

том 20, номер 2, 2023



Международный научно-теоретический и прикладной журнал, отражающий фундаментальные и прикладные проблемы наук о жизни (биомедицинские технологии, биоматериаловедение) и результаты исследований на стыке биологии, медицины, химии и других естественных, гуманитарных и точных наук с междисциплинарных позиций

Журнал включен в Перечень ВАК

Главный редактор
Армаис Альбертович
Камалов –
акад. РАН,
МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова
(Москва, Россия)

Заместители главного редактора:

Архипенко Юрий Владимирович – д.б.н., профессор,
МГУ им. М.В. Ломоносова
(Москва, Россия)

Мацкеплишвили Симон Теймуразович – чл.-корр. РАН,
МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова
(Москва, Россия)

Розанов Владимир Викторович – д.б.н., профессор,
МГУ им. М.В. Ломоносова
(Москва, Россия)

Ответственный секретарь:

Самоходская Лариса Михайловна – к.м.н., доцент, МГУ
им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

- Арчаков Александр Иванович – акад. РАН, Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича (Москва, Россия)
 Буравкова Людмила Борисовна – чл.-корр. РАН, ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН (Москва, Россия)
 Быков Валерий Алексеевич – акад. РАН, НПО «ВИЛАР» (Москва, Россия)
 Варфоломеев Сергей Дмитриевич – чл.-корр. РАН, Институт физико-химических основ функционирования сетей нейронов и искусственного интеллекта МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Владимиров Юрий Андреевич – акад. РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Колесников Сергей Иванович – акад. РАН, РАН (Москва, Россия)
 Кубышкин Валерий Алексеевич – акад. РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Ткачук Всеволод Арсеньевич – акад. РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Тутельян Виктор Александрович – акад. РАН, ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи» (Москва, Россия)
 Ушаков Игорь Борисович – акад. РАН, Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

- Акопян Владимир Сергеевич – д.м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Акопян Жанна Алексеевна – к.м.н., МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Александров Владимир Васильевич – д.ф.-м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Гончарова Анна Георгиевна – д.м.н., ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН (Москва, Россия)
 Дорохин Александр Иванович – д.м.н., НМИЦ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова (Москва, Россия)
 Кушлинский Николай Евгеньевич – акад. РАН, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (Москва, Россия)
 Мареев Вячеслав Юрьевич – д.м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Матвеев Всеволод Борисович – чл.-корр. РАН, проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Матвейчук Игорь Васильевич – д.б.н., проф., Научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий (Москва, Россия)
 Орлова Яна Артуровна – д.м.н., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Павликова Елена Петровна – д.м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Панина Ольга Борисовна – д.м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Парфенова Елена Викторовна – д.м.н., проф., НМИЦ кардиологии (Москва, Россия)
 Пирогов Юрий Андреевич – д.ф.-м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Северин Александр Евгеньевич – д.м.н., проф., РУДН (Москва, Россия)
 Синицин Валентин Евгеньевич – д.м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Твердислов Всеволод Александрович – д.ф.-м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)
 Цыганов Дмитрий Иванович – д.т.н., проф., ФГБОУ ДГПО РМАНПО Минздрава России (Москва, Россия)
 Черняев Александр Петрович – д.ф.-м.н., проф., МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия)

Содержание

Галектины: характеристика, роль в патогенезе, клиническом течении и прогнозе заболеваний <i>Зыбина Н.Н., Тихомирова О.В., Куликова Е.А., Прищеп П.Л., Кушлинский Н.Е.</i>	5
Биомаркеры как инструмент медико-биологического мониторинга и контроля (Обзор литературы. Часть 1) <i>Тихонова Г.А., Котов О.В., Маркин А.А.</i>	18
Принципиальная возможность объективной регистрации психической деятельности мозга человека на основе вейвлетного анализа электроэнцефалограммы <i>Юматов Е.А., Сушкова Л.Т.</i>	27
Возможности дифференциальной диагностики болезни Паркинсона с помощью кластеризационных методов <i>Туценко К.О., Наркевич А.Н., Абрамов В.Г.</i>	34
Химическая модификация противомикробных комплексов органическими молекулами с целью получения смешанно-лигандных антирезистентных агентов <i>Плотникова Ю.А., Барышева Е.С., Пешков С.А.</i>	42
Влияние условий культивирования <i>Aspergillus fumigatus</i> на секрецию коллагенолитических протеаз <i>Никитина З.К., Насибов Э.М., Гордонова И.К., Савин П.С.</i>	53
Оценка качества жизни пациентов в зависимости от пола и срока проведения реконструкции передней крестообразной связки <i>Радыш И.И., Журавлёв С.В., Круглянская Е.И., Васильченко Н.В.</i>	63
Изучение влияния пептидов продуктов пчеловодства на активность пептидил-дипептидазы А в сыворотке крови и нервной ткани крыс в условиях хронического стресса <i>Клыченков С.В., Кручинина А.Д.</i>	73



v. 20, № 2, 2023

Technologies of Living Systems/ Tekhnologii zhivyykh sistem

 International scientific theoretical and practical journal elucidating fundamental and applied problems of life sciences

Editor-in-Chief

**Armais Albertovich
Kamalov – Academician
of RAS, MREC of Lomonosov
Moscow State University
(Moscow, Russia)**

**Deputy of the Chapter
of the Editor:**

**Archipenko Yuri Vladimirovich –
Dr.Sc. (Biol.), Prof.,
Lomonosov Moscow
State University
(Moscow, Russia)**

**Matskeplishvili Simon Tejmurasowitsch –
Corresponding Member of RAS,
MREC of Lomonosov Moscow
State University
(Moscow, Russia)**

**Rozanov Vladimir Viktorovich –
Dr. Sc. (Biol.), Prof.,
Lomonosov Moscow
State University
(Moscow, Russia)**

Responsible secretary:

**Samokhodskaya Larisa Mikhaelovna –
Ph.D. (Med.), Associate Prof.,
Lomonosov Moscow State
University (Moscow, Russia)**

EDITORIAL COUNCIL

- Archakov Alexander Ivanovich – Academician of RAS, Institute of Biomedical Chemistry
n.a. V.N. Orekhovich (Moscow, Russia)
- Buravkova Lyudmila Borisovna – Corresponding Member of RAS, Institute of Biomedical Problems
of RAS (Moscow, Russia)
- Bykov Valery Alekseyevich – Academician of RAS, All-Russian Research Institute of Medicinal
and Aromatic Plants (Moscow, Russia)
- Varfolomeyev Sergey Dmitrievich – Corresponding Member of RAS,
Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia)
- Vladimirov Yuri Andreevich – Academician of RAS, Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia)
- Kolesnikov Sergey Ivanovich – Academician of RAS, RAS (Moscow, Russia)
- Kubyshkin Valery Alekseyevich – Academician of RAS,
Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia)
- Tkachuk Vsevolod Arsenyevich – Academician of RAS, Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Tutelyan Victor Aleksandrovich – Academician of RAS, Federal Research Center for Nutrition,
Biotechnology and Food Safety (Moscow, Russia)
- Ushakov Igor Borisovich – Academician of RAS, A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center
(Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

- Akopyan Vladimir Sergeevich – Dr.Sc. (Med.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Akopyan Zhanna Alekseevna – Ph. D. (Med.), MREC of Lomonosov Moscow State University (Moscow,
Russia)
- Alexandrov Vladimir Vasilyevich – Dr. Sc. (Phys.-Math.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Dorohin Aleksandr Ivanovich – Dr.Sc. (Med.), N.N. Priorov National Medical Research Center
for Traumatology and Orthopedics (Moscow, Russia)
- Goncharova Anna Georgievna – Dr.Sc. (Med.), Institute of Biomedical Problems of RAS (Moscow, Russia)
- Kushlinskii Nikolay Evgenyevich – Academician of RAS, National Medical Research Center
of Oncology named after N. N. Blokhin (Moscow, Russia)
- Mareev Vyacheslav Yuryevich – Dr.Sc. (Med.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Matveev Vsevolod Borisovich – Member Corresponding of RAS, Prof., Lomonosov Moscow State
University (Moscow, Russia)
- Matveychuk Igor Vasilyevich – Dr. Sc. (Biol.), Prof., Research and Study Center for Biomedical
Technologies (Moscow, Russia)
- Orlova Yana Arturovna – Dr.Sc. (Med.), Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia)
- Pavlikova Elena Petrovna – Dr.Sc. (Med.), Prof., Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia)
- Panina Olga Borisovna – Dr.Sc. (Med.), Prof., Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia)
- Parfyonova Elena Viktorovna – Dr.Sc. (Med.), Prof., National Medical Research Center for Cardiology
- Pirogov Yuri Andreevich – Dr. Sc. (Phys.-Math.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Severin Alexander Evgenyevich – Dr.Sc. (Med.), Prof., Peoples' Friendship University of Russia
(Moscow, Russia)
- Sinitsyn Valentin Evgenyevich – Dr.Sc. (Med.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Tverdislov Vsevolod Aleksandrovich – Dr. Sc. (Phys.-Math.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)
- Tsyganov Dmitry Ivanovich – Dr.Sc.(Eng.), Prof., Russian Medical Academy continuing vocational
education (Moscow, Russia)
- Chernyaev Alexander Petrovich – Dr. Sc. (Phys.-Math.), Prof., Lomonosov Moscow State University
(Moscow, Russia)

Contents

Galectins: characteristics, role in pathogenesis, clinical course and prognosis of diseases <i>Zybina N.N., Tikhomirova O.V., Kulikova E.A., Prischep P.L., Kushlinskii N.E.</i>	15
Biomarkers in the practice of biology and medicine (Literature review. Part 1) <i>Tikhonova G.A., Kotov O.V., Markin A.A.</i>	25
The principal possibility of objective registration of the mental activity of the human brain on the basis of electroencephalogram wavelet analysis <i>Yumatov E.A., Sushkova L.T.</i>	32
Possibilities of differential diagnosis of Parkinson's disease using clustering methods <i>Tutsenko K.O., Narkevich A.N., Abramov V.G.</i>	40
Chemical modification of antimicrobial complexes with organic molecules in order to obtain mixed ligand anti-resistant agents <i>Plotnikova Y.A., Barysheva E.S., Peshkov S.A.</i>	51
Effect of cultivation conditions of <i>Aspergillus fumigatus</i> on the collagenolytic proteases secretion <i>Nikitina Z.K., Nasibov E.M., Gordonova I.K., Savin P.S.</i>	61
Assessment of the quality of life in patients depending on gender and timing of the anterior cruciate ligament reconstruction <i>Radysh I.I., Zhuravlev S.V., Kruglyanskaya E.I., Vasilchenko N.V.</i>	71
Effect of bee products peptides on the activity of peptidyl-dipeptidase A in the blood serum and nervous tissue of rats under chronic stress <i>Klychenkov S.V., Kruchinina A.D.</i>	79



Все статьи, представленные в данном выпуске журнала, соответствуют номенклатуре специальностей научных работников (Приказ Минобрнауки РФ от 23.10.2017 № 1027).

