечено 62 ребенка: в первой группе был назначен противовирусный препарат ( $n = 21$ ), во второй — анти-ЦМВ ИГ ( $n = 41$ ). Проведен анализ клинико-лабораторных и инструментальных методов исследований, изучен катамнез детей до 3 лет. Статистический анализ выполняли с использованием программы SPSS Statistics и StatTech v. 3.1.6. Благоприятный исход зарегистрирован у 28,6% детей, пролеченных препаратом прямого противовирусного действия, и у 58,5% детей, пролеченных анти-ЦМВ иммуноглобулином. Вне зависимости от терапии доля практически здоровых детей к 3 годам жизни составила 50%. Большинство детей, включенных в исследование, терапию переносили удовлетворительно. Однако у 66% детей курс терапии противовирусным средством прямого действия был сокращен до 14 дней из-за проблем с венозным доступом, у 4,8% обнаружена тромбоцитопения, у 9,5% повышение активности трансаминаз. При сопоставлении исходов заболевания в зависимости от дня начала терапии статистически значимые различия удалось установить только при применении специфической противовирусной терапии ( $p = 0,044$ ).

**Ключевые слова:** врожденная цитомегаловирусная инфекция, ганцикловир, гипериммунный анти-ЦМВ иммуноглобулин, исходы

**Финансирование:** работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы № 021-03 «Аntenатальная и ранняя постнатальная этиологическая диагностика и этиотропная терапия врожденных инфекционных заболеваний вирусной этиологии» ФМБА.

**Вклад авторов:** В. В. Васильев, Н. В. Рогозина — концепция и дизайн исследования; А. А. Гринева, Р. А. Иванова, И. В. Маркин — сбор и обработка материала, статистическая обработка данных; В. В. Васильев, Н. В. Рогозина — сбор данных литературы, написание текста, редактирование.

✉ **Для корреспонденции:** Валерий Викторович Васильев  
ул. Миргородская, д. 3, корп. И, г. Санкт-Петербург, 191167, Россия; vcubed@ya.ru

**Статья получена:** 12.08.2023 **Статья принята к печати:** 19.09.2023 **Опубликована онлайн:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.041

## CATAMNESIS OF CHILDREN WITH CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION DEPENDING ON ETIOTROPIC THERAPY IN THE FIRST YEAR OF LIFE

Vasilyev VV<sup>1,2</sup>✉, Rogozin NV<sup>1</sup>, Markin IV<sup>1</sup>, Ivanova RA<sup>1,3</sup>, Grineva AA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center of Infectious Diseases, Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Almazov National Medical Research Center, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia

Cytomegalovirus infection (CMV) continues to be a serious public health problem, being second to hypoxia and asphyxia in the list of reasons of morbidity and mortality of newborns. This study aimed to analyze therapeutic approaches to management of children with congenital cytomegalovirus with the regimens including an antiviral drug (direct action) and a specific anti-cytomegalovirus immunoglobulin (anti-CMV IG), depending on the clinical form of the disease. The total number of participants was 62, with the first group of children receiving the antiviral drug ( $n = 21$ ), and the second group — an anti-CMV IG ( $n = 41$ ). We analyzed the clinical, laboratory and instrumental research methods, and studied the catamnesis of children under 3 years of age. For statistical analysis, we used SPSS Statistics and StatTech v.3.1.6. In the first group, where the regimen included the direct action antiviral drug, the outcome was successful for 28.6% of the participants, and in the second group, which was treated with the anti-CMV immunoglobulin, this figure was 58.5%. Regardless of the regimen, by the age of 3, 50% of the children were practically healthy. Most of the participants tolerated the therapy satisfactorily. However, for 66% of the involved children, we had to shorten the direct action antiviral drug therapy to 14 days because of the problems with venous access, in 4.8% we registered thrombocytopenia, and in 9.5% — increased transaminase activity. Comparing the disease outcomes depending on the therapy initiation day, we established significant differences only for the specific antiviral therapy cases ( $p = 0.044$ ).

**Keywords:** congenital cytomegalovirus infection, gancyclovir, anti-CMV immunoglobulin, outcomes

**Funding:** this study was performed under the research effort № 021-03 "Antenatal and early postnatal etiological diagnostics and etiotropic therapy of congenital infectious diseases of viral etiology" managed by the FMBA.

**Author contribution:** Vasilyev VV, Rogozina NV — study conceptualization and design; AA Grineva, Ivanova RA, Markin IV — collection and processing of the material, statistical data processing; Vasilyev VV, Rogozina NV — collection of literature data, article authoring, editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Valery V. Vasilyev  
Mirgorodskaya, 3, korp. I, St. Petersburg, 191167, Russia; vcubed@ya.ru

**Received:** 12.08.2023 **Accepted:** 19.09.2023 **Published online:** 30.09.2023

**DOI:** 10.47183/mes.2023.041

Врожденные инфекционные заболевания (ВИЗ) занимают второе место после гипоксии и асфиксии в структуре заболеваемости и смертности новорожденных. В развитых странах цитомегаловирус (ЦМВ) является основным этиологическим фактором ВИЗ, которые могут приводить к инвалидизации [1]. Каждый 3–6 новорожденный из 1000 живорожденных инфицирован ЦМВ антенатально, среди них у 20–25% детей регистрируют симптомы при рождении и/или отдаленные последствия [2], что оказывает существенное влияние на общественное здоровье.

Клиническая картина врожденной цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) широко варьирует от отсутствия признаков инфекции до потенциально опасной для жизни генерализованной формы заболевания с поражением центральной нервной системы (ЦНС), печени, костного мозга, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и других органов [3]. Дополнительный анализ для уточнения формы врожденной ЦМВИ после этиологической верификации диагноза имеет решающее значение в определении тактики терапии и мониторинга.

Ганцикловир и валганцикловир — единственные препараты прямого противовирусного действия, которые на сегодняшний день применяют для лечения врожденной ЦМВИ. В ходе многочисленных исследований установлено положительное влияние препаратов на клиническое течение заболевания, достоверную нормализацию лабораторных показателей, улучшение массо-ростовых параметров, улучшение слуха, неврологического статуса и снижение летальности от ВИЗ [4, 5].

Однако при применении ганцикловира возможно возникновение нежелательных явлений, таких как нейтропения, лейкопения, анемия, тромбоцитопения, повышение уровня креатинина, активность печеночных трансаминаз и т. д. [4]. Использование ганцикловира у детей первых лет жизни возможно только вне инструкции (off label), после проведения консилиума в составе более трех специалистов и получения информированного согласия родителей. Пероральные формы валганцикловира (суспензия, сироп) в Российской Федерации (РФ) не зарегистрированы.

Дополнительные возможности лечения ЦМВИ заключаются в использовании гипериммунного антицитомегаловирусного иммуноглобулина (анти-ЦМВ ИГ), который хорошо переносится, однако на сегодняшний день опыт применения данного лекарственного средства выявил высокую терапевтическую эффективность только при субклинической и легкой форме заболевания врожденной ЦМВИ у детей [6]. Применение анти-ЦМВ ИГ в качестве монотерапии не показано у детей с клинически выраженной врожденной ЦМВИ, угрожающей жизни или наступлением тяжелых последствий [7].

На сегодняшний день абсолютно эффективной и безопасной противовирусной терапии врожденной ЦМВИ не существует. Необходимо проведение исследований, в том числе изучение отдаленных последствий заболевания при применении различных схем противовирусной терапии.

Цель исследования: изучить отдаленные последствия врожденной ЦМВИ в зависимости от степени тяжести заболевания и этиотропной терапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное исследование с анализом результатов лечения 62 детей с врожденной ЦМВИ,

состоявших на учете в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России в период с января 2017 г. по декабрь 2022 г. На основании первичной документации (медицинских карт стационарного больного, медицинских карт амбулаторного больного) был проведен анализ клинических проявлений, результатов лабораторных исследований и отдаленных последствий у наблюдаемых детей. Период наблюдения составил от 1 года до 3 лет. Основная часть (69,4%) детей находилась под наблюдением три года, 24,2% — два года и 6,5% — 1 год.

Критерии включения в исследование: подтвержденная врожденная ЦМВИ; отсутствие перинатального контакта по ВИЧ.

Критерии исключения из исследования: наличие ВИЧ-инфекции у матерей новорожденных; наличие тяжелых врожденных аномалий развития; наличие хромосомных и/или генетических синдромов.

Диагноз «врожденная ЦМВИ» устанавливали при наличии клинических проявлений заболевания и выявлении ДНК ЦМВ в плазме крови в первые три недели жизни в соответствии клиническими рекомендациями [3].

Выявление генетического материала (ДНК) ЦМВ в плазме крови, моче и слюне проводили методом ПЦР с использованием наборов реагентов «АмплиСенс®CMV-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия), чувствительность метода — не менее 400 копий/мл).

Все пациенты проходили комплексное обследование, которое включало анализ жалоб и анамнестических данных заболевания, физикальный осмотр. При осмотре регистрировали следующие данные: пол, срок гестации при рождении, течение беременности и родов, состояние при рождении и периода новорожденности, возраст при постановке диагноза, физическое и психомоторное развитие, динамику заболевания. Лабораторные и инструментальные методы проводили в соответствии с клиническими рекомендациями [3].

Все наблюдаемые дети были проконсультированы врачом-офтальмологом, неврологом и сурдологом. Пациентам выполняли нейросонографию (НСГ) и ультразвуковое исследование (УЗИ) органов сердца, брюшной полости и почек на аппарате Mindray M7 (Mindray, Китай) и Logiq E9 (GE Medical Systems Ultrasound and Primary Care Diagnostics; США). По показаниям проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) или компьютерную томографию (КТ) головного мозга и брюшной полости, у детей с гепатитом — фиброэластографию печени с помощью аппарата Fibroscan® (модель 502, Touch Echosens; Франция) в соответствии со стандартными операционными процедурами. Стадию фиброза оценивали в соответствии с классификацией METAVIR [8].

В зависимости от проводимой этиотропной терапии все обследуемые были разделены на две группы: группа 1 — дети, которым проводили терапию противовирусным препаратом прямого действия (ПППД) (ганцикловир, 6 мг/кг внутривенно каждые 12 ч, продолжительность курса — 14–21 день) — 21 человек, группа 2 — дети, которым в качестве стартовой терапии назначали анти-ЦМВ ИГ (1 мл/кг массы тела на одно введение внутривенно капельно, курс лечения составлял 6 введений с интервалом 48 ч) — 41 человек. Исследователи не участвовали в выборе препаратов (терапия стартовала до поступления детей под наблюдение ДНКЦИБ). В медицинской документации не найдено сведений о применении валганцикловира.