Учредитель ООО Издательство Радиотехника. Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-76557 от 9 августа 2019 г.

Подписано в печать 25.05.2023. Формат 60×88 1/8. Бумага офсетная.

Печ.л. 10,25. Тираж 500 экз. Изд. № 80.

ООО «Издательство «Радиотехника»: 107031, Москва, К-31, Кузнецкий мост, д. 20/6. Тел./факс: +7(495)625-92-41.

107031, Russian Federation, Moscow, Kuznetsky Most, 20/6, tel./fax +7(495)625-92-41.

[Http://www.radiotec.ru](http://www.radiotec.ru)

E-mail: info@radiotec.ru

Дизайн и допечатная подготовка ООО «САЙНС-ПРЕСС».

Отпечатано с предоставленных готовых файлов в типографии ООО «Паблит».

127282, Москва, ул. Поляная, д. 31В, стр. 1. Тел.: (495) 230-20-52.

Заказ №

ISSN 2070-0997

© ООО «Издательство «Радиотехника», 2023 г.

Незаконное тиражирование и перевод печатного материала, включенного в журнал, в электронном и любом другом виде запрещено и карается административной и уголовной ответственностью по закону РФ «Об авторском праве и смежных правах»

Поздравляем

*члена редколлегии журнала
«Технологии живых систем» –
доктора физ.-мат. наук, профессора*

Юрия Андреевича Пирогова

*с присвоением ему почетного звания
«Заслуженный профессор
Московского университета»!*

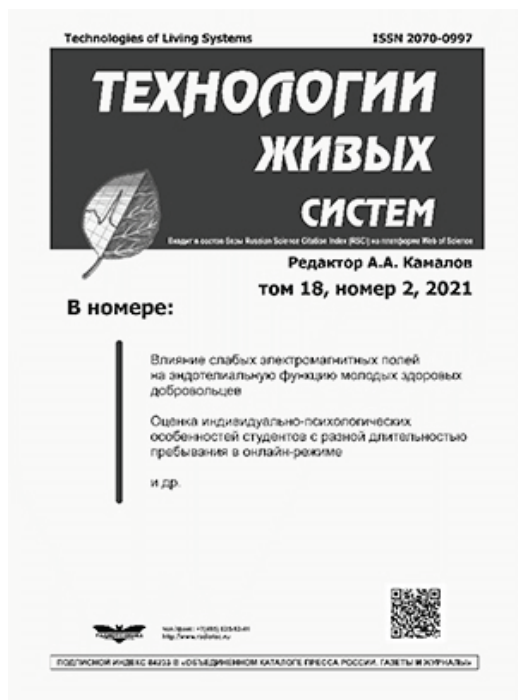


Журнал «ТЕХНОЛОГИИ ЖИВЫХ СИСТЕМ»

Главный редактор: академик РАН Армаис Альбертович Камалов

Международный научно-теоретический и прикладной журнал. В журнале отражаются прикладные проблемы наук о жизни, биологических технологий, биоматериаловедения и исследования на стыке биологии, медицины, физики, химии, математики, других естественных и гуманитарных наук с междисциплинарных позиций.

Редакция журнала приглашает к сотрудничеству. В журнале публикуются статьи по следующим направлениям:



- Проблемы биобезопасности и биоэтики
- Системы жизнеобеспечения и защиты человека
- Трансплантология и биопротезирование
- Клеточные биотехнологии
- Средообразующие технологии
- Генодиагностика и генотерапия
- Биотехнологии лекарственных средств и пищевых добавок
- Биоинженерия и биоинформатика
- Протеомика в медицине и биотехнологии
- Биоматериаловедение
- Микробиология и сельскохозяйственные биотехнологии
- Вопросы подготовки кадров
- Инновационные технологии

Включен в состав базы Russian Science Citation Index (RSCI) на платформе Web of Science.

Включен в Перечень ВАК для научных периодических изданий, удовлетворяющих достаточному условию включения в Перечень

Периодичность: 4 номера в год
ISSN: 2070-0997

«Пресса России» – индекс: 11817
Выходит с 2004 г.

Научные специальности ВАК:

- 1.5.2. Биофизика
- 1.5.4. Биохимия
- 1.5.5. Физиология человека и животных
- 1.5.6. Биотехнология
- 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика
- 1.5.22. Клеточная биология
- 1.5.23. Биология развития, эмбриология
- 1.5.24. Нейробиология
- 3.3.1. Анатомия человека
- 3.3.2. Патологическая анатомия
- 3.3.3. Патологическая физиология
- 3.3.5. Судебная медицина
- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология
- 3.3.7. Авиационная, космическая и морская медицина
- 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Подписаться на журналы, выпускаемые Издательством «Радиотехника» (см. 4-ю сторону обложки), можно с любого месяца и на любой срок непосредственно в Издательстве.

Адрес Издательства:

107031, г. Москва, К-31, Кузнецкий мост, д. 20/6,
тел./факс: (495) 625-78-72, 621-48-37, 625-92-41
<http://www.radiotec.ru>, e-mail: info@radiotec.ru

Обзорная статья
УДК 616-006-037-074-092:577.112:577.21
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-01>

Галектины: характеристика, роль в патогенезе, клиническом течении и прогнозе заболеваний

Н.Н. Зыбина¹, О.В. Тихомирова², Е.А. Куликова³, П.Л. Прищеп⁴, Н.Е. Кушлинский⁵

¹⁻³ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова»
МЧС России (Санкт-Петербург, Россия)

^{4,5} ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России (Москва, Россия)

¹ zybinan@inbox.ru, ² olvitikhomirova@gmail.com, ³ e.a-kulikova@mail.ru,

⁴ Paulig92@mail.ru, ⁵ kne3108@gmail.com

Аннотация

Постановка проблемы. Исследования последнего времени демонстрируют возможности галактозид-связывающих белков – галектинов как биомаркеров патологических процессов. Наибольший интерес в этом плане представляет галектин-3, высокие уровни которого ассоциированы с развитием фиброза при хронической сердечной недостаточности и, предположительно, могут быть использованы для стратификации риска пациентов с инфарктом миокарда. Вместе с тем, многие эффекты галектинов остаются не изученными и требуют системного анализа.

Цель работы – анализ данных современной литературы о роли галектинов различных классов в реализации фундаментальных механизмов клеточных функций и межклеточных взаимодействий при различных патологических состояниях и заболеваниях.

Результаты. Приведены данные о структуре и классификации семейства галектинов, их роли в активации, секреции цитокинов, клеточной миграции, пролиферации и апоптоза, а также во взаимодействии с межклеточным матриксом. Рассмотрены многообразные функции галектинов, которые обуславливают интерес исследователей к выявлению роли галектинов в патогенезе различных заболеваний и патологических состояний.

Практическая значимость. Выявление конкретных механизмов вовлечения галектинов в патогенез заболеваний, определение их диагностической и прогностической значимости может стать основой для их использования в качестве биомаркеров патологических процессов и мишени для терапевтического воздействия.

Ключевые слова

Галектин, галактозид-связывающий лектин, фиброз, сердечно-сосудистые заболевания

Для цитирования

Зыбина Н.Н., Тихомирова О.В., Куликова Е.А., Прищеп П.Л., Кушлинский Н.Е. Галектины: характеристика, роль в патогенезе, клиническом течении и прогнозе заболеваний // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 5–17. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-01>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Изучение группы белков, известных сегодня как *галектины*, началось в 1975 г. В то время они получили название электролектины, так как были выделены из органов угря, генерирующих электрические разряды. В последующие годы более 7 000 публикаций было посвящено исследованию биологии и патофизиологии белков семейства галектинов [1]. Галактозид-связывающие лектины были обнаружены и выделены из различных органов и тканей человека; в настоящее время активно обсуждается их роль в патогенезе многих заболеваний.

Галектины могут осуществлять свою основную функцию специфических галактозид-связывающих лектинов как внутри- так и внеклеточно, выступая в качестве триггера активации секреции цитокинов, клеточной миграции, пролиферации и апоптоза. Внеклеточно галектины обеспечивают межклеточное взаимодействие и связь клеток с межклеточным матриксом. Связывание галектинов с гликанами (олигосахаридами) на внутриклеточной поверхности мембраны обеспечивает их участие в сшивании макромолекул и формировании сигнальных путей. Кроме того, галектины внутриклеточно способны взаимодействовать с цитоплазматическими и ядерными белками на основе механизма, не связанного с углеводами, регулируя таким образом пути сигнальной трансдукции [2].