Оценку исходов врожденной ЦМВИ с поражением ЦНС проводили по педиатрической шкале исходов, представляющей модификацию шкал Рэнкина, Фишера

Таблица 1. Педиатрическая шкала исходов гнойных менингитов

Балл	Характеристика
0	Здоров
1	Отсутствие существенных отклонений от возрастной нормы в моторных функциях и интеллектуальном развитии, наличие легкого неврологического дефицита, поддающегося полной коррекции. Полная социализация
2	Наличие легкого двигательного или сенсорного дефицита и/или задержки психомоторного и речевого развития, требуется комплексная реабилитация; симптоматическая эпилепсия, контролируемая противозепилептическими препаратами. Несмотря на наличие стойкого неврологического дефицита, сохранена моторная активность, самообслуживание (для детей старше 3 лет). Хорошая социализация в семье, детском коллективе (при небольшой, непостоянной помощи взрослых).
3	Задержка психомоторного развития, не корректируемая полностью комплексными методами реабилитации; эпилепсия, плохо контролируемая противозепилептическими препаратами; необходима постоянная помощь посторонних. Социализация в условиях специализированных групп/учреждений
4	Грубый психоневрологический дефицит. Необходимы постоянный уход, специализированная (психоневрологического профиля) медицинская помощь. Невозможность социализации
5	Смерть

и Глазго [9]. В шкале учитывали наличие/отсутствие психоневрологического дефицита в сопоставлении с возрастной нормой; 0 баллов соответствовали полному здоровью, 5 баллов — летальному исходу (табл. 1). Неблагоприятными исходами считали сумму в 3–5 баллов по оцениваемой шкале.

При наличии детского церебрального паралича (ДЦП) в исходе заболевания у наблюдаемых детей, использовали Шкалу GMFCS (Gross Motor Function Classification System — система классификации больших моторных функций при ДЦП). По данной шкале благоприятными исходами считали I, II, III уровень больших моторных функций, IV и V — неблагоприятными.

Статистический анализ выполняли с использованием программы SPSS Statistics (version 23) и StatTech v. 3.1.6 («Статтех»; Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова–Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывали с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполняли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Категориальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполняли с помощью точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10), сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности — с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), сравнение бинарных показателей, характеризующих две связанные совокупности, — с помощью теста МакНемара. Для оценки прогностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применяли метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определяли по наивысшему значению индекса Юдена. Различия между изучаемыми показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Характеристика пациентов

В исследование было включено 62 ребенка: 27 (43,5%) в возрасте от 1 до 3 месяцев, 35 (56,5%) — от 4 до 6 месяцев. Мальчики составили 53,2%, девочки — 46,8%. Неблагоприятное течение антенатального периода зарегистрировано у 88,7% детей: у 17 (27,4%) — угроза прерывания, у 12 (19,4%) — задержка внутриутробного развития (ЗВУР) плода: в 4,8% случаев у доношенных, в два раза чаще (в 9,7% случаев) у недоношенных ( $p = 0,001$ ), у 41,9% детей матери перенесли во время беременности ОРВИ различной степени тяжести. Матери во время беременности не были обследованы на ЦМВИ. В исследовании преобладали доношенные дети — 64,5% (40 детей). Средний вес детей при рождении был 650–1914 г. Возраст пациентов при первичном обращении в центр составил  $3,8 \pm 3,2$  месяца.

Клинические проявления отличались большим разнообразием (рис. 1). Более чем у 60% детей наблюдалось поражение ЦНС, в том числе менингоэнцефалит у трех (4,8%) детей, энцефалит у одного (1,6%) ребенка, а также нарастание гипертензионно-гидроцефального синдрома у шести (9,7%) детей. Увеличение печени обнаружено у 18 детей (29%), сочетание гепатомегалии и спленомегалии — у 9 (14,5%), у остальных регистрировали гиперферментемию (от 2 до 20 норм за счет АЛТ). У 3,2% наблюдаемых детей с гепатитом регистрировали геморрагический синдром. Нарушение пигментного обмена за счет прямого билирубина отмечено у 9,7%. Поражение органов зрения выявлено у 19,4% детей, нейросенсорная тугоухость — у двоих (3,2%), нейтропения — у 32,2% детей (уровень нейтрофилов не превышал 500/мкл), сочетание нейтропении и анемии наблюдали у 25,8%.

У детей с врожденной ЦМВИ лечение противовирусным препаратом прямого действия проводили при тяжелом поражении ЦНС или сочетанном поражении ЦНС и других органов. Анти-ЦМВ ИГ применяли в качестве монопрепарата при легкой форме с изолированными проявлениями (гепатит, нейтропения) (табл. 2). Неврологическая симптоматика в группе детей, принимавших анти-ЦМВ ИГ, была представлена преимущественно гипоксически-ишемической перинатальной энцефалопатией.

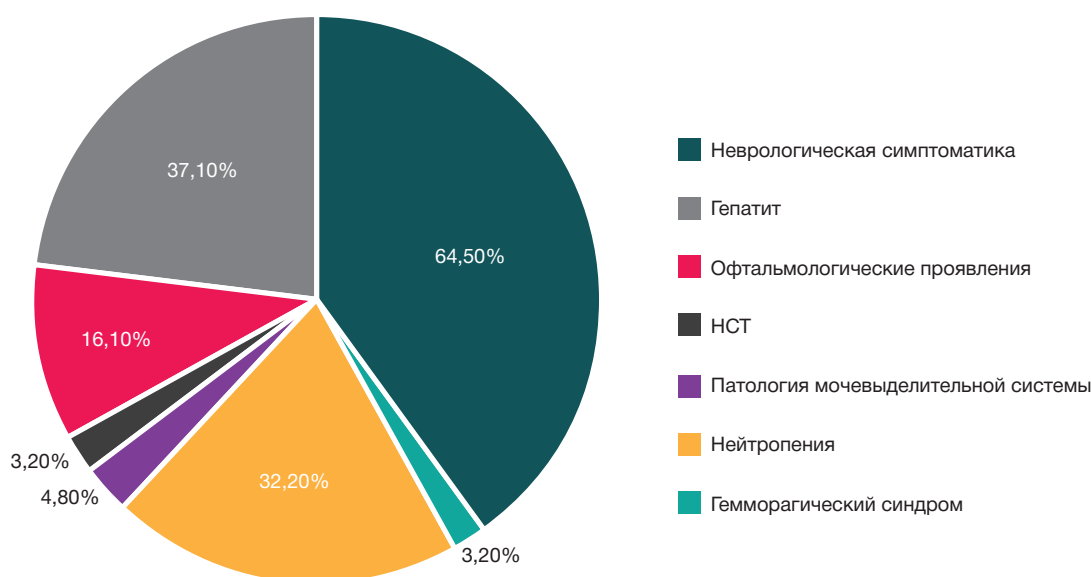


Рис. 1. Клинические проявления у детей с врожденной цитомегаловирусной инфекцией

Формы заболевания устанавливали на основании клинических рекомендаций [3]. Среднетяжелая и тяжелая формы заболевания диагностированы у 58,1% и 12,9% соответственно, легкая и субклиническая — у 17,7% и 11,3% детей соответственно.

В табл. 3 представлены результаты изучения клинических проявлений врожденной ЦМВИ в зависимости от формы заболевания. При тяжелых формах было зарегистрировано поражение нескольких органов, включая ЦНС и печень. При легкой форме заболевания преобладал гепатит в 91,7% случаев. Нейросенсорная тугоухость в данном исследовании отмечали лишь у двоих детей со среднетяжелой формой заболевания. Нейтропения имела место в 100% случаев у детей с легкой формой, в 8,3% — со среднетяжелой формой и в 62,5% случаев — у детей с тяжелой формой заболевания.

## Результаты терапии

В нашем исследовании 21 ребенок получал ПППД (группа 1), 41 ребенок — анти-ЦМВ ИГ (группа 2).

Среди детей вне зависимости от проводимой терапии доля практически здоровых детей к 3 годам жизни составляла 50%. Благоприятный исход имел место у 28,6% детей, лечившихся ПППД (группа 1), и у 58,5% детей, принимавших анти-ЦМВ ИГ (группа 2). Легкий неврологический дефицит был отмечен у 17 детей (27,4%), умеренный — у 6 (9,7%), грубый органический дефицит — у 8 (12,9%). Задержка психомоторного

развития диагностирована у 19 детей (30,6%), когнитивные нарушения сопровождались различными неврологическими синдромами (гипертензионно-гидроцефальным, судорожным синдромом, нарушением мышечного тонуса) у 6 (31,6%) детей.

Среди детей, принимавших ПППД, диагноз ДЦП установлен у шести пациентов (28,6%) в возрасте одного года как наиболее тяжелая форма двигательных нарушений. Из них один ребенок был отнесен к III уровню двигательных функций по шкале GMFCS, два ребенка к IV и четверо детей к V уровню. В результате аудиологического обследования у одного ребенка диагностирована односторонняя хроническая сенсоневральная тугоухость 1-й степени.

У детей, принимавших анти-ЦМВ ИГ, в 31,7% случаев (13 человек) регистрировали задержку психомоторного развития, в 12,2% случаев (у 5 детей) — судорожный синдром, у одного ребенка (2,4%) установлен диагноз ДЦП со 2 уровнем нарушений двигательных функций по шкале GMFCS, что считается благоприятным исходом заболевания (табл. 4).

Как известно, врожденная ЦМВИ может стать причиной развития цирроза печени с формированием летального исхода. В нашем исследовании на фоне проводимой терапии у всех детей мы наблюдали нормализацию размеров печени и селезенки, а также активности трансаминаз ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Хроническая форма гепатита сформировалась у четырех детей: у одного ребенка без признаков фиброза печени, у трех детей с фиброзом печени 1–2 стадии.

Таблица 2. Клинические проявления у детей с врожденной цитомегаловирусной инфекцией в двух группах

Клинические проявления	ПППД (n = 21)		Анти-ЦМВ ИГ (n = 41)		Статистические различия между группами
	Абс.	%	Абс.	%	
Неврологическая симптоматика	17	85,7	20	48,8	$p = 0,005$
Гепатит	7	33,3	19	46,3	$p = 0,177$
Офтальмологические проявления	3	14,3	5	12,2	$p = 1,000$
НСТ	1	4,8	1	2,4	$p = 1,000$
Патология мочевыделительной системы	0	0	3	7,3	$p = 0,545$
Нейтропения	5	23,8	15	36,6	$p = 0,156$
Гемморагический синдром	2	9,5	0	0	$p = 0,111$

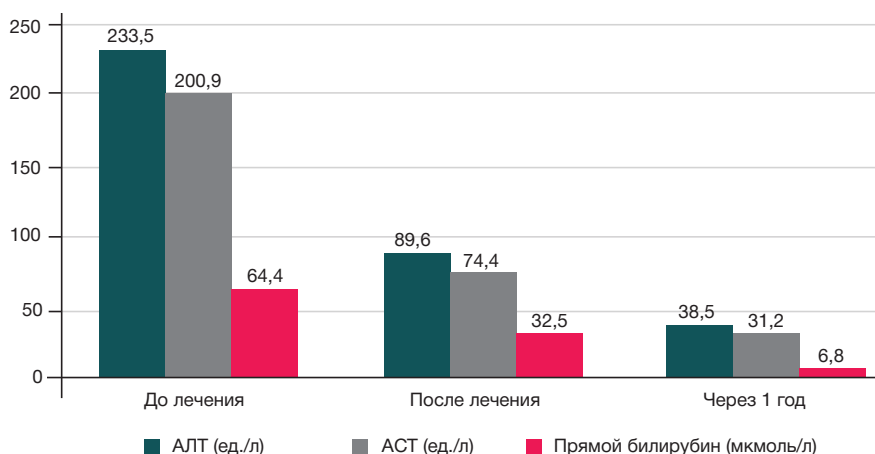


Рис. 2. Средние показатели ( $\mu$ ) уровня АЛТ, АСТ и прямого билирубина до начала терапии, после терапии и через 1 год

При сравнении исходов врожденной ЦМВИ в зависимости от срока гестации новорожденных не удалось установить статистически значимых различий ( $p = 1,000$ ). Шансы неблагоприятного исхода врожденного заболевания в сравниваемых группах были одинаковы (95% ДИ: 0,160–6,255).

### Переносимость терапии ПППД и анти-ЦМВ ИГ

Несмотря на известные осложнения при применении ПППД, дети, включенные в данное исследование, терапию переносили удовлетворительно, основной проблемой его применения было нарушение венозного доступа, которое выявлялось у 14 детей (66%), у них курс терапии был сокращен до 14 дней, но с регистрацией положительного вирусологического эффекта. У трех детей имели место другие побочные эффекты. У одного ребенка (4,8%) с менингоэнцефалитом отмечалась тромбоцитопения со снижением уровня тромбоцитов ниже 50, в связи с

тромбоцитопенией у него было пропущено одно введение ПППД, затем, после нормализации уровня тромбоцитов, курс был продолжен и завершен полностью. У двоих детей (9,5%) во время курса ПППД было зарегистрировано повышение активности трансаминаз не более двух норм за счет АЛТ и 1,5 норм за счет АСТ, что не потребовало отмены ПППД; после завершения курса активность трансаминаз нормализовалась самостоятельно.

### Факторы, влияющие на отдаленные результаты терапии ПППД и анти-ЦМВ ИГ

Для анализа факторов, ассоциированных с благоприятным или неблагоприятным исходом врожденной ЦМВИ, применяли одномерную модель логистической регрессии. Одномерный анализ проводили с такими факторами, как срок гестации (доношенный/недоношенный), наличие или отсутствие ЗВУР, неблагоприятное течение антенатального периода, форма заболевания, срок начала специфической терапии, органы поражения (ЦНС, печень, органы

Таблица 3. Клинические проявления врожденной цитомегаловирусной инфекции в зависимости от формы заболевания

Клинические проявления	Легкая форма		Среднетяжелая		Тяжелая		Статистические различия между группами
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
ЦНС	2	16,7	30	83,3	8	100	$p = 0,001$ (I + II)
Печень	11	91,7	10	27,8	3	37,5	$p = 0,285$
Органы зрения	1	8,3	7	19,4	2	25	$p < 0,001$ (II + III)
Органы слуха	0	0	2	5,6	0	0	
Почки	0	0	3	8,3	0	0	$p < 0,001$ (II + III)
Органы кроветворения	12	100	3	8,3	5	62,5	$p < 0,001$ (II + III)
Поражение более двух органов	2	16,7	18	50	8	100	$p < 0,001$ (II + III)
Всего:	12	17,7	36	58,1	8	12,9	

Таблица 4. Психоневрологический дефицит у детей с врожденной ЦМВИ до терапии ПППД и после

Психоневрологический дефицит в сопоставлении с возрастной нормой (согласно педиатрической шкале)	До лечения		После лечения		Статистические различия между группами
	Абс.	%	Абс.	%	
Легкий неврологический дефицит (1 балл)	2	9,5	8	38,1	$p < 0,05$
Умеренный неврологический дефицит (2 балла)	0	0	2	9,5	$p < 0,05$
Грубый неврологический дефицит (3-4 балла)	16	76,2	8	38,1	$p < 0,05$

Таблица 5. Психоневрологический дефицит у детей с врожденной ЦМВИ до терапии анти-ЦМВ ИГ и после

Психоневрологический дефицит в сопоставлении с возрастной нормой (согласно педиатрической шкале)	До лечения		После лечения		Статистические различия между группами
	Абс.	%	Абс.	%	
Легкий неврологический дефицит (1 балл)	0	0	14	34,1	$p < 0,05$
Умеренный неврологический дефицит (2 балла)	11	26,3	5	12,2	$p < 0,05$
Грубый неврологический дефицит (3–4 балла)	7	17,1	0	0	$p < 0,05$

зрения и слуха, органы кроветворения), вовлечение в инфекционный процесс более двух органов.

При изучении влияния указанных факторов не было найдено признаков, связанных с неблагоприятным исходом врожденной ЦМВИ.

При проведении ROC-анализа (рис. 3) установлено, что вероятность развития неблагоприятного исхода значительно ниже в начале терапии ПППД в первые 3 месяца жизни ребенка. Выявленная закономерность статистически значима ( $p = 0,044$ ; AUC =  $0,759 \pm 0,107$  с 95% ДИ: 0,550–0,968; чувствительность — 80,0%, специфичность — 72,7%).

Сроки начала терапии анти-ЦМВ ИГ (до или позже 3 месяцев жизни ребенка) не влияли на общую частоту патологии, формировавшейся к концу наблюдения (до 3 лет жизни) (рис. 4;  $p = 0,417$ ), однако достоверно снижал частоту неблагоприятных психоневрологических исходов (табл. 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Клинические проявления врожденной ЦМВИ разнообразны и могут варьировать от тяжелого течения в период новорожденности в виде менингоэнцефалита, холестатического гепатита, синдрома дыхательных расстройств и нейросенсорной тугоухости до легкого, субклинического течения со случайным выявлением в более поздние сроки [10, 11, 12]. Наше исследование описывает течение и исходы врожденной ЦМВИ у пациентов, лечившихся в ДНК ЦИБ ФМБА России с января 2017 г. по декабрь 2022 г. и получавших терапию анти-ЦМВ ИГ и ПППД. У большей части детей (64%) было выявлено поражение ЦНС. По данным большинства исследований, именно поражение ЦНС и нейросенсорная тугоухость в настоящее время являются основными проявлениями врожденной ЦМВИ у детей во всех странах мира, в том числе в РФ. В данном исследовании частота менингоэнцефалита составила 4,8%, энцефалита — 1,6%, по результатам других исследователей — 3–32% случаев [13], частота гипертензионно-гидроцефального синдрома у наших пациентов выявлена у 9,7% детей, хотя по данным многих исследователей превышает 50% [14].

Таблица 6. Факторы, ассоциированные с неблагоприятным исходом врожденной цитомегаловирусной инфекции

№	Фактор	$p$
1	Срок гестации (доношенный/недоношенный)	0,312
2	ЗВУР	0,438
3	Неблагоприятное течение антенатального периода	0,834
4	Срок начала специфической терапии	0,279
5	Форма заболевания	0,52
6	ЦНС	0,187
7	Печень	0,297
8	Органы зрения и слуха	0,946
9	Вовлечение в инфекционный процесс более двух органов	0,266

У детей с врожденной ЦМВИ часто выявляют гепатит — у 17,4–26% детей [15, 16], активность АЛТ более 80 ед./л регистрируется у 83% детей, более 100 ед./л — у 17% исследуемых [17], описаны случаи регистрации печеночной недостаточности [18]. В данном исследовании гепатит был выявлен у 37,1% детей, отмечалось более тяжелое течение, сочетание гепатомегалии и спленомегалии обнаружено у 14,5% детей, повышение АЛТ и АСТ было в 2–20 раз выше нормы, нарушение пигментного обмена за счет прямого билирубина отмечено у 9,7% детей, геморрагический синдром — у 3,2% детей.

Поражение органов зрения выявлено у 19,4% детей, нейросенсорная тугоухость — у двоих (3,2%), что реже, чем в большинстве других исследований [19, 20]. Гематологическую патологию в виде нейтропении наблюдали у 32,2% детей, сочетание нейтропении и анемии — у 25,8%.

Безусловно, на частоту и выраженность патологии при врожденной ЦМВИ, спектр формирующихся отдаленных последствий и исходы влияет множество факторов, которые в рамках данного исследования не были изучены (например, возможный срок гестации при заражении плода) (табл. 6).

В качестве средства этиотропной терапии при манифестной форме заболевания в связи с высокой частотой угрозы жизни или инвалидизации детей и, несмотря на токсичность препарата, используют ПППД. Специфичный анти-ЦМВ ИГ может быть применен в качестве дополнительного этиотропного средства при тяжелой врожденной ЦМВИ и в качестве основного — при легких и субклинических формах, при этом методика его назначения (дозы, интервалы введения, курс) нуждаются в изучении с привлечением большего количества пациентов. В рамках проведенного исследования показано, что анти-ЦМВ ИГ, назначаемый при легких формах заболевания, оказывал статистически значимый положительный эффект в купировании симптомов психоневрологического дефицита, в том числе полностью купировал грубую неврологическую симптоматику (табл. 5). Однако полученные данные необходимо проверить на большем количестве наблюдений в условиях рандомизированного исследования.