На сегодняшний день идентифицировано 15 различных типов галектинов, полипептидная цепь которых содержит консервативный участок размером в 130 аминокислот, являющийся углевод-распознающим доменом (carbohydrate-recognition domain, CRD). Три известных типа галектинов различаются количеством таких доменов в молекуле белка. Галектины -1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 и -15 содержат один CRD и относятся к прототипическому типу (prototypical). Тандем-повторяющийся тип (tandem-repeat) с двумя CRD характерен для галектинов -4, -6, -8, -9, -12. К химерическому типу относят только галектин-3, который содержит необычным способом соединенный повторяющийся тандем CRD и N-терминальный не лектиновый домен, участвующий в мультимеризации белков. Галектины различных типов имеют во многом сходную структуру, но могут существенно различаться по локализации и функциям.

Среди семейства галектинов наибольший интерес представляет химерный галектин-3, который участвует во многих фундаментальных молекулярных и клеточных процессах, таких как пролиферация, апоптоз, дифференциация, иммунные и воспалительные реакции, что служит основанием его изучения как перспективного биомаркера при самых различных патологических состояниях и заболеваниях [64, 65].

Многообразные функции галектинов обуславливают интерес исследователей к выявлению их роли в патогенезе различных заболеваний.

В литературе представлены данные об участии галектинов различных типов в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, которые обобщены в обзоре N.V. van der Hoeven et al. в 2016 г. [3]. Практически все галектины вовлечены в механизмы ангиогенеза, но не все из них имеют отношение к ангиогенезу при кардиальной патологии. Следует отметить, что большая часть работ по установлению роли галектинов в ангиогенезе выполнена в экспериментах и опухолевых модельных системах. Так, например, галектин-1 способствует росту новых сосудов в процессе ангиогенеза посредством сплайсинга и транспорта мРНК [4]. Высокий уровень экспрессии галектина-1 в клетках опухоли стимулирует пролиферацию и миграцию активированных эндотелиальных клеток путем связывания нейропилина-1 (neuropilin-1), который является ко-рецептором VEGFR-2. В экспериментах на «нокаутированных» по галектину-1 мышцах опухолевый ангиогенез замедлялся. Галектин-1 защищает эндотелиальные клетки от апоптоза, активированного при ангиогенезе, связываясь с CD146.

В отношении галектина-7 получены противоречивые результаты, касающиеся его влияния на снижение активности ангиогенеза и ограничение роста опухоли в эксперименте посредством повышения экспрессии металлопротеиназы-9 (ММП-9).

Двойственный эффект на рост сосудов оказывает и галектин-9, который может как ускорять, так и замедлять процесс ангиогенеза [5]. Также показано участие галектинов -3, -4 и -8 в стимуляции ангиогенеза при опухолевом росте в эксперименте на основе различных механизмов.

При кардиальной патологии стимуляция ангиогенеза может иметь положительный эффект, позволяя уменьшить степень ишемических повреждений. Однако ангиогенез может также способствовать прогрессированию атеросклеротических повреждений и влиять на нестабильность атеросклеротической бляшки. Галектин-1 обладает способностью связывать липопротеин-а, что приводит к его накоплению в эндотелии и атеросклеротическому повреждению сосудов [6]. Кроме этого галектины влияют на накопление холестерина и превращение макрофагов в пенистые клетки [7]. В связи с этими эффектами некоторые галектины, такие как -2, -3, -9, считаются проатерогенными.

Участие галектина-3 во многих фундаментальных молекулярных и клеточных процессах, таких как пролиферация, апоптоз, дифференциация, иммунные и воспалительные реакции служит основанием его изучения как перспективного биомаркера при самых разных патологических состояниях и заболеваниях [25, 64].

Процесс ангиогенеза, который считается наиболее эффективным механизмом восстановления тканевой перфузии, не связан с развитием атеросклероза. У пациентов с патологией коронарных артерий при сниженном уровне формирования анастомозов выявлена повышенная экспрессия галектина-2, что формирует основу для использования в терапии таких пациентов ингибиторов галектина-2 [9].

Галектины -1, -3, -4, -9 также участвуют в процессах ангиогенеза, оказывая существенное влияние на функцию моноцитов. Так, галектин-1 обладает сильным влиянием на клеточную адгезию и миграцию моноцитов [10].

Другой механизм влияния на миграцию моноцитов лежит в основе действия галектина-3, который выступает в роли хемоаттрактанта [7].

Связывание моноцитов и макрофагов с галектином-4 приводит к секреции TNF- α и IL-10, что может быть ассоциировано с активацией ангиогенеза [6].

Ингибирование Th1 иммунного ответа галектином-9 свидетельствует о его положительном влиянии на процесс ангиогенеза. В экспериментальных исследованиях и модельных опытах на культурах тканей показано модулирующее влияние галектинов на гладкомышечные клетки сосудов [11].

Известно, что галектин-1 выполняет защитную роль при ремоделировании миокарда, а галектин-3 может выступать в роли предиктора и маркера тяжести сердечной недостаточности (СН), благодаря их способности инициировать инфильтрацию миокарда макрофагами и тучными клетками, а также пролиферацию фибробластов [12].

Ц е л ь р а б о т ы – анализ данных современной литературы о роли галектинов различных классов в реализации фундаментальных механизмов клеточных функций и межклеточных взаимодействий при различных патологических состояниях и заболеваниях.

Галектины в физиологических и патологических процессах центральной нервной системы

Способность галектинов -1 и -3 стимулировать ангиогенез и нейрогенез свидетельствует об их положительном влиянии на процессы восстановления клеток головного мозга после ишемического инсульта [13].

В одном из последних обзоров [14] суммированы текущие представления о роли галектинов в физиологических и патологических процессах центральной нервной системы (ЦНС). Экспрессия галектинов выявлена как в нейронах, так и в клетках глии. В регуляции функций клеток головного мозга участвуют галектины -1, -3, -4, -9, которые выявляются в различных клетках нервной ткани и в зависимости от локализации осуществляют свои специфические функции.

Активно изучается роль галектинов в развитии деменции и когнитивных расстройств у пациентов пожилого возраста. В исследовании X. Wang et al. (2019) показана связь повышенного уровня галектина-9, который является универсальной иммуномодулирующей молекулой, с уменьшением показателя MMSE (mini-mental state examination) у пациентов с умеренным нарушением когнитивных функций и в гораздо большей степени у пациентов с болезнью Альцгеймера [15].

Показано, что гиперпродукция галектина-9 ассоциирована с возрастанием уровня подвздошного белка, связывающего желчные кислоты, что отражает нарушение проницаемости кишечного барьера. Полученные результаты дополняют представления о важной роли нарушения кишечного барьера с транслокацией микрофлоры в развитии аутоиммунных процессов и, как следствие, в патогенезе болезни Альцгеймера.

При нейродегенеративных заболеваниях в процессах регенерации нейронов и модулировании иммунного ответа заметное место принадлежит галектинам-3 и -1. Галектин-1 необходим для секреции нейротрофического фактора в астроцитах и запуска нейрональной регенерации. Напротив, галектин-3, усиливает пролиферацию и апоптоз клеток микроглии. В связи с этими данными галектин-1 и ингибиторы галектина-3 рассматриваются как агенты с терапевтическим потенциалом, способные подавить нейровоспаление при нейродегенеративных заболеваниях [16].

Значимую роль галектинов-3 и -4 в диагностике и прогнозе прогрессирования болезни Паркинсона выявили T. Cengiz et al. (2019), что открывает перспективу терапии этого заболевания на основе ингибирования галектинов [17]. Механизм участия галектина-3 в процессах воспаления и дегенерации связывают с его способностью активировать апоптоз Т-клеток и нейтрофилов с высвобождением медиаторов, например супероксид-анион-радикала [18].

Патофизиологическая роль галектина-4 изучена в меньшей степени. Показано, что он выделяется нейронами гиппокампа и коры головного мозга. Установлена его роль в процессах дифференцировки олигодендроцитов и миелинизации. Участие галектина-4 в процессах нейродегенерации не установлено.

Галектин и межклеточная адгезия

Выявлено, что внутриклеточно галектин-4 регулирует клеточную пролиферацию, апоптоз и дифференцировку. Внеклеточная функция галектина-4 заключается в обеспечении межклеточной адгезии. Естественными лигандами галектина-4 являются антигены групп крови, гликопротеины, гликофосфолипиды, сульфатированный холестерол. Благодаря своей мультивалентной структуре и связывающей способно-

сти, галектин-4 играет ключевую роль в регуляции биохимических процессов, а также в развитии и прогрессии опухолей. В обзоре Z.-Q. Cao и X.-L. Guo (2016) рассматривается роль галектина-4 в стабилизации липидного бислоя клеточных мембран, обеспечении апикального транспорта внутриклеточных белков, формировании бактерицидной активности посредством экспрессии антигенов групп крови, активации роста и миелинизации нейронов [19].

Галектины при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях кишечника

При повреждении кишечного эпителия миграция клеток эпителия к месту повреждения осуществляется посредством галектина-4. На различных экспериментальных моделях исследовали влияние галектина-4 на воспалительные процессы в слизистой кишечника посредством прямого активирующего действия галектина-4 на продукцию ИЛ-6 CD4⁺ Т-клетками путем связывания с антигенпрезентирующей клеткой (клеткой-мишенью) и лимфоцитом на поверхности клеток, который является активатором протеинкиназы-С [20]. Кроме этого, галектин-4 может вызывать апоптоз Т-клеток, взаимодействуя с CD3-эпитопом на их поверхности, что показано на модели экспериментального колита. В связи с известными данными о роли активации CD4⁺ Т-клеток в патогенезе таких воспалительных заболеваниях кишечника, как болезнь Крона и язвенный колит, галектин-4 можно рассматривать в качестве одного из существенных факторов, способствующих развитию воспаления в слизистой кишечника [21].