Раннее начало противовирусной терапии при манифестных формах ЦМВИ не подвергается сомнению [21]. Однако нередко диагноз устанавливают на 2–3 месяце жизни ребенка и в этих случаях врачи не всегда назначают терапию. К сожалению, большинство авторов представляют единичные клинические случаи, описывающие эффективность ПППД и анти-ЦМВ ИГ у детей с врожденной ЦМВИ [22, 23]. Данное исследование показывает, что неблагоприятные исходы в виде ДЦП, задержки психомоторного развития, эпилепсии, хронической сенсоневральной тугоухости, статус инвалидов детства были установлены у 14,5% детей, что намного реже, чем в наблюдательных исследованиях за детьми с врожденной ЦМВИ без применения противовирусных препаратов. Инвалидность по поводу фиброза легких и цирроза печени в исходах врожденной ЦМВИ в данном исследовании зарегистрирована не была. В 2016 г. при ретроспективном наблюдении 59 детей с врожденной ЦМВИ без проведения противовирусной терапии у 94,4% пациентов была отмечена умственная отсталость, у 38,9% — ДЦП, у 25,9% детей — судорожный синдром и у 66,7% — нарушения слуха [24]. Есть сообщение, что трехмесячный курс нецитотекта у 70 детей с гипертензионно-гидроцефальным синдромом при врожденной ЦМВИ приводит к уменьшению размеров желудочков в 28,5% случаев [25].

Особое место в исследовании отводили переносимости ПППД. Если не считать нарушение венозного доступа, препарат хорошо переносился. Только у трех детей (14,2%) были зарегистрированы побочные эффекты, которые не повлекли отмену препарата — тромбоцитопения и гиперферментемия. Ограничения применения ПППД на

практике связаны не столько с токсичностью, сколько с необходимостью частой смены катетеров для его инфузии [26].

## ВЫВОДЫ

Применение ПППД у детей с тяжелой и среднетяжелой формой врожденной ЦМВИ со стартом терапии в возрасте менее 3 месяцев достоверно снижает частоту всего спектра неблагоприятных исходов, в первую очередь психоневрологического дефицита, что подтверждается результатами ROC-анализа (к концу наблюдения в два раза снижалась частота грубого дефицита, полностью купирован умеренный). Одной из возможных причин сохранения неблагоприятных исходов и отдаленных последствий могло стать отсутствие пролонгированной терапии валганцикловиром, указаний на проведение которой в медицинской документации не найдено. В рамках проведенного исследования курсовое применение анти-ЦМВ ИГ у детей с врожденной ЦМВИ легкой степени тяжести вне зависимости от возраста ребенка в момент назначения (младше 3 месяцев, старше 3 месяцев) также достоверно связано со снижением тяжести психоневрологического дефицита к концу наблюдения, причем грубый неврологический дефицит купировался полностью. Полученные данные позволяют предположить, что проведение этиотропной терапии детям с врожденной ЦМВИ может быть реализовано не только в первые недели жизни, но и позже, при наличии показаний. С учетом того, что одним из принципов успеха этиотропной терапии является ее раннее назначение, необходимы дополнительные исследования по определению того критического промежутка времени жизни ребенка, в рамках которого начало такой терапии максимально эффективно.

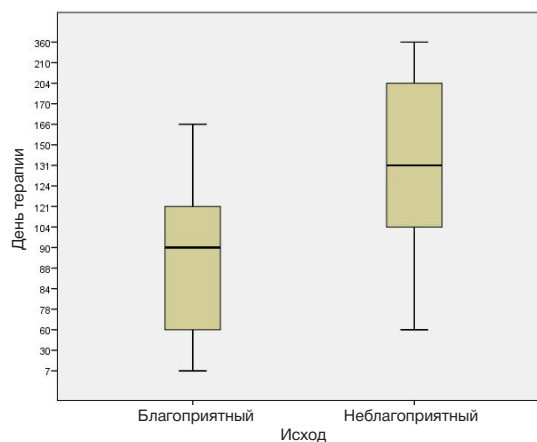
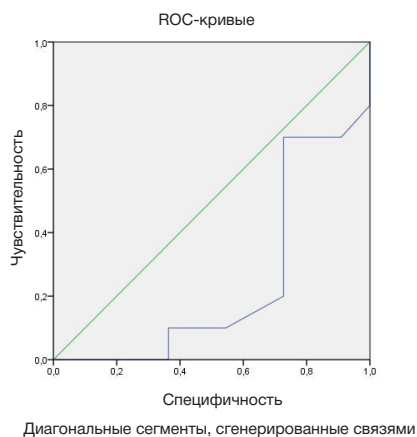


Рис. 3. ROC-кривая, характеризующая вероятность возникновения неблагоприятного исхода в зависимости от дня начала терапии ПППД

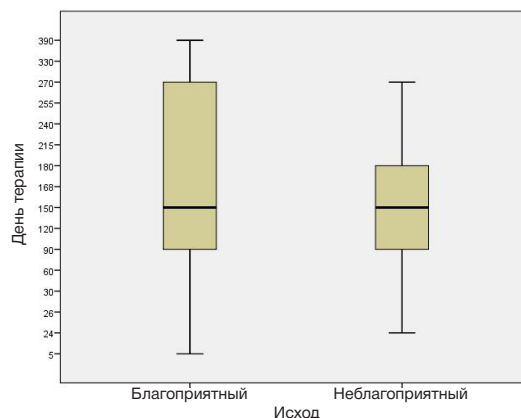
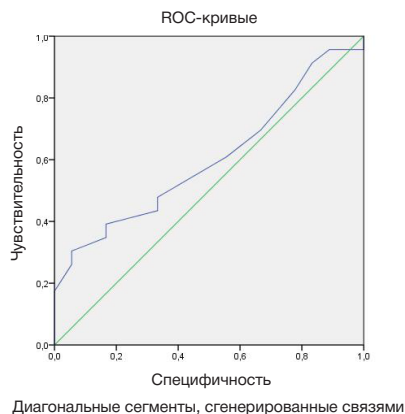


Рис. 4. ROC-кривая, характеризующая вероятность возникновения неблагоприятного исхода в зависимости от дня начала терапии анти-ЦМВ ИГ

## Литература

- Leruez-Ville M, Foulon I, Pass R, Ville Y. Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 223 (3): 330–49. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.02.018. Epub 2020 Feb 24. PMID: 32105678.
- Pinninti S, Boppana S. Congenital cytomegalovirus infection diagnostics and management. *Curr Opin Infect Dis.* 2022; 35 (5): 436–41. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000874. Epub 2022 Aug 19. PMID: 35984001.
- Российское общество неонатологов, Российская ассоциация специалистов перинатальной медицины. Клинические рекомендации «Врожденная цитомегаловирусная инфекция». М., 2022; 62 с.
- Chen SJ, Wang SC, Chen YC. Antiviral agents as therapeutic strategies against cytomegalovirus infections. *Viruses.* 2019; 12 (1): 21. DOI: 10.3390/v12010021.
- Демин М. В., Тихомиров Д. С., Туполева Т. А., Филатов Ф. П. Устойчивость к противовирусным препаратам у вирусов человека из подсемейства Betaherpesvirinae. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67 (5): 385–94. DOI 10.36233/0507-4088-136.
- Blázquez-Gamero D, Galindo Izquierdo A, Del Rosal T, Baquero-Artigao F, Izquierdo Méndez N, Soriano-Ramos M, et al. Prevention and treatment of fetal cytomegalovirus infection with cytomegalovirus hyperimmune globulin: a multicenter study in Madrid. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32 (4): 617–25. DOI: 10.1080/14767058.2017.1387890. Epub 2017 Oct 26.
- Шахильдян В. И. Врожденная цитомегаловирусная инфекция: актуальные вопросы, возможные ответы. *Неонатология: новости, мнения, обучение.* 2020; 8 (4): 61–72.
- Fu J, Wu B, Wu H, Lin F, Deng W. Accuracy of real-time shear wave elastography in staging hepatic fibrosis: a meta-analysis. *BMC Med Imaging.* 2020; 20 (1): 16. DOI: 10.1186/s12880-020-0414-5.
- Вильниц А. А., Скрипченко Н. В., Горелик Е. Ю., Егорова Е. С., Маркова К. В. Возможности оптимизации патогенетической терапии гнойных менингитов у детей. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2019; 119 (12): 46–50. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.17116/jnevro201911912146>.
- Xu H, Zhang L, Xuan XY, Zhu M, Tang J, Zhao XK. Intrauterine cytomegalovirus infection: a possible risk for cerebral palsy and related to its clinical features, neuroimaging findings: a retrospective study. *BMC Pediatr.* 2020; 20 (1): 555. DOI: 10.1186/s12887-020-02449-3.
- Васильев В. В., Рогозина Н. В., Иванова Р.А и др. Сравнительный анализ отечественных и зарубежных клинических рекомендаций по актуальным врожденным инфекционным заболеваниям. *Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского.* 2019; 98 (2): 141–6. DOI 10.24110/0031-403X-2019-98-2-141-146.
- Njue A, Coyne C, Margulis AV, Wang D, Marks MA, et al. The Role of Congenital Cytomegalovirus Infection in Adverse Birth Outcomes: A Review of the Potential Mechanisms. *Viruses.* 2020; 13 (1): 20. DOI: 10.3390/v13010020.
- Diogo MC, Glatte S, Binder J, Kiss H, Prayer D. The MRI spectrum of congenital cytomegalovirus infection. *Prenat Diagn.* 2020; 40 (1): 110–24. DOI: 10.1002/pd.5591. Epub 2020 Jan 6.
- Krstanović F, Britt WJ, Jonjić S, Brizić I. Cytomegalovirus Infection and Inflammation in Developing Brain. *Viruses.* 2021; 13 (6): 1078. DOI: 10.3390/v13061078.
- Заплатников А. Л. и др. Возможно ли предупредить последствия врожденной цитомегаловирусной инфекции? (Взгляд акушера-гинеколога, инфекциониста и неонатолога). *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение.* 2018; 2 (10): 45–50.
- Bilavsky E, Schwarz M, Bar-Sever Z, Pardo J, Amir J. Hepatic involvement in congenital cytomegalovirus infection — infrequent yet significant. *J Viral Hepat.* 2015; 22 (9): 763–8. DOI: 10.1111/jvh.12374.
- Карпович Г. С., Шестаков А. Е., Михайленко М. А., Серова Ю. С. Цитомегаловирусный гепатит у детей: современное состояние проблемы. *Лечащий Врач.* 2022; 1 (25): 25–29. DOI: 10.51793/OS.2022.25.1.004.
- Patterson J, Hussey HS, Silal S, Goddard L, Setshedi M, Spearman W, et al. Systematic review of the global epidemiology of viral-induced acute liver failure. *BMJ Open.* 2020; 10 (7): e037473. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-037473.
- Botti C, Palma S, Roversi MF, Monzani D, Berardi A, Genovese E. Different Audiologic Outcomes in Twins with Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Int Adv Otol.* 2020; 16 (1): 130–3. DOI: 10.5152/iao.2020.6574.
- Chatzakis C, Sotiriadis A, Dinas K, Ville Y. Neonatal and long-term outcomes of infants with congenital cytomegalovirus infection and negative amniocentesis: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2023; 61 (2):158–67. DOI: 10.1002/uog.26128.
- Рогозина Н. В., Васильев В. В., Гринева А. А. и др. Анте и постнатальная диагностика и комплексное лечение врожденной цитомегаловирусной инфекции. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2019; 64 (6): 89–93. DOI 10.21508/1027-4065-2019-64-6-89-93.
- Pata D, Buonsenso D, Turriziani-Colonna A, Salerno G, Scarlato L, Colussi L, et al. Role of Valganciclovir in children with congenital CMV infection: a review of the literature. *Children (Basel).* 2023; 10 (7): 1246. DOI: 10.3390/children10071246.
- Петрова Г. В., Шахильдян В. И., Чистозвонова Е. А., Пугачева Т. А., Туркот Н. В., Егорова М. В. и др. Опыт применения противовирусной терапии врожденной генерализованной цитомегаловирусной инфекции. *Детские инфекции.* 2016; 15 (2): 61–68.
- Uematsu M, Haginoya K, Kikuchi A, et al. Asymptomatic congenital cytomegalovirus infection with neurological sequelae: A retrospective study using umbilical cord. *Brain Dev.* 2016; 38 (9): 819–26. DOI: 10.1016/j.braindev.2016.03.006.
- Анциферова Е. В., Таранушенко Т. Е., Генинова Д. Г., Карпова Л. Н., Филиппова Л. А., Караганова К. И., et al. Врожденная цитомегаловирусная инфекция: особенности клинического течения и катамнез по данным собственного наблюдения. *Журнал инфектологии.* 2022; 14 (4): 118–25.
- Acosta E, Bowlin T, Brooks J, Chiang L, Hussein I, Kimberlin D, et al. Advances in the development of therapeutics for cytomegalovirus infections. *J Infect Dis.* 2020; 221: S32–S44. DOI: 10.1093/infdis/jiz493.

## References

- Leruez-Ville M, Foulon I, Pass R, Ville Y. Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 223 (3): 330–49. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.02.018. Epub 2020 Feb 24. PMID: 32105678.
- Pinninti S, Boppana S. Congenital cytomegalovirus infection diagnostics and management. *Curr Opin Infect Dis.* 2022; 35 (5): 436–41. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000874. Epub 2022 Aug 19. PMID: 35984001.
- Rossiiskoe obshhestvo neonatologov, Rossiiskaja asociaciya specialistov perinatal'noj mediciny. Klinicheskie rekomendacii «Vrozhdennaja citomegalovirusnaja infekcija». М., 2022; 62 s. Russian.
- Chen SJ, Wang SC, Chen YC. Antiviral agents as therapeutic strategies against cytomegalovirus infections. *Viruses.* 2019; 12 (1): 21. DOI: 10.3390/v12010021.
- Demin MV, Tihomirov DS, Tupoleva TA, Filatov FP. Ustojchivost' k protivovirusnym preparatam u virusov cheloveka iz podsemejstva Betaherpesvirinae. *Voprosy virusologii.* 2022; 67 (5): 385–94. DOI 10.36233/0507-4088-136. Russian.
- Blázquez-Gamero D, Galindo Izquierdo A, Del Rosal T, Baquero-Artigao F, Izquierdo Méndez N, Soriano-Ramos M, et al. Prevention and treatment of fetal cytomegalovirus infection with



- cytomegalovirus hyperimmune globulin: a multicenter study in Madrid. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32 (4): 617–25. DOI: 10.1080/14767058.2017.1387890. Epub 2017 Oct 26.
7. Shahgildjan VI. Vrozhden'naja citomegalovirusnaja infekcija: aktual'nye voprosy, vozmozhnye otvety. *Neonatologija: novosti, mnenija, obuchenie.* 2020; 8 (4): 61–72.
  8. Fu J, Wu B, Wu H, Lin F, Deng W. Accuracy of real-time shear wave elastography in staging hepatic fibrosis: a meta-analysis. *BMC Med Imaging.* 2020; 20 (1): 16. DOI: 10.1186/s12880-020-0414-5.
  9. Vilnic AA, Skripchenko NV, Gorelik EYu, Egorova ES, Markova KV. Vozmozhnosti optimizacii patogeneticheskoj terapii gnojnyh meningitov u detej. *Zhurnal nevrologii i psihiatrii im. S. S. Korsakova.* 2019; 119 (12): 46–50. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.17116/jnevro201911912146>. Russian.
  10. Xu H, Zhang L, Xuan XY, Zhu M, Tang J, Zhao XK. Intrauterine cytomegalovirus infection: a possible risk for cerebral palsy and related to its clinical features, neuroimaging findings: a retrospective study. *BMC Pediatr.* 2020; 20 (1): 555. DOI: 10.1186/s12887-020-02449-3.
  11. Vasilev VV, Rogozina NV, Ivanova RA, i dr. Sravnitel'nyj analiz otechestvennyh i zarubezhnyh klinicheskikh rekomendacij po aktual'nym vrozhdennym infekcionnym zabolevanijam. *Pediatrics. Zhurnal im. G. N. Speranskogo.* 2019; 98 (2): 141–6. DOI 10.24110/0031-403X-2019-98-2-141-146. Russian.
  12. Njue A, Coyne C, Margulis AV, Wang D, Marks MA, et al. The Role of Congenital Cytomegalovirus Infection in Adverse Birth Outcomes: A Review of the Potential Mechanisms. *Viruses.* 2020; 13 (1): 20. DOI: 10.3390/v13010020.
  13. Diogo MC, Glatter S, Binder J, Kiss H, Prayer D. The MRI spectrum of congenital cytomegalovirus infection. *Prenat Diagn.* 2020; 40 (1): 110–24. DOI: 10.1002/pd.5591. Epub 2020 Jan 6.
  14. Krstanović F, Britt WJ, Jonjić S, Brizić I. Cytomegalovirus Infection and Inflammation in Developing Brain. *Viruses.* 2021; 13 (6): 1078. DOI: 10.3390/v13061078.
  15. Zaplatnikov AL, i dr. Vozmozhno li predupredit' posledstvija vrozhdennoj citomegalovirusnoj infekcii? (Vzgljad akusheraginekologa, infekcionista i neonatologa). *Russkij medicinskij zhurnal. Medicinskoe obozrenie.* 2018; 2 (10): 45–50. Russian.
  16. Bilavsky E, Schwarz M, Bar-Sever Z, Pardo J, Amir J. Hepatic involvement in congenital cytomegalovirus infection — infrequent yet significant. *J Viral Hepat.* 2015; 22 (9): 763–8. DOI: 10.1111/jvh.12374.
  17. Karpovich GS, Shestakov AE, Mihajlenko MA, Serova YuS. Citomegalovirusnyj gepatit u detej: sovremennoe sostojanie problemy. *Lechashij Vrach.* 2022; 1 (25): 25–29. DOI: 10.51793/OS.2022.25.1.004. Russian.
  18. Patterson J, Hussey HS, Silal S, Goddard L, Setshedi M, Spearman W, et al. Systematic review of the global epidemiology of viral-induced acute liver failure. *BMJ Open.* 2020; 10 (7): e037473. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-037473.
  19. Botti C, Palma S, Roversi MF, Monzani D, Berardi A, Genovese E. Different Audiologic Outcomes in Twins with Congenital Cytomegalovirus Infection. *J Int Adv Otol.* 2020; 16 (1): 130–3. DOI: 10.5152/iao.2020.6574.
  20. Chatzakis C, Sotiriadis A, Dinas K, Ville Y. Neonatal and long-term outcomes of infants with congenital cytomegalovirus infection and negative amniocentesis: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2023; 61 (2):158–67. DOI: 10.1002/uog.26128.
  21. Rogozina NV, Vasilev VV, Grineva AA, i dr. Ante i postnatal'naja diagnostika i kompleksnoe lechenie vrozhdennoj citomegalovirusnoj infekcii. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii.* 2019; 64 (6): 89–93. DOI 10.21508/1027-4065-2019-64-6-89-93.
  22. Pata D, Buonsenso D, Turiziani-Colonna A, Salerno G, Scarlato L, Colussi L, et al. Role of Valganciclovir in children with congenital CMV infection: a review of the literature. *Children (Basel).* 2023; 10 (7): 1246. DOI: 10.3390/children10071246.
  23. Petrova GV, Shahgil'djan VI, Chistozvonova EA, Pugacheva TA, Turkot NV, Egorova MV, i dr. Opyt primenenija protivovirusnoj terapii vrozhdennoj generalizovannoj citomegalovirusnoj infekcii. *Detskie infekcii.* 2016; 15 (2): 61–68.
  24. Uematsu M, Haginoya K, Kikuchi A, et al. Asymptomatic congenital cytomegalovirus infection with neurological sequelae: A retrospective study using umbilical cord. *Brain Dev.* 2016; 38 (9): 819–26. DOI: 10.1016/j.braindev.2016.03.006.
  25. Anciferova EV, Taranushenko TE, Geninova DG, Karpova LN, Filippova LA, Karaganova KI, et al. Vrozhden'naja citomegalovirusnaja infekcija: osobennosti klinicheskogo techenija i katamnez po dannym sobstvennogo nabljudenija. *Zhurnal infektologii.* 2022; 14 (4): 118–25. Russian.
  26. Acosta E, Bowlin T, Brooks J, Chiang L, Hussein I, Kimberlin D, et al. Advances in the development of therapeutics for cytomegalovirus infections. *J Infect Dis.* 2020; 221: S32–S44. DOI: 10.1093/infdis/jjz493.