Активно изучается роль галектина-9 в модулировании иммунологических процессов. Эта молекула рассматривается в качестве ключевой точки иммунитета, и в этой связи определение галектина-9 может оказаться полезным в оценке индивидуального иммунологического баланса. Однако данные о содержании галектина-9 существенно различаются как при патологии, так и в группах здоровых людей, что существенно затрудняет интерпретацию полученных результатов. В работе T. Niki и др. (2018) была показана способность некоторых тест-систем для ИФА-анализа определять не только нативный белок галектина-9, но и продукты его протеолитической деградации, присутствующие в плазме крови в минимальном количестве [22]. В экспериментальном исследовании с использованием рекомбинантного галектина-9 показано, что результаты, полученные с использованием тест-системы R&D Systems' ELISA, почти в 5 раз превышают значения, полученные с тест-системой GalPharma ELISA, которая позволяет определять только нативный галектин-9. Результаты определения галектина-9 в плазме крови здоровых людей при использовании R&D Systems' ELISA показали медиану 426 (285...799) пг/мл, а при GalPharma ELISA – 110 (67...154) пг/мл [22].

Галектины при различных заболеваниях

Исследования последних лет расширяют представления о роли галектинов в физиологических и патофизиологических процессах.

Галектин-9. Показано, что галектин-9 экспрессируется во всех органах и тканях и локализуется в ядрах, цитоплазме, на клеточной поверхности и в экстрацеллюлярном матриксе. Доказано участие галектина-9 в процессах клеточного роста, дифференцировке, адгезии и других физиологических процессах. В перечне заболеваний, при которых выявлено повышение уровня галектина-9, присутствуют аутоиммунные и инфекционные заболевания, почечная и печеночная недостаточность, сахарный диабет, атеросклероз и патология коронарных артерий. В обзоре P. Moar и R. Tandon (2021) приведены данные исследований, в которых показана способность галектина-9 выступать в качестве надежного и чувствительного биомаркера тяжести заболеваний [23]. В перспективе определение динамики галектина-9 может стать хорошим маркером в мониторинге активности заболевания и персонализации терапии.

Галектин-7. Этот маркер обнаружен во всех слоях эпидермиса и в других эпителиальных тканях, поэтому его относят к числу кератиноспецифичных маркеров. В отношении галектина-7 известны его многообразные биологические и патофизиологические свойства, которые подобно другим галектинам заключаются в его участии в процессах апоптоза, пролиферации, дифференцировке, а также в адгезии и миграции. Возможности галектина-7 в качестве диагностического и прогностического биомаркера известны, в основном, при опухолевых процессах, однако сведения о его значимости еще очень малочисленны и противоречивы, так же как и о перспективах ингибирования галектина-7 [24].

Галектин-3. Большая часть работ, описывающих физиологические и патологические эффекты галектинов, посвящены галектину-3. Обобщение результатов исследования последних лет свидетельствует о влиянии разнообразных патофизиологических процессов на уровень галектина-3 в плазме крови, а его уровень не может сегодня рассматриваться как органоспецифический маркер.

Экспрессия галектина-3 выявлена в цитоплазме кератиноцитов базального слоя кожи, волосяных фолликулах, потовых и сальных железах, экстрацеллюлярном матриксе дермы, пролиферирующих фибробластах, тучных клетках и меланоцитах. Расстройство экспрессии галектина-3 может стать важным компонентом патогенеза кожных заболеваний, что подтверждает положительный терапевтический эффект ингибиторов и антагонистов галектина-3 при воспалительных, аллергических и неопластических процессах в коже.

При этом галектин-3 является специфическим маркером заболеваний, патогенез которых тесно связан с формированием фиброза или активацией макрофагов. В связи с этим, выявление повышенного уровня галектина-3 на ранних стадиях патологического процесса является потенциальной терапевтической целью при развитии кардиального фиброза, аутоиммунных и нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний [19, 25]. В результате интерес исследователей к галектину-3 обусловлен его участием в процессе фиброобразования тканей.

Галектин-3 при патологии миокарда

Показана возможность использования галектина-3 в качестве маркера прогрессирования СН. Считают, что СН – одна из самых распространенных причин госпитализации и смертности среди лиц пожилого возраста, что представляет собой важную медицинскую и экономическую проблему. Большая часть пациентов с СН нуждается в повторной госпитализации в течение нескольких месяцев после нахождения в стационаре. В связи с этим, поиск предикторов осложнений СН для пациентов высокого риска становится актуальной задачей медицинской науки. Наиболее привлекательными для решения данной задачи становятся простые тесты определения биомаркеров в сыворотке крови, отражающие механизмы развития СН. В качестве маркеров прогрессирования СН уже на протяжении многих лет рассматривается галектин-3.

Повышение экспрессии галектина-3 в тканях является следствием увеличения экспрессии протеинкиназы С, причем в большей степени ее α -изоформы. Хорошо известна роль протеинкиназы С и галектина-3 в развитии СН, гипертрофии и ремоделирования миокарда, однако механизм их совместного или изолированного участия в этих процессах оставался неопределенным. Результаты экспериментальных исследований X. Song и др. (2015) убедительно продемонстрировали влияние активации протеинкиназы С на возрастание экспрессии галектина-3 с последующим прогрессированием фиброобразования миокарда и СН [26]. Кроме того, авторы предположили участие данного механизма и в реализации действия ангиотензина II на гипертрофию и ремоделирование миокарда.

Показано, что информация о синтезе галектина-3 закодирована в одиночном гене *LGALS3*, который локализован на 14-й хромосоме, содержит шесть экзонов и пять интронов и представляет собой β -галактозидсвязывающий лектин с двумя доменами: нетипичный N-терминальный домен и C-терминальный углевод-распознающий домен (carbohydrate-recognition domain – CRD). Преимущественно галектин-3 образуется в макрофагах, но и другие клетки, такие как нейтрофилы, эозинофилы, тучные клетки и фибробласты, могут продуцировать галектин-3 [27, 28].

Фиброзу тканей часто предшествует воспаление с повышенной секрецией цитокинов, которые (например, IL-4) способствуют активации синтеза галектина-3 макрофагами. Механизм секреции галектина-3 в кровотоки не совсем понятен, однако содержание галектина в сыворотке крови можно измерить количественно, вследствие чего он может быть использован в качестве биомаркера в прогнозе СН, а также ренальной дисфункции.

Закономерно интерес исследователей был направлен на установление связи циркулирующего галектина-3 и его уровней в тканях. В работе В. López и др. (2015), выполненной на группе пациентов с гипертонической болезнью, не было установлено связи между тканевым и плазменным уровнями галектина-3 в отличие от других маркеров фиброза [29].

В общем виде участие галектина-3 в процессах фиброобразования заключается в инициации клеточной профибротической программы. Галектин-3 способствует превращению фибробластов в миофиб-

робласты с последующим синтезом и секрецией матриксных белков, таких как коллагены, фибронектин и TGF- β [27].

Важная роль галектина-3 в развитии кардиального и ренального фиброзов, а также ремоделирования миокарда подтверждается многочисленными клиническими и экспериментальными исследованиями.

Ингибиторы галектинов

Особый интерес представляют исследования по ингибированию галектина с последующим снижением синтеза фибронектина и других белков в почечной ткани [30], что открывает возможности для использования галектина-3 в качестве терапевтической мишени [31]. Терапевтический эффект ингибиторов галектина-3 исследован на экспериментальных постинфарктных моделях и модели СН [32], а также в экспериментах на генетически дефицитных по галектину-3 мышцах [28]. Во всех случаях, при ингибировании галектина или его отсутствии, зарегистрированы сокращение формирования кардиального фиброза и существенное сохранение диастолической функции [33]. По некоторым данным инактивация галектина-3 осуществляется посредством нейтрализации лигандов связывания CRD, в связи с чем изучаются ингибирующие и антифибротические свойства пектинов с учетом их способности связывать CRD, что нашло подтверждение в нескольких исследованиях по использованию цитрусового пектина у пациентов с СН и заболеваниями почек [34–36]. Также было проведено клиническое исследование по изучению влияния цитрусовых пектинов на процессы фиброобразования у пациентов с риском СН (ClinicalTrials.gov/identifical NCT01960946).

Участие галектина-3 в формировании кардиального и ренального фиброзов показано на экспериментальной модели фиброза, вызванного введением альдостерона [30]. Фиброз не развивался при использовании ингибиторов галектина-3 и у мышей «нокаутированных» по галектину-3.

В 2016 г. В. French и др. провели исследование по выявлению значимости галектина-3 как прогностического маркера фиброобразования при СН в сравнении с другими известными факторами риска ее прогрессирования [37]. В результате наблюдения за 1385 пациентами с СН, которое продолжалось 5 лет, выявлена ассоциация повышенного уровня галектина-3 с высоким риском неблагоприятного исхода у этих пациентов и сохраненной фракцией выброса левого желудочка. Такая же связь была обнаружена для BNP у пациентов с СН со сниженной фракцией выброса левого желудочка.

Таким образом, результаты настоящего исследования показали, что концентрация галектина-3 у пациентов с инфарктом миокарда превышает допустимые значения в популяции. При этом, высокие уровни изучаемого маркера ассоциированы с основными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, такими как артериальная гипертензия, сахарный диабет, гиперхолестеринемия и острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе. Уровни галектина-3 зависят от размеров левого желудочка, его систолической дисфункции, а также от степени выраженности коронарного атеросклероза. Все вышеуказанное в совокупности показало возможность использования уровня галектина-3 для стратификации риска пациентов с инфарктом миокарда и в качестве прогностического фактора неблагоприятного годового прогноза [38, 39].

С повышенным уровнем галектина-3 связывают развитие фиброза не только миокарда, но и ткани почек [40], а также других органов. Содержание циркулирующего галектина-3 сильно коррелирует с нарушением функции почек у пациентов с СН, что рассматривают некоторые исследователи как основание считать галектин-3 маркером фиброза почек. Показано, что при снижении скорости клубочковой фильтрации значимость галектина-3, как предиктора СН, снижается [41].

Повышение уровня галектина-3 у пациентов с инфарктом миокарда и его связь с тяжестью повреждения миокарда делает возможным использование его в качестве маркера постинфарктного повреждения сердечной мышцы наряду с тропонином [42].

Определение содержания галектина-3 у пациентов с факторами риска развития СН может способствовать более ранней диагностике и терапии, направленной на снижение тяжести заболевания [43, 44]. Большую проблему представляет собой ведение этих пациентов с сохраненной функцией левого желудочка ввиду отсутствия специфических маркеров этого состояния. В публикации R.A. de Voer и др. в 2011 г. приведены результаты, свидетельствующие о возможном использовании определения галектина-3 для ранней диагностики, фенотипирования, стратификации риска и возможной терапевтической мишени у данной категории пациентов [45].

С целью выявления значимости галектина-3 как фактора риска СН А. Chen и др. в 2015 г. провели мета-анализ публикаций на основании баз данных PubMed, Embase, Web of Science, который продемонстрировал ассоциацию повышенного уровня галектина-3 с показателями смертности от всех причин и сердечно-сосудистой смертности у пациентов с СН и подтвердил возможность использования галектина-3 в качестве долгосрочного предиктора неблагоприятного исхода этого синдрома [46].

Результаты клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют о роли галектина-3 в ремоделировании миокарда и формировании фиброза, что лежит в основе прогрессирования СН [47, 48]. В ряде исследований была показана роль галектина-3 как предиктора смертности, однако его значение в качестве предиктора повторной госпитализации пациентов с СН не было определено [45]. В 2014 г. W.C. Meijers и др. [49] провели анализ данных трех независимых клинических исследований, включающих 902 пациента, с целью выявления значимости галектина-3 как предиктора смертности и повторной госпитализации через 30, 60, 90 и 120 дней. Результаты анализа показали, что содержание галектина-3 в сыворотке крови выше 17,8 нг/мл является важным предсказательным фактором смертности и повторной госпитализации пациентов с СН независимо от возраста, пола, функции почек, фракции выброса миокарда и уровня BNP, что открывает возможности для выявления дополнительных факторов риска усугубления тяжести этого синдрома с учетом факторов воспаления и ремоделирования.

При миокардитах галектин-3 выступает в качестве маркера тяжести заболевания, а его ингибирование приводит к более легкому течению заболевания и способствует благоприятному исходу. Следует отметить, что в противоположность галектину-3, галектин-9 оказывает положительное действие на течение заболевания [50].

Галектин-3 связывает N-гликаны на рецепторах, белки экстрацеллюлярного матрикса и патогены, косвенно участвуя в организации внутриклеточных сигнальных путей с секрецией цитокинов. Таким образом обеспечивается участие галектина-3 в воспалении, реакциях иммунной системы и опухолевом росте [51].

Галектин-3 при синдроме воспалительной реакции

Представление о галектине-3 как о молекуле, активно участвующей в формировании синдрома системной воспалительной реакции и способствующей высвобождению провоспалительных цитокинов, стало основанием для проведения исследования E. Cervantes-Alvarez и др. в 2022 г. по выявлению его роли в патогенезе респираторного дистресс-синдрома при коронавирусной инфекции [49]. Результаты данного исследования на основе обследования 156 пациентов с подтвержденным COVID-19 демонстрируют возможности галектина-3 как независимого предиктора тяжести и исхода коронавирусной инфекции. При этом, предсказательная значимость галектина-3 оказалась выше других маркеров воспаления, в том числе и С-реактивного белка. Авторы публикации рекомендуют использовать определения галектина-3 в сыворотке крови у пациентов с тяжелым течением заболевания, а превышение концентрации сывороточного маркера более 30,99 нг/мл считать прогностическим признаком необходимости перевода пациента на искусственную вентиляцию легких или неблагоприятного исхода заболевания [52].

Исходя из молекулярного механизма действия галектина-3 и успешного использования его ингибиторов при фиброзе, кардиальной патологии и онкологических заболеваниях, было сделано предположение о возможном влиянии ингибиторов галектина-3 на SARS-CoV-2-вирусную инфекцию [53]. Кроме того, оказалось, что гликопротеин-распознающий домен (CRD) галектина-3 обладает структурным сходством со спайковым белком SARS-CoV-2 [54], что мотивирует исследователей на изучение способности ингибиторов галектина-3 влиять на течение заболевания.

Действие галектина-3 как лиганда TOLL-подобного рецептора 4 (TLR4) обеспечивает его участие в воспалительных реакциях при бактериальных инфекциях [55].

С участием галектина-3 в реализации реакций воспаления связывают его возможную роль в развитии когнитивных нарушений. В экспериментальных исследованиях была выявлена регуляторная функция галектина-3 в головном мозге. Например, на модели экспериментального инсульта была продемонстрирована повышенная экспрессия галектина-3 в клетках микроглии после повреждения [56]. У мышей, дефицитных по галектину-3, клетки мозга были защищены от ишемического повреждения, особенно в области гиппокампа и полосатого тела. Галектин-3 обнаружен в префронтальной коре крыс с дефицитом внимания [57].

Результаты экспериментальных исследований стали основанием для изучения роли галектина-3 в регуляции когнитивных функций. В работе S. Trompet и др. (2012) показано, что некоторые генетические полиморфизмы гена, ответственного за синтез галектина-3, ассоциированы с когнитивным снижением у лиц пожилого возраста [58].

Повышение уровня галектина-3 выявлено при воспалительных заболеваниях ЦНС, в том числе болезни Альцгеймера, инсульте, гипоксии/ишемии [59]. Результаты фундаментальных молекулярно-биологических исследований свидетельствуют о роли галектина-3 не только в механизмах патологических процессов и при заболеваниях нервной системы, а также в процессах нейрогенеза и глиогенеза здорового мозга [60].

Установлены механизмы формирования связи галектина-3 с рецепторами инсулина и инсулиноподобных факторов роста, которые влияют на процессы нейрогенеза и когнитивные функции у взрослых [61, 62]. Блокада инсулиновых рецепторов галектином-3 также обуславливает их роль в развитии инсулинорезистентности [62].

С низким уровнем галектина-3 связывают лучший прогноз восстановления двигательной функции после компрессионного повреждения спинного мозга в связи с тем, что в отсутствие галектина-3 уменьшается степень активации системного воспалительного ответа. Полученные экспериментальные данные служат основанием рассматривать галектин-3 в качестве терапевтической цели для купирования воспаления при травме спинного мозга [63].

Участие галектина-3 во многих фундаментальных молекулярных и клеточных процессах, таких как пролиферация, апоптоз, дифференцировка, иммунные и воспалительные реакции, служит основанием его изучения в качестве перспективного биомаркера при самых различных патологических состояниях и заболеваниях [64, 65].

Заключение

Представленные в обзоре литературы сведения убедительно свидетельствуют об универсальной роли галектинов в регуляции клеточных функций и межклеточных взаимодействий. Участие различных типов галектинов в формировании сигнальных путей, модулировании иммунологических реакций, процессах дифференциации и пролиферации обуславливает их патофизиологическое значение при патологии различных органов и систем. Выявление конкретных механизмов вовлечения галектинов в патогенез заболеваний, определение их диагностической и прогностической значимости является основой для их использования в качестве биомаркеров патологических процессов и цели для терапевтического воздействия при заболеваниях.

Список источников

1. *Leffler H.* Galectin history, some stories, and some outstanding questions // *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 2018. V. 30. № 172. P. SE129–SE135. DOI: 10.4052/tigg.1724.1SE.
2. *Cummings R.D., Liu F.T.* Galectins. *Essential of glycobiology*, second ed. 2009
3. *van der Hoeven N.W., Hollander M.R., Yildirim C., et al.* The emerging role of galectins in cardiovascular disease // *Vascular Pharmacology.* 2016. V. 81. P. 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.02.006>.
4. *Hsieh S.H., Ying N.W., Wu M.H., et al.* Galectin-1, a novel ligand of neuropilin-1, activates VEGFR-2 signaling and modulates the migration of vascular endothelial cells // *Oncogene.* 2008. V. 27. № 26. P. 3746–3753. DOI: 10.1038/sj.onc.1211029
5. *Thijssen V.L., Hulsmans S., Griffioen A.W.* The Galectin Profile of the Endothelium: Altered Expression and Localization in Activated and Tumor Endothelial Cells // *Am. J. Pathol.* 2008. V.172. № 2. P. 545–553. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070938
6. *Chellan B., Narayani J., Appukuttan P.S.* Galectin-1, an endogenous lectin produced by arterial cells, binds lipoprotein(a) [Lp(a)] in situ: Relevance to atherogenesis // *Exp. Mol. Pathol.* 2007. V. 83. № 3. P. 399–404. DOI: 10.1016/j.yexmp.2007.04.004
7. *Sano H., Hsu L., Yu J.R., et al.* Human Galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages1 // *J. Immunol.* 2000. V. 165. № 4. P. 2156–2164. DOI: 10.4049/jimmunol.165.4.2156
8. *Ozturk D., Celik O., Satilmis S., et al.* Association between serum galectin-3 levels and coronary atherosclerosis and plaque burden/structure in patients with type 2 diabetes mellitus // *Coronary Artery Disease.* 2015. V. 26. № 5. P. 396–401. DOI: 10.1097/MCA.0000000000000252
9. *Yildirim C., Vogel D.Y., Hollander M.R., et al.* Galectin-2 Induces a Proinflammatory, AntiArteriogenic Phenotype in Monocytes and Macrophages // *PLoS ONE.* 2015. V. 10. № 4. P. e0124347. DOI: 10.1371/journal.pone.0124347
10. *Paclik D., Werner L., Guckelberger O., et al.* Galectins distinctively regulate central monocyte and macrophage function // *Cell. Immunol.* 2011. V. 271. Iss. 1. P. 97–103. DOI: 10.1016/j.cellimm.2011.06.003
11. *Moiseeva E.P., Javed Q., Spring E.L., et al.* Galectin 1 is involved in vascular smooth muscle cell proliferation // *Cardiovascular Res.* 2000. V. 45. № 2. P. 493–502. DOI: 10.1016/S0008-6363(99)00276-X
12. *Grandin E.W., Jarolim P., Murphy S.A., et al.* Galectin-3 and the Development of Heart Failure after Acute Coronary Syndrome: Pilot Experience from PROVE IT-TIMI 22 // *Clin. Chem.* 2012. V. 58. № 1. P. 267–273. DOI: 10.1373/clinchem.2011.174359