## ПИЛОТНЫЙ ОПРОС ВРАЧЕЙ О СИСТЕМЕ ПРИСВОЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИОННЫХ КАТЕГОРИЙ

В. М. Мишарин<sup>1</sup>, А. В. Кочубей<sup>2</sup>✉<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия<sup>2</sup> Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Стагнация института присвоения квалификационных категорий (аттестации) актуализирует изучение мнения врачей для понимания и решения проблем данной системы. Целью данной работы было получить оценку врачей системы их аттестации, необходимости и направлений ее преобразований. В рамках исследования проводили заочный опрос 64 врачей, 48,4% из которых имеют квалификационную категорию, 42,2% — ученую степень, 51,6% — состоят в профессиональном сообществе, 45,3% — преподают, 48,4% — публикуют результаты научной деятельности, 26,6% — представляют на научно-практических мероприятиях результаты своей работы. Средний стаж работы врачом —  $13,8 \pm 6,13$  лет. Анкета из 21 утверждения с пятибалльной шкалой Лайкерта была разбита на 4 конструкта: оценка текущей системы аттестации; отказ от аттестации; необходимость преобразований системы; направления преобразований. В результате было выявлено, что у респондентов с категорией, ученой степенью, состоящих в профсообществах, ведущих преподавательскую и научную деятельность, оценка текущей системы аттестации ниже ( $1,0 \leq Me \leq 1,8$  vs  $2,6 \leq Me \leq 3,0$ ;  $0,001 < p \leq 0,034$ ), согласие с необходимостью преобразований системы более выражено ( $1,0 \leq Me \leq 1,33$  vs  $2,7 \leq Me \leq 3,0$ ;  $0,001 < p \leq 0,013$ ), чем у респондентов без названных выше черт. Согласие с потребностью в изменениях выразили 71,9% респондентов, с отказом от аттестации — 1,6%. Корреляции стажа с баллами по конструктам не обнаружено ( $0,144 \leq r \leq 0,627$ ). Таким образом, при низкой оценке системы аттестации большинство врачей не хотят от нее отказываться, видя необходимость преобразований. На мнение врачей влияет уровень их профессионального развития.

**Ключевые слова:** аттестация, квалификационная категория, профессиональное развитие**Вклад авторов:** В. М. Мишарин — координация исследования, анализ и интерпретация данных, работа с литературой; А. В. Кочубей — идея, дизайн, статистический анализ, формулирование выводов, подготовка рукописи.✉ **Для корреспонденции:** Аделина Владимировна Кочубей  
Волоколамское шоссе, д. 91, г. Москва, 125371, Россия; kochoubeya@gmail.com**Статья получена:** 06.08.2023 **Статья принята к печати:** 20.09.2023 **Опубликована онлайн:** 29.09.2023**DOI:** 10.47183/mes.2023.035

## PILOT SURVEY OF PHYSICIANS ON THE SYSTEM OF ASSIGNING PROFESSIONAL GRADES

Misharin VM<sup>1</sup>, Kochubey AV<sup>2</sup>✉<sup>1</sup> Research Institute of Pulmonology of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia<sup>2</sup> Federal Scientific and Clinical Center of Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Stagnation of the institution of assigning professional grades (categorization) draws increasing attention to the study of the opinions of physicians aimed at understanding and addressing the issues of this system. The study was aimed to get an estimate of the categorization system, the need for and directions of its transformation from physicians. The study involved an absentee poll of 64 physicians. Among them 48.4% had professional grades, 42.2% had scientific degrees, 51.6% were members of professional communities, 45.3% were engaged in teaching, 48.4% published scientific research results, 26.6% presented the results of their work during scientific and practical events. The average work experience as a physician was  $13.8 \pm 6.13$  years. The questionnaire consisting of 21 statements with 5-point Likert scales was divided into four items: assessment of current categorization system; refusal of categorization; need to transform the system; directions of transformation. As a result, it was found that the respondents having professional grades, scientific degrees, who were members of professional communities engaged in teaching and scientific research, rated the existing categorization system lower ( $1.0 \leq Me \leq 1.8$  vs  $2.6 \leq Me \leq 3.0$ ;  $0.001 < p \leq 0.034$ ), they more often agreed that there was a need to transform the system ( $1.0 \leq Me \leq 1.33$  vs  $2.7 \leq Me \leq 3.0$ ;  $0.001 < p \leq 0.013$ ), than the respondents with no listed above traits. A total of 71.9% respondents agreed that there was a need for change, 1.6% agreed with the refusal of categorization. No correlation between work experience and the scores of items was revealed ( $0.144 \leq r \leq 0.627$ ). Thus, despite the fact that the categorization system was rated low, the majority of physicians don't want to abandon it seeing the need for transformation. The physicians' beliefs are affected by the levels of their professional development.

**Keywords:** categorization, professional grade, professional development**Author contribution:** Misharin VM — research coordination, data analysis and interpretation, literature review; Kochubey AV — concept, design, statistical analysis, conclusions, manuscript writing.✉ **Correspondence should be addressed:** Adelina V. Kochubey  
Volokolamskoye shosse, 91, Moscow, 125371, Russia; kochoubeya@gmail.com**Received:** 06.08.2023 **Accepted:** 20.09.2023 **Published online:** 29.09.2023**DOI:** 10.47183/mes.2023.035

Важность хорошо подготовленных кадров общественного здравоохранения широко признают и ценят [1]. Тот факт, что они представляют собой совокупность специалистов различных профилей, делает невозможным успешность единого подхода к их устойчивому развитию [2]. Национальные системы здравоохранения сталкиваются с серьезными проблемами по обеспечению объективности оценки компетентности кадров и результативности стимулов к постоянному профессиональному развитию специалистов [3].

В Российской Федерации оценку компетентности и стимулирование профессионального развития врачей призваны обеспечить институты аккредитации, присвоения квалификационных категорий (аттестации), внутренней аттестации на рабочем месте, независимой оценки квалификации и система непрерывного медицинского образования [4–6].

Несмотря на недостатки в работе аттестационных комиссий, система аттестации в советский период планомерно обеспечивала рост квалификации врачей

[7], но с начала 2000-х начали говорить о ее проблемах, обусловленных устаревшей законодательной базой и несовершенной методологией, отсутствием объективных критериев оценки квалификаций [8–11].

Несмотря на влияние законодательной базы и методологии, проблемы системы аттестации продолжают обсуждать и в настоящее время [12–15]. Авторы указывают на стагнацию и предполагают возможное исчезновение института аттестации из-за отсутствия материального стимулирования, трудовой и профессиональной мотивации у специалистов, безразличия и противодействия работодателей, появления новых институтов оценки квалификации, разрыва аттестации и системы непрерывного медицинского образования, несовершенства оценки дифференциации квалификационных категорий.

Пессимистические прогнозы небезосновательны: по данным Росстата, численность врачей с первой и высшей квалификационной категорией в России снизилась в 1,3 раза за 2009–2021 гг. [16].

Обозначенные проблемы, а также отсутствие исследований по изучению мнения врачей о системе аттестации в отечественной базе данных определили цель исследования: оценить текущее состояние системы присвоения квалификационных категорий врачам, а также необходимость и направления ее преобразований.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Разработка анкеты для заочного опроса

Сбор данных для настоящего исследования осуществляли методом заочного опроса врачей через сервис «Google Формы» ([https://docs.google.com/forms/d/1\\_-xyoo1NF3Ch0sIT8qhhZ3jyfWriqraKA2YIH9Gw7jE/viewform?edit\\_requested=true](https://docs.google.com/forms/d/1_-xyoo1NF3Ch0sIT8qhhZ3jyfWriqraKA2YIH9Gw7jE/viewform?edit_requested=true)). Просьбу пройти опрос со ссылкой на анкету отправили лицам, ранее проходившим обучение в Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. Критерии включения: профессия врача и стаж работы врачом от пяти лет. Критерии исключения: гражданство иной страны. Число респондентов определили в количестве 500, исходя из требований к исследованиям повышенной точности по методу К. А. Отдельновой и предположения о 20% отказов ( $500 = 400/(1-0,20)$ ) [17]. Опрос не требовал письменного согласия респондентов, так как участие в нем носило добровольный характер, а конфиденциальность гарантирована отсутствием данных о фамилии, имени и отчестве в анкете.

Представленные в настоящей статье результаты предварительны и основаны на анализе анкет, полученных от первых 64 респондентов, что соответствует выборке пилотного исследования по методу Отдельновой.

Используемая анкета разработана авторами статьи на основе обзора литературы о стратегии развития кадровых ресурсов общественного здравоохранения и проблемах института аттестации. Первая версия была проверена на фокус-группе в 17 человек для уточнения формулировок утверждений. Коэффициент  $\alpha$ -Кронбаха  $\geq 0,877$  характеризует хорошую внутреннюю согласованность конструкторов анкеты. Внутриклассовый коэффициент корреляции  $\geq 0,91$ , но  $\leq 0,97$  при  $p \leq 0,001$  указывает на ретестовую надежность анкеты. Она содержала две части:

а) справочную информацию о респонденте: стаж работы врачом, стаж работы по специальности, наличие квалификационной категории и ученой степени, членство в профессиональном медицинском сообществе

(профессиональные некоммерческие организации, создаваемые медицинскими и фармацевтическими работниками, их ассоциации и союзы), ведение в течение года, предшествующего опросу, преподавательской и научной деятельности с публикацией ее результатов, а также наличие выступлений на научно-практических мероприятиях по специальности. Данные параметры были выбраны как влияющие на профессиональное развитие врачей;

б) мнение врачей о системе присвоения квалификационных категорий (аттестации). Данная часть состояла из 21 утверждения с вариантами ответов по пятибалльной шкале Лайкерта: 1 — полностью не согласен, 2 — не согласен, 3 — 50/50, 4 — согласен, 5 — полностью согласен. Все утверждения были разбиты на четыре конструкта (K1, K2, K3, K4):

K1 — текущую систему аттестации рассматривали с точки зрения полноценности оценки уровня профессионального развития, обеспечения одинакового уровня объективности, беспристрастности и полноценности тестирования, отчетов, собеседования в оценке и демонстрации уровня квалификации аттестуемого, прозрачности и ясности порядка аттестации, влияния работодателя, трудностей заполнения документов, соответствия системы аттестации современным требованиям общественного здравоохранения;

K2 — отказ от системы аттестации оценивали по согласию респондентов с утверждением о ненужности системы присвоения квалификационных категорий врачам в современном общественном здравоохранении;

K3 — необходимость преобразований системы аттестации оценивали по отношению респондентов к устаревшим подходам ее построения исключительно на стимулировании (вознаграждение/наказание) врачей к получению категорий, оценке только уровня клинических знаний и навыков, ключевой роли государственных органов управления здравоохранением;

K4 — направления преобразований системы аттестации включали принципы профессионального развития врача в современном общественном здравоохранении: развитие и управление рабочими отношениями с коллегами; понимание врачом норм формального и неформального поведения, связанного с профессией; планирование профессиональной карьеры на протяжении всей жизни; вклад врача в развитие других специалистов, самой профессии и совокупность медицинских знаний; главенство мотива получения категории как самостоятельной ценности; признание профессиональным сообществом достижений врача; ключевая роль профессионального сообщества.