13. *Ishibashi S., Kuroiwa T., Sakaguchi M., et al.* Galectin-1 regulates neurogenesis in the subventricular zone and promotes functional recovery after stroke // *Exp. Neurol.* 2007. V. 207. № 2. P. 302–313. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.06.024
14. *Nio-Kobayashi J., Itabashi T.* Galectins and Their Ligand Glycoconjugates in the Central Nervous System Under Physiological and Pathological Conditions // *Front. Neuroanat.* 2021. V. 15. P. 767330. DOI: 10.3389/fnana.2021.767330
15. *Wang X., Niub Y., Yuea C.-X., et al.* Increased ileal bile acid binding protein and galectin-9 are associated with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease // *J. Psychiatr. Res.* 2019. V. 119. P. 102–106. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2019.10.002
16. *Hernández E.R., Sánchez-Maldonado C., Mayoral Chávez M.A., et al.* The therapeutic potential of galectin-1 and galectin-3 in the treatment of neurodegenerative diseases // *Expert. Rev. Neurother.* 2020. V. 20. № 5. P. 439–448. DOI: 10.1080/14737175.2020.1750955
17. *Cengiz T., Türkboylarlıb S., Gençlerc O. S., et al.* The roles of galectin-3 and galectin-4 in the idiopathic Parkinson disease and its progression // *Clinical Neurology and Neurosurgery.* 2019. V. 184. P. 105373. DOI: 10.1016/j.clineuro.2019.105373
18. *Rabinovich G.A., Liu F.T., Hirashima M., et al.* An emerging role for galectins in tuning the immune response: lessons from experimental models of inflammatory disease, autoimmunity and cancer // *Scand. J. Immunol.* 2007. V. 66. № 2-3. P. 143–158. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2007.01986.x
19. *Cao Z.-Q., Guo X.-L.* The role of galectin-4 in physiology and diseases // *Protein Cell.* 2016. V. 7. № 5. P. 314–324. DOI: 10.1007/s13238-016-0262-9
20. *Waldner M.J., Neurath M.F.* Master regulator of intestinal disease: IL-6 in chronic inflammation and cancer development // *Semin. Immunol.* 2014. V. 26. № 1. P. 75–79. DOI: 10.1016/j.smim.2013.12.003
21. *Nishida A., Nagahama K., Imaeda H., et al.* Inducible colitis-associated glycome capable of stimulating the proliferation of memory CD4+ T cells // *J. Exp. Med.* 2012. V. 209. № 13. P. 2383–2394. DOI: 10.1084/jem.20112631
22. *Niki T., Fujita K., Rosen H., et al.* Plasma Galectin-9 Concentrations in Normal and Diseased Condition // *Cell. Physiol. Biochem.* 2018. V. 50. P. 1856–1868. DOI: 10.1159/000494866
23. *Moar P., Tandon R.* Galectin-9 as a biomarker of disease severity // *Cell. Immunol.* 2021. V. 361. P. 104287. DOI: 10.1016/j.cellimm.2021.104287
24. *Sewgobind N.V., Albers S., Pieters R.J.* Functions and inhibition of galectin-7, an emerging target in cellular pathophysiology // *Biomolecules.* 2021. V. 11. P. 1720–1745. DOI: 10.3390/biom11111720
25. *Hara A., Niwa M., Noguchi K., et al.* Galectin-3: A Potential Prognostic and Diagnostic Marker for Heart Disease and Detection of Early Stage Pathology // *Biomolecules.* 2020. V. 10. № 9. P. 1277–1295. DOI: 10.3390/biom10091277
26. *Song X., Qiana X., Shen M., et al.* Protein kinase C promotes cardiac fibrosis and heart failure by modulating galectin-3 expression // *Biochim. Biophys. Acta.* 2015. V. 1853. № 2. P. 513–521. DOI: 10.1016/j.bbamer.2014.12.001
27. *Dumic J., Dabelic S., Fogel M.* Galectin-3: An open-ended story // *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. V. 1760. № 4. P. 616–635. DOI: 10.1016/j.bbagen.2005.12.020
28. *Yu L., Ruijrok W.P., Meissner M., et al.* Genetic and pharmacological inhibition of galectin-3 prevents cardiac remodeling by interfering with myocardial fibrogenesis // *Circ. Heart Fail.* 2013. V. 6. № 1. P. 107–117. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.971168
29. *López B., González A., Querejeta R., et al.* Galectin-3 and histological, molecular and biochemical aspects of myocardial fibrosis in heart failure of hypertensive origin // *Eur. J. Heart Fail.* 2015 V. 17. P. 385–392. <https://doi.org/10.1002/ejhf.246>
30. *Calvier L., Martínez-Martínez E., Miana M., et al.* The impact of galectin-3 inhibition on aldosterone-induced cardiac and renal injuries // *JACC. Heart Fail.* 2015. V. 3. № 1. P. 59–67. DOI: 10.1016/j.jchf.2014.08.002
31. *Meijers W.C., RogiervanderVelde A., Pascual-Figal D.A., et al.* Galectin-3 and post-myocardial infarction cardiac remodeling // *Eur. J. Pharmacol.* 2015. V. 763. Pt A. P. 115–121. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.06.025
32. *Liu Y.H., D'Ambrosio M., Liao T.D., et al.* N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growthregulatory lectin // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009. V. 296. P. H404–H412.
33. *Slack R.J., Mills R., Mackinnon A.C.* The therapeutic potential of galectin-3 inhibition in fibrotic disease // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2021. V. 130. P. 105881. DOI: 10.1016/j.biocel.2020.105881
34. *Kolatsi-Joannou M., Price K.L., Winyard P.J., et al.* Modified citrus pectin reduces galectin-3 expression and disease severity in experimental acute kidney injury // *PloS One.* 2011. V. 6. № 4. P. e18683. DOI: 10.1371/journal.pone.0018683
35. *de Boer R.A., van der Velde A.R., Mueller C., et al.* Galectin-3: a modifiable risk factor in heart failure // *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2014. V. 28. № 3. P. 237–246. DOI: 10.1007/s10557-014-6520-2
36. *Frenay A.R., Yu L., van der Velde A.R., et al.* Pharmacological inhibition of galectin-3 protects against hypertensive nephropathy // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2015. V. 308. № 5. P. F500–509. DOI: 10.1152/ajprenal.00461.2014
37. *French B., Wang L., Ky B., et al.* Prognostic Value of Galectin-3 for Adverse Outcomes in Chronic Heart Failure // *J. Cardiac. Fail.* 2016. V. 22. № 4. P. 256–262. DOI: 10.1016/j.cardfail.2015.10.022
38. *Фёдорова Н.В., Кауталан В.В., Хрячкова О.Н., и др.* Галектин-3 – перспективный биомаркер рискометрии при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST // *Атеросклероз.* 2015. Т. 11. № 4. С. 49–55.
39. *Каретникова В.Н., Осокина А.В., Евсеева М.В., и др.* Связь галектина сыворотки крови и дисфункции почек при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST // *Кардиология.* 2016. Т. 56. № 4. С. 25–31. DOI: 10.18565/cardio.2016.4.25-31
40. *Saccon F., Gatto M., Ghirardello A., et al.* Role of galectin-3 in autoimmune and non-autoimmune nephropathies // *Autoimmun. Rev.* 2017. V. 16. № 1. P. 34–47. DOI: 10.1016/j.autrev.2016.09.023
41. *Zamora E., Lupón J., de Antonio M., et al.* Renal function largely influences Galectin-3 prognostic value in heart failure // *Int. J. Cardiol.* 2014. V. 177. № 1. P. 171–177. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.09.011
42. *Milner T.D., Viner A.C., Mackinnon A.C., et al.* Temporal expression of galectin-3 following myocardial infarction // *Acta Cardiol.* 2014. V. 69. № 6. P. 595–602. DOI: 10.1080/AC.69.6.1000001
43. *Ho J.E., Liu C., Lyass A., et al.* Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community // *J. Am. College Cardiol.* 2012. V. 60. № 14. P. 1249–1256. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.053

44. Djoussé L., Matsumoto C., Petrone A., et al. Plasma galectin 3 and heart failure risk in the Physicians' Health Study // *Eur. J. Heart Failure*. 2014. V. 16. № 3. P. 350–354. DOI: 10.1002/ejhf.21
45. de Boer R.A., Lok D.J., Jaarsma T., et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction // *Ann. Med.* 2011. V. 43. № 1. P. 60–68. DOI: 10.3109/07853890.2010.538080
46. Chen A., Hou W., Zhang Y., et al. Prognostic value of serum galectin-3 in patients with heart failure: a meta-analysis // *Int. J. Cardiol.* 2015. V. 182. P. 168–170. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.12.137
47. de Boer R.A., Voors A.A., Muntendam P., et al. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression // *Eur. J. Heart Fail.* 2009. V. 11. № 9. P. 811–817. DOI: 10.1093/eurjhf/hfp097
48. Blanda V., Bracale U.M., Di Taranto M.D., et al. Galectin-3 in Cardiovascular Diseases // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 23. P. 9232–9250. DOI: 10.3390/ijms21239232
49. Meijers W.C., Januzzi J.L., deFilippi C., et al. Elevated plasma galectin-3 is associated with near-term rehospitalization in heart failure: A pooled analysis of 3 clinical trials // *Am. Heart J.* 2014. V. 167. № 6. P. 853–860.e4. DOI: 10.1016/j.ahj.2014.02.011
50. De Giusti C.J., Ure A.E., Rivadeneyra L., et al. Macrophages and galectin 3 play critical roles in CVB3-induced murine acute myocarditis and chronic fibrosis // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 85. P. 58–70. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2015.05.010
51. Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., et al. (Eds.). Galectins. In *Essentials of Glycobiology, 3rd*; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, USA. 2015. P. 469–480.
52. Cervantes-Alvarez E., la Rosa N.L., la Mora M.S., et al. Galectin-3 as a potential prognostic biomarker of severe COVID-19 in SARS-CoV-2 infected patients // *Sci. Rep.* 2022. V. 12. № 1. P. 1856. DOI: 10.1038/s41598-022-05968-4
53. Caniglia J.L., Guda M.R., Asuthkar S., et al. A potential role for Galectin-3 inhibitors in the treatment of COVID-19 // *Peer. J.* 2020. V. 8. P. e9392. DOI: 10.7717/peerj.9392
54. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins // *Annu. Rev. Virol.* 2016. V. 3. № 1. P. 237–261. DOI: 10.1146/annurev-virology-110615-042301
55. Burguillos M.A., Svensson M., Schulte T., et al. Microglia-Secreted galectin-3 acts as a toll-like receptor 4 ligand and contributes to microglial activation // *Cell. Rep.* 2015. V. 10. № 9. P. 1626–1638. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.02.012
56. Doverhag C., Hedtjarn M., Poirier F., et al. Galectin-3 contributes to neonatal hypoxic-ischemic brain injury // *Neurobiol. Dis.* 2010. V. 38. № 1. P. 36–46. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.12.024
57. Wu L., Zhao Q., Zhu X., et al. A novel function of microRNA let-7d in regulation of galectin-3 expression in attention deficit hyperactivity disorder rat brain // *Brain. Pathol.* 2010. V. 20. № 6. P. 1042–1054. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2010.00410.x
58. Trompet S., Jukema W., P. Mooijaarte S., et al. Genetic variation in galectin-3 gene associates with cognitive function at old age // *Neurobiol. Aging.* 2012. V. 33. № 9. P. 2232.e1–2232.e9. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.001
59. Boza-Serrano A., Ruiz R., Sanchez-Varo R., et al. Galectin-3, a novel endogenous TREM2 ligand, detrimentally regulates inflammatory response in Alzheimer's disease // *Acta Neuropathol.* 2019. V. 138. № 2. P. 251–273. DOI: 10.1007/s00401-019-02013-z
60. Soares L.C., Al-Dalahmah O., Hillis J., et al. Novel Galectin-3 Roles in Neurogenesis, Inflammation and Neurological Diseases // *Cells.* 2021. V. 10. № 11. P. 3047–3071. DOI: 0.3390/cells10113047
61. Lalancette-Hebert M., Swarup V., Beaulieu J.M., et al. Galectin-3 is required for resident microglia activation and proliferation in response to ischemic injury // *J. Neurosci.* 2012. V. 32. № 30. P. 10383–10395. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1498-12.2012
62. Li P., Liu S., Lu M., et al. Hematopoietic derived galectin-3 causes cellular and systemic insulin resistance // *Cell.* 2016. V. 167. № 4. P. 973–984.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.025
63. Mostacada K., Oliveira F.L., Villa-Verde D.M.S., et al. Lack of galectin-3 improves the functional outcome and tissue sparing by modulating inflammatory response after a compressive spinal cord injury // *Exp. Neurol.* 2015. V. 271. P. 390–400. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.07.006
64. Pasmazi E., Papadionysiou C., Monastirli A., et al. Galectin 3: an extraordinary multifunctional protein in dermatology. Current knowledge and perspectives // *An. Bras. Dermatol.* 2019. V. 94. № 3. P. 348–354. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20198426
65. Hara A., Niwa M., Noguchi K., et al. Galectin-3 as a Next-Generation Biomarker for Detecting Early Stage of Various Diseases // *Biomolecules.* 2020. V. 10. P. 389–408. DOI: 10.3390/biom10030389

Информация об авторах

Наталья Николаевна Зыбина – д.б.н., профессор, зав. отделом лабораторной диагностики

SPIN-код: 5164-2969

Ольга Викторовна Тихомирова – д.м.н., доцент, зав. отделом клинической неврологии и медицины сна

SPIN-код: 9427-8541

Елена Александровна Куликова – врач клинической лабораторной диагностики

SPIN-код: не представлен

Полина Леонидовна Прищеп – врач онколог-педиатр

SPIN-код: 1265-8787

Николай Евгеньевич Кушлинский – д.м.н., профессор, академик РАН, зав. лабораторией клинической биохимии

SPIN-код: 6225-1487

Статья поступила в редакцию 21.02.2023

Одобрена после рецензирования 21.02.2023

Принята к публикации 17.04.2023

Galectins: characteristics, role in pathogenesis, clinical course and prognosis of diseases

N.N. Zybina¹, O.V. Tikhomirova², E.A. Kulikova³, P.L. Prischep⁴, N.E. Kushlinskii⁵

¹⁻³ Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Saint-Petersburg, Russia)

^{4,5} N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

¹ zybina@inbox.ru, ² olvitikhomirova@gmail.com, ³ e.a-kulikova@mail.ru,

⁴ Paulig92@mail.ru, ⁵ kne3108@gmail.com

Abstract

Recent studies demonstrate the potential of galectins as biomarkers of pathological processes. Of greatest interest in this regard is galectin-3, whose high levels are associated with the development of fibrosis in chronic heart failure and, presumably, can be used to stratify the risk of patients with myocardial infarction. At the same time, many effects of galectins remain unexplored and require systematic analysis.

The purpose of this work is to analyze the data of modern literature on the role of galectins of various classes in the implementation of the fundamental mechanisms of cellular functions and intercellular interactions in various pathological conditions and diseases.

The review presents data on the structure and classification of the family of galactoside-binding proteins - galectins, their role in activation, secretion of cytokines, cell migration, proliferation and apoptosis, as well as in interaction with the extracellular matrix. The diverse functions of galectins, which cause the interest of researchers in revealing the role of galectins in the pathogenesis of various diseases and pathological conditions, are considered. Identification of specific mechanisms of involvement of galectins in the pathogenesis of diseases, determination of their diagnostic and prognostic significance can become the basis for their use as biomarkers of pathological processes and targets for therapeutic intervention.

Keywords

Galectin, galactoside-binding lectin, fibrosis, cardiovascular disease

For citation

Zybina N.N., Tikhomirova O.V., Kulikova E.A., Prischep P.L., Kushlinskii N.E. Galectins: characteristics, role in pathogenesis, clinical course and prognosis of diseases. Technologies of Living Systems. 2023. V. 20. № 2. P. 5–17. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-01> (In Russian)

References

1. Leffler H. Galectin history, some stories, and some outstanding questions. Trends Glycosci. Glycotechnol. 2018. V. 30. № 172. P. SE129–SE135. DOI: 10.4052/tigg.1724.1SE.
2. Cummings R.D., Liu F.T. Galectins. Essential of glycobiology, second ed. 2009
3. van der Hoeven N.W., Hollander M.R., Yildirim C., et al. The emerging role of galectins in cardiovascular disease. Vascular Pharmacology. 2016. V. 81. P. 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.02.006>.
4. Hsieh S.H., Ying N.W., Wu M.H., et al. Galectin-1, a novel ligand of neuropilin-1, activates VEGFR-2 signaling and modulates the migration of vascular endothelial cells. Oncogene. 2008. V. 27. № 26. P. 3746–3753. DOI: 10.1038/sj.onc.1211029
5. Thijssen V.L., Hulsmans S., Griffioen A.W. The Galectin Profile of the Endothelium: Altered Expression and Localization in Activated and Tumor Endothelial Cells. Am. J. Pathol. 2008. V.172. № 2. P. 545–553. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070938
6. Chellan B., Narayani J., Appukuttan P.S. Galectin-1, an endogenous lectin produced by arterial cells, binds lipoprotein(a) [Lp(a)] in situ: Relevance to atherogenesis. Exp. Mol. Pathol. 2007. V. 83. № 3. P. 399–404. DOI: 10.1016/j.yexmp.2007.04.004
7. Sano H., Hsu L., Yu J.R., et al. Human Galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages1. J. Immunol. 2000. V. 165. № 4. P. 2156–2164. DOI: 10.4049/jimmunol.165.4.2156
8. Ozturk D., Celik O., Satilmis S., et al. Association between serum galectin-3 levels and coronary atherosclerosis and plaque burden/structure in patients with type 2 diabetes mellitus. Coronary Artery Disease. 2015. V. 26. № 5. P. 396–401. DOI: 10.1097/MCA.0000000000000252
9. Yildirim C., Vogel D.Y., Hollander M.R., et al. Galectin-2 Induces a Proinflammatory, AntiArteriogenic Phenotype in Monocytes and Macrophages. PLoS ONE. 2015. V. 10. № 4. P. e0124347. DOI: 10.1371/journal.pone.0124347
10. Paclik D., Werner L., Guckelberger O., et al. Galectins distinctively regulate central monocyte and macrophage function. Cell. Immunol. 2011. V. 271. Iss. 1. P. 97–103. DOI: 10.1016/j.cellimm.2011.06.003
11. Moiseeva E.P., Javed Q., Spring E.L., et al. Galectin 1 is involved in vascular smooth muscle cell proliferation. Cardiovascular Res. 2000. V. 45. № 2. P. 493–502. DOI: 10.1016/S0008-6363(99)00276-X
12. Grandin E.W., Jarolim P., Murphy S.A., et al. Galectin-3 and the Development of Heart Failure after Acute Coronary Syndrome: Pilot Experience from PROVE IT-TIMI 22. Clin. Chem. 2012. V. 58. № 1. P. 267–273. DOI: 10.1373/clinchem.2011.174359
13. Ishibashi S., Kuroiwa T., Sakaguchi M., et al. Galectin-1 regulates neurogenesis in the subventricular zone and promotes functional recovery after stroke. Exp. Neurol. 2007. V. 207. № 2. P. 302–313. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.06.024
14. Nio-Kobayashi J., Itabashi T. Galectins and Their Ligand Glycoconjugates in the Central Nervous System Under Physiological and Pathological Conditions. Front. Neuroanat. 2021. V. 15. P. 767330. DOI: 10.3389/fnana.2021.767330
15. Wang X., Niub Y., Yuea C.-X., et al. Increased ileal bile acid binding protein and galectin-9 are associated with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. J. Psychiatr. Res. 2019. V. 119. P. 102–106. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2019.10.002