Пять баллов по конструктам K1, K4 показывали максимально позитивную оценку текущей системы и направлений ее преобразований, по K2 — согласие с отказом от системы аттестации, по K3 — несогласие с необходимостью преобразований системы. Напротив, один балл по конструктам K1, K4 показывал максимально негативную оценку текущей системы и направлений ее преобразований, по K2 — несогласие с отказом от системы аттестации, по K3 — согласие с необходимостью преобразований системы. Распределение переменных по утверждениям и конструктам не подчиняется нормальному ( $p \leq 0,001$ ).

### Характеристика респондентов

Из 64 врачей-респондентов 31 (48,4%) имеют квалификационную категорию, 27 (42,2%) — ученую степень,

Таблица. Медианы конструкторов и асимптотическая значимость критерия Манна–Уитни по группам респондентов

Группы	K1	K2	K3	K4
Категория	$p < 0,001$	$p = 0,023$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Да	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 5,0
Нет	Me = 3,0	Me = 2,0	Me = 2,67	Me = 3,29
Ученая степень	$p = 0,034$	$p = 0,227$	$p = 0,013$	$p = 0,010$
Да	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 5,0
Нет	Me = 2,60	Me = 2,0	Me = 2,67	Me = 3,57
Профсообщество	$p = 0,002$	$p = 0,131$	$p = 0,005$	$p = 0,002$
Состоит	Me = 1,8	Me = 1,0	Me = 1,33	Me = 4,57
Не состоит	Me = 3,0	Me = 2,0	Me = 3,0	Me = 3,29
Преподавательская деятельность	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Ведет	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 5,0
Не ведет	Me = 3,0	Me = 2,0	Me = 2,67	Me = 3,29
Публикация результатов научной работы	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Есть	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 5,0
Нет	Me = 3,0	Me = 2,0	Me = 2,67	Me = 3,29
Выступления на научно-практических мероприятиях	$p < 0,001$	$p = 0,003$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Есть	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 1,0	Me = 5,0
Нет	Me = 2,60	Me = 2,0	Me = 2,67	Me = 3,57

33 (51,6%) являются членами профессионального сообщества; в течение года, предшествующего опросу, 29 (45,3%) вели преподавательскую деятельность, 31 (48,4%) публиковали результаты собственных научных исследований, 17 (26,6%) представляли на профессиональных научно-практических мероприятиях результаты своей работы по специальности. Средний стаж работы врачом респондентов составил  $13,8 \pm 6,13$  лет, стаж по специальности —  $11,7 \pm 5,83$  лет. Распределение респондентов по стажу нормальное ( $p = 0,200$ ;  $p = 0,169$ ). Имеется значимая разница стажа у респондентов с категорией и без ( $t = -2,31$ ,  $p = 0,024$ ;  $t = 2,25$ ,  $p = 0,028$ ), являющихся и не являющихся членами профессионального сообщества ( $t = -2,90$ ,  $p = 0,005$ ;  $t = -3,45$ ,  $p = 0,01$ ). Нет значимой разницы стажа у респондентов с ученой степенью и без нее ( $t = 1,17$ ,  $p = 0,245$ ;  $t = 0,83$ ,  $p = 0,410$ ), ведущих и не ведущих преподавательскую деятельность ( $t = -1,03$ ,  $p = 0,305$ ;  $t = 1,45$ ,  $p = 0,153$ ), имеющих и не имеющих научные публикации ( $t = 1,18$ ,  $p = 0,244$ ;  $t = 1,51$ ,  $p = 0,137$ ) и опыт выступлений на научно-практических мероприятиях ( $t = 0,41$ ,  $p = 0,680$ ;  $t = 0,94$ ,  $p = 0,349$ ).

Для статистической обработки использовали программу SPSS, версия 23 (IBM Company; США). Были выполнены: вычисление средних, стандартных отклонений для переменных стажа работы врачом и по специальности, тест Стьюдента для сравнения стажа по группам, частотный анализ баллов по конструкторам, расчет критерия ранговой корреляции Спирмена для оценки связи стажа и баллов по конструкторам, расчет медиан каждого конструктора по группам, U-тест по методу Манна и Уитни для сравнения баллов конструкторов по группам.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Большинство (41 / 64%) респондентов не согласны, что существующая система аттестации соответствует современным требованиям общественного здравоохранения, полноценна для оценки уровня профессионального развития, обеспечивает одинаковый уровень объективности,

что тестирование, отчеты, собеседования непредвзяты и полноценны в оценке и демонстрации уровня квалификации врача, что порядок аттестации прозрачен и ясен, отсутствуют трудности заполнения документов и влияние работодателя. Большинство респондентов (46 / 71,9%) не согласны с устаревшими принципами построения системы аттестации, но при этом не желают (56 / 87,5%) отказаться от нее. Согласие со всеми новыми принципами построения системы аттестации выразили больше половины респондентов (35 / 54,7%). С необходимостью оценки развития и управления рабочими отношениями с коллегами в системе аттестации согласны 42 (65,6%) респондента; оценки понимания врачом норм формального и неформального поведения, связанного с профессией, — 56 (87,5%); оценки планирования профессиональной карьеры на протяжении всей жизни — 39 (60,9%); оценки вклада врача в развитие других специалистов, самой профессии и совокупность медицинских знаний — 39 (60,9%). С главенством мотива получения квалификационной категории как самостоятельной ценности для врача согласились 38 (59,4%) респондентов, главенством стимулирования — 15 (23,4%). С утверждением, что система аттестации должна отражать признание профессиональным сообществом достижений врача, согласились 56 (87,5%) респондентов. Большинство респондентов (42 / 65,6%) признали, что ключевая роль в современной системе присвоения квалификационных категорий врачам принадлежит профессиональному сообществу, а 4 (6,3%) — органам управления здравоохранением.

У респондентов с категорией, с ученой степенью, состоящих в профсообществах, ведущих преподавательскую деятельность, имеющих научные публикации и опыт выступлений на научно-практических мероприятиях, оценка текущей системы аттестации ниже ( $1,0 \leq Me \leq 1,8$  vs  $2,6 \leq Me \leq 3,0$ ;  $0,001 < p \leq 0,034$ ), согласие с необходимостью преобразований системы более выражено ( $1,0 \leq Me \leq 1,33$  vs  $2,7 \leq Me \leq 3,0$ ;  $0,001 < p \leq 0,013$ ), оценка новых принципов преобразований

выше ( $4,6 \leq Me \leq 5,0$  vs  $3,3 \leq Me \leq 3,6$ ;  $0,001 < p \leq 0,010$ ), чем у респондентов, не имеющих вышеназванных черт (см. табл.). Нет разницы в степени несогласия с отказом от системы аттестации (K2) среди групп респондентов, разделенных по наличию ученой степени и членству в профессиональных сообществах.

Нет выраженной значимой корреляции баллов по конструктам со стажем работы врачом (K1  $rS = 0,26$ ,  $p = 0,039$ ; K2  $rS = 0,06$ ,  $p = 0,627$ ; K3  $rS = 0,17$ ,  $p = 0,172$ ; K4  $rS = 0,19$ ,  $p = 0,144$ ) и стажем работы по специальности (K1  $rS = 0,28$ ,  $p = 0,028$ ; K2  $rS = 0,08$ ,  $p = 0,510$ ; K3  $rS = 0,19$ ,  $p = 0,133$ ; K4  $rS = 0,21$ ,  $p = 0,104$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Опрос показал, что большинство врачей видят недостатки системы присвоения квалификационных категорий, что соответствует данным литературы о проблемах существующей системы аттестации [12–15]. При этом было выявлено несовпадение предположений ряда авторов о бесполезности института аттестации с нежеланием подавляющего большинства врачей (87,5%) отказаться от этой системы [11]. Значительная часть респондентов отрицательно оценивает старые подходы существующей системы аттестации и положительно — новые принципы профессионального развития в современном общественном здравоохранении. По сути, результаты опроса говорят о желании профессионального сообщества изменить концептуальную модель аттестации. В пользу такого заключения свидетельствует наличие почти 88% респондентов, согласных с тем, что аттестация должна отражать признание профессиональным сообществом достижений врача.

Особый интерес вызывает согласие почти 60% опрошенных с утверждением, что современная система должна строиться на мотиве получения квалификационной категории как самостоятельной ценности для врача. Такой подход кардинально отличается от самого распространенного предложения — использовать стимулирование, чтобы решить проблему пренебрежения квалификационными категориями [12, 15]. Заметим, что построение системы аттестации на стимулировании поддерживает менее четверти респондентов (23,4%). При этом главенство мотива получения квалификационной категории как самостоятельной ценности почти у 60% респондентов подтверждает важность для врачей уважения, признания, самоактуализации через вклад в развитие других специалистов и самой профессии [18]. Обнаруженная меньшая значимость материального стимулирования для врачей нуждается в подтверждении в рамках опроса повышенной точности. В случае получения аналогичных результатов рациональным будет проведение

отдельного исследования по выявлению причин малой значимости материального стимулирования.

Несмотря на то что половина респондентов не состояла в профессиональных медицинских сообществах, почти 66% респондентов отдали им ключевую роль в современной системе аттестации и только 6,3% — органам управления здравоохранением. На наш взгляд, это подтверждает растущую роль профессионального сообщества в реализации развития врачей [19].

Отдельно следует обратить внимание на разницу оценок всех аспектов системы аттестации и ее преобразований респондентами, имеющими более высокий уровень профессионального развития по отдельным формальным признакам. Обнаруженная разница показывает, что такие респонденты ниже оценивают текущую систему аттестации ( $0,001 < p \leq 0,034$ ), у них более выражены ( $0,001 < p \leq 0,013$ ) согласие с необходимостью преобразований системы и положительная оценка новых принципов ( $0,001 < p \leq 0,010$ ). Отсутствие связи оценок со стажем респондентов можно объяснить тем, что стаж не всегда является критерием профессионального развития врача [20, 21].

## Ограничение исследования

Данное исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, малое количество респондентов, соответствующее критериям пилотного опроса, но позволяющее сделать предварительные выводы о целесообразности исследования повышенной точности. Данное ограничение будет устранено при продолжении работы. Во-вторых, предвзятость опрошенных к системе присвоения квалификационных категорий, которая могла повлиять на оценку респондентов и даже стать причиной отказа от опроса, что также исказило общую картину. В-третьих, в выборке большей была доля лиц с категорией, ученой степенью, ведущих преподавательскую и научную деятельность, чем в генеральной совокупности. Данное ограничение было частично устранено разделением респондентов на группы. Полностью исправить это возможно увеличением выборки до размера, соответствующего исследованиям повышенной точности.

## Выводы

Несмотря на низкую оценку текущей системы аттестации, подавляющее большинство врачей не хотят от нее отказываться, но видят необходимость преобразований в соответствии с принципами профессионального развития врача в современном общественном здравоохранении. На мнение врачей о системе аттестации и ее преобразованиях влияет уровень их профессионального развития.

## Литература

- Cioffi JP, Lichtveld MY, Thielen L, Miner K. Credentialing the public health workforce: an idea whose time has come. *J Public Health Manag Pract.* 2003; 9 (6): 451–8. DOI: 10.1097/00124784-200311000-00004. PMID: 14606183.
- Gershuni O, Czabanowska K, Burazeri G, Cichowska Myrup A, Von Krauss MK. Is there a golden recipe? A scoping review of public health workforce development. *Eur J Public Health.* 2019; 29 (3): 401–8. DOI: 10.1093/eurpub/cky247. PMID: 30508074.
- Ayivi-Vinzi G, Bakwa Kanyinga F, Bergeron L, Décaré S, Adisso ÉL, Zomahoun HTV, et al. Use of the CPD-REACTION Questionnaire to Evaluate Continuing Professional Development Activities for Health Professionals: Systematic Review. *JMIR Med Educ.* 2022; 8 (2): e36948. DOI: 10.2196/36948. PMID: 35318188; PMCID: PMC9112082.
- Федеральный закон от 21.11.2011 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан Российской Федерации».

5. «Трудовой кодекс Российской Федерации» от 30.12.2001 №197-ФЗ.
6. Федеральный закон от 03.07.2016 238-ФЗ «О независимой оценке квалификации».
7. Приказ Министерства здравоохранения СССР от 14 июля 1970 г. N 472 «Об аттестации врачей-специалистов».
8. Филиппов Ю. Н., Абаева О. П., Разгулин С. А. Современные проблемы реализации права специалистов здравоохранения на прохождение аттестации для получения квалификационной категории. Медицинский альманах. 2008; 2: 14–6.
9. Абаков С. И., Вагнер В. Д., Сорокин Д. В., Абакова Д. С. О необходимости реорганизации системы аттестации врачей-стоматологов. Институт стоматологии. 2012; 54 (1): 18–21.
10. Островская И. В., Хан Н. В. К вопросу о профессиональной оценке квалификации сестринского персонала. Медицинская сестра. 2012; 1: 31–5.
11. Батюков Н. М., Касумова М. К., Шпилев Д. И., Янченко В. М. Управление качеством клинической работы врачей-стоматологов через внутрифирменную аттестацию в рамках корпоративной системы стандартизации. 2015; 1 (66): 12–5.
12. Коленикова О. А., Токсанбаева М. С. Проблемы системности институтов оценки квалификации медицинских специалистов. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2022; 30 (s1): 1027–32. DOI: 10.32687/0869-866X-2022-30-s1-.
13. Шишкин С. В., Темницкий А. Л. Роль аттестации медицинских работников в повышении трудовой мотивации. Вопросы государственного и муниципального управления. 2019; 2: 141–67.
14. Базетова А. А. Проблемы аттестации медицинских работников и пути их решения. Научный альманах. 2022; 2–2 (88): 47–50.
15. Коленикова О. А., Токсанбаева М. С. Оценка квалификации медицинских специалистов в аспекте развития непрерывного медицинского образования. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2021; 29 (спецвыпуск): 1318–23. DOI: 10.32687/0869-866X-2021-29-s2-1318-1323.
16. РосСтат (Федеральная служба государственной статистики). Численность медицинских кадров, имеющих высшую и первую квалификационные категории (дата обращения 07.08.2023). Доступно по ссылке: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>.
17. Отдельнова К. А. Определение необходимого числа наблюдений в социально-гигиенических исследованиях. Сб. трудов 2-го ММИ. 1980; 150 (6): 18–22.
18. Maslow AH. Motivation and Personality. N. Y.: Harpaer and Row, 1954.
19. Полушин Ю. С., Шаповалов К. Г., Зарипова З. А. Роль профессиональных сообществ в подготовке к процедуре аккредитации: первые шаги. Виртуальные технологии в медицине. 2017; 2 (18): 7.
20. Manturova NE, Kochubey VV, Kochubey AV. The competence of plastic surgeons. Bulletin of RSMU. 2018; 2: 63–7. DOI: 10.24075/brsmu.2018.023.
21. Dunivin Z, Zadunayski L, Baskota U, Siek K, Mankoff J. Gender, Soft Skills, and Patient Experience in Online Physician Reviews: A Large-Scale Text Analysis. J Med Internet Res. 2020; 22 (7): e14455. DOI: 10.2196/14455.

## References

1. Cioffi JP, Lichtveld MY, Thielen L, Miner K. Credentialing the public health workforce: an idea whose time has come. J Public Health Manag Pract. 2003; 9 (6): 451–8. DOI: 10.1097/00124784-200311000-00004. PMID: 14606183.
2. Gershuni O, Czabanowska K, Burazeri G, Cichowska Myrup A, Von Krauss MK. Is there a golden recipe? A scoping review of public health workforce development. Eur J Public Health. 2019; 29 (3): 401–8. DOI: 10.1093/eurpub/cky247. PMID: 30508074.
3. Ayivi-Vinz G, Bakwa Kanyinga F, Bergeron L, Décary S, Adisso ÉL, Zomahoun HTV, et al. Use of the CPD-REACTION Questionnaire to Evaluate Continuing Professional Development Activities for Health Professionals: Systematic Review. JMIR Med Educ. 2022; 8 (2): e36948. DOI: 10.2196/36948. PMID: 35318188; PMCID: PMC9112082.
4. Federal'nyj zakon ot 21.11.2011 #323-FZ «Ob osnovah ohrany zdorov'ya grazhdan Rossijskoj Federacii». Russian.
5. «Трудовой кодекс Российской Федерации» от 30.12.2001 #197-FZ. Russian.
6. Federal'nyj zakon ot 03.07.2016 238-FZ «O nezavisimoy ocenke kvalifikacii». Russian.
7. Prikaz Ministerstva zdravooohraneniya SSSR ot 14 iyulya 1970 g. N 472 «Ob attestacii vrachej-specialistov». Russian.
8. Filippov YuN, Aباeva OP, Razgulín SA. Sovremennye problemy realizacii prava specialistov zdravooohraneniya na prohozhdenie attestacii dlya polucheniya kvalifikacionnoj kategorii. Medicinskij al'manah. 2008; 2: 14–6. Russian.
9. Abakov SI, Vagner VD, Sorokin DV, Abakova DS. O neobhodimosti reorganizacii sistemy attestacii vrachej-stomatologov. Institut stomatologii. 2012; 54 (1): 18–21. Russian.
10. Ostrovskaya IV, Han NV. K voprosu o professional'noj ocenke kvalifikacii sestrińskogo personala. Medicinskaya sestra. 2012; 1: 31–5. Russian.
11. Batyukov NM, Kasumova MK, Shpilev DI, Yanchenko VM. Upravlenie kachestvom klinicheskoj raboty vrachej-stomatologov cherez vnutfirifmennuyu attestaciyu v ramkah korporativnoj sistemy standartizacii. 2015; 1 (66): 12–5. Russian.
12. Kolennikova OA, Toksanbaeva MS. Problemy sistemnosti institutov ocenki kvalifikacii medicinskih specialistov. Problemy social'noj gigieny, zdravooohraneniya i istorii mediciny. 2022; 30 (s1): 1027–32. DOI: 10.32687/0869-866X-2022-30-s1-.
13. Shishkin SV, Temnickij AL. Rol' attestacii medicinskih rabotnikov v povyshenii trudovoj motivacii. Voprosy gosudarstvennogo i municipal'nogo upravleniya. 2019; 2: 141–67. Russian.
14. Bazetova AA. Problemy attestacii medicinskih rabotnikov i puti ih resheniya. Nauchnyj al'manah. 2022; 2–2 (88): 47–50. Russian.
15. Kolennikova OA, Toksanbaeva MS. Ocenka kvalifikacii medicinskih specialistov v aspekte razvitiya nepreryvnogo medicinskogo obrazovaniya. Problemy social'noj gigieny, zdravooohraneniya i istorii mediciny. 2021; 29 (specvypusk): 1318–23. DOI: 10.32687/0869-866X-2021-29-s2-1318-1323. Russian.
16. RosStat (Federal'naya sluzhba gosudarstvennoj statistiki). Chislennost' medicinskih kadrov, imeyushhij vysshuyu i pervuyu kvalifikacionnye kategorii (data obrashheniya 07.08.2023). Dostupno po ssylke: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>. Russian.
17. Otdelnova KA. Opredelenie neobhodimogo chisla nablyudenij v social'no-gigienicheskih issledovaniyah. Sb. trudov 2-go MMI. 1980; 150 (6): 18–22. Russian.
18. Maslow AH. Motivation and Personality. N. Y.: Harpaer and Row, 1954.
19. Polushin YuS, Shapovalov KG, Zaripova ZA. Rol' professional'nyh soobshhestv v podgotovke k procedure akkreditacii: pervye shagi. Virtual'nye tehnologii v medicene. 2017; 2 (18): 7. Russian.
20. Manturova NE, Kochubey VV, Kochubey AV. The competence of plastic surgeons. Bulletin of RSMU. 2018; 2: 63–7. DOI: 10.24075/brsmu.2018.023.
21. Dunivin Z, Zadunayski L, Baskota U, Siek K, Mankoff J. Gender, Soft Skills, and Patient Experience in Online Physician Reviews: A Large-Scale Text Analysis. J Med Internet Res. 2020; 22 (7): e14455. DOI: 10.2196/14455.