16. Hernández E R., Sánchez-Maldonado C., Mayoral Chávez M.A., et al. The therapeutic potential of galectin-1 and galectin-3 in the treatment of neurodegenerative diseases. *Expert. Rev. Neurother.* 2020. V. 20. № 5. P. 439–448. DOI: 10.1080/14737175.2020.1750955
17. Cengiz T., Türkboylarıb S., Gençler O. S., et al. The roles of galectin-3 and galectin-4 in the idiopathic Parkinson disease and its progression. *Clinical Neurology and Neurosurgery.* 2019. V. 184. P. 105373. DOI: 10.1016/j.clineuro.2019.105373
18. Rabinovich G.A., Liu F.T., Hirashima M., et al. An emerging role for galectins in tuning the immune response: lessons from experimental models of inflammatory disease, autoimmunity and cancer. *Scand. J. Immunol.* 2007. V. 66. № 2-3. P. 143–158. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2007.01986.x
19. Cao Z.-Q., Guo X.-L. The role of galectin-4 in physiology and diseases. *Protein Cell.* 2016. V. 7. № 5. P. 314–324. DOI: 10.1007/s13238-016-0262-9
20. Waldner M.J., Neurath M.F. Master regulator of intestinal disease: IL-6 in chronic inflammation and cancer development. *Semin. Immunol.* 2014. V. 26. № 1. P. 75–79. DOI: 10.1016/j.smim.2013.12.003
21. Nishida A., Nagahama K., Imaeda H., et al. Inducible colitis-associated glycome capable of stimulating the proliferation of memory CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* 2012. V. 209. № 13. P. 2383–2394. DOI: 10.1084/jem.20112631
22. Niki T., Fujita K., Rosen H., et al. Plasma Galectin-9 Concentrations in Normal and Diseased Condition. *Cell. Physiol. Biochem.* 2018. V. 50. P. 1856–1868. DOI: 10.1159/000494866
23. Moar P., Tandon R. Galectin-9 as a biomarker of disease severity. *Cell. Immunol.* 2021. V. 361. P. 104287. DOI: 10.1016/j.cellimm.2021.104287
24. Sewgobind N.V., Albers S., Pieters R.J. Functions and inhibition of galectin-7, an emerging target in cellular pathophysiology. *Biomolecules.* 2021. V. 11. P. 1720–1745. DOI: 10.3390/biom11111720
25. Hara A., Niwa M., Noguchi K., et al. Galectin-3: A Potential Prognostic and Diagnostic Marker for Heart Disease and Detection of Early Stage Pathology. *Biomolecules.* 2020. V. 10. № 9. P. 1277–1295. DOI: 10.3390/biom10091277
26. Song X., Qiana X., Shen M., et al. Protein kinase C promotes cardiac fibrosis and heart failure by modulating galectin-3 expression. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015. V. 1853. № 2. P. 513–521. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2014.12.001
27. Dumic J., Dabelic S., Fogel M. Galectin-3: An open-ended story. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. V. 1760. № 4. P. 616–635. DOI: 10.1016/j.bbagen.2005.12.020
28. Yu L., Ruifrok W.P., Meissner M., et al. Genetic and pharmacological inhibition of galectin-3 prevents cardiac remodeling by interfering with myocardial fibrogenesis. *Circ. Heart Fail.* 2013. V. 6. № 1. P. 107–117. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.971168
29. López B., González A., Querejeta R., et al. Galectin-3 and histological, molecular and biochemical aspects of myocardial fibrosis in heart failure of hypertensive origin. *Eur. J. Heart Fail.* 2015 V. 17. P. 385–392. <https://doi.org/10.1002/ejhf.246>
30. Calvier L., Martinez-Martinez E., Miana M., et al. The impact of galectin-3 inhibition on aldosterone-induced cardiac and renal injuries. *JACC. Heart Fail.* 2015. V. 3. № 1. P. 59–67. DOI: 10.1016/j.jchf.2014.08.002
31. Meijers W.C., Rogier VanderVelde A., Pascual-Figal D.A., et al. Galectin-3 and post-myocardial infarction cardiac remodeling. *Eur. J. Pharmacol.* 2015. V. 763. Pt A. P. 115–121. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.06.025
32. Liu Y.H., D'Ambrosio M., Liao T.D., et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growthregulatory lectin. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009. V. 296. P. H404–H412.
33. Slack R.J., Mills R., Mackinnon A.C. The therapeutic potential of galectin-3 inhibition in fibrotic disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2021. V. 130. P. 105881. DOI: 10.1016/j.biocel.2020.105881
34. Kolatsi-Joannou M., Price K.L., Winyard P.J., et al. Modified citrus pectin reduces galectin-3 expression and disease severity in experimental acute kidney injury. *PLoS One.* 2011. V. 6. № 4. P. e18683. DOI: 10.1371/journal.pone.0018683
35. de Boer R.A., van der Velde A.R., Mueller C., et al. Galectin-3: a modifiable risk factor in heart failure. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2014. V. 28. № 3. P. 237–246. DOI: 10.1007/s10557-014-6520-2
36. Frenay A.R., Yu L., van der Velde A.R., et al. Pharmacological inhibition of galectin-3 protects against hypertensive nephropathy. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2015. V. 308. № 5. P. F500–509. DOI: 10.1152/ajprenal.00461.2014
37. French B., Wang L., Ky B., et al. Prognostic Value of Galectin-3 for Adverse Outcomes in Chronic Heart Failure. *J. Cardiac. Fail.* 2016. V. 22. № 4. P. 256–262. DOI: 10.1016/j.cardfail.2015.10.022
38. Fedorova N.V., Kashtalov V.V., Khryachkova O.N., i dr. Galektin-3 – perspektivnyy biomarker riskometrii pri infarkte miokarda s podiyemom segmenta ST. *Ateroskleroz.* 2015. T. 11. № 4. S. 49–55. (in Russian).
39. Karetnikova V.N., Osokina A.V., Evseyeva M.V., i dr. Svyaz galektina syvorotki krovi i disfunktsii pochek pri infarkte miokarda s podiyemom segmenta ST. *Kardiologiya.* 2016. T. 56. № 4. S. 25–31. DOI: 10.18565/cardio.2016.4.25-31 (in Russian).
40. Saccon F., Gatto M., Ghirardello A., et al. Role of galectin-3 in autoimmune and non-autoimmune nephropathies. *Autoimmun. Rev.* 2017. V. 16. № 1. P. 34–47. DOI: 10.1016/j.autrev.2016.09.023
41. Zamora E., Lupón J., de Antonio M., et al. Renal function largely influences Galectin-3 prognostic value in heart failure. *Int. J. Cardiol.* 2014. V. 177. № 1. P. 171–177. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.09.011
42. Milner T.D., Viner A.C., Mackinnon A.C., et al. Temporal expression of galectin-3 following myocardial infarction. *Acta Cardiol.* 2014. V. 69. № 6. P. 595–602. DOI: 10.1080/AC.69.6.1000001
43. Ho J.E., Liu C., Lyass A., et al. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *J. Am. College Cardiol.* 2012. V. 60. № 14. P. 1249–1256. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.053
44. Djoussé L., Matsumoto C., Petrone A., et al. Plasma galectin 3 and heart failure risk in the Physicians' Health Study. *Eur. J. Heart Failure.* 2014. V. 16. № 3. P. 350–354. DOI: 10.1002/ejhf.21
45. de Boer R.A., Lok D.J., Jaarsma T., et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann. Med.* 2011. V. 43. № 1. P. 60–68. DOI: 10.3109/07853890.2010.538080
46. Chen A., Hou W., Zhang Y., et al. Prognostic value of serum galectin-3 in patients with heart failure: a meta-analysis. *Int. J. Cardiol.* 2015. V. 182. P. 168–170. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.12.137
47. de Boer R.A., Voors A.A., Muntendam P., et al. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur. J. Heart Fail.* 2009. V. 11. № 9. P. 811–817. DOI: 10.1093/eurjhf/hfp097
48. Blanda V., Bracale U.M., Di Taranto M.D., et al. Galectin-3 in Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 23. P. 9232–9250. DOI: 10.3390/ijms21239232
49. Meijers W.C., Januzzi J.L., deFilippi C., et al. Elevated plasma galectin-3 is associated with near-term rehospitalization in heart failure: A pooled analysis of 3 clinical trials. *Am. Heart J.* 2014. V. 167. № 6. P. 853–860.e4. DOI: 10.1016/j.ahj.2014.02.011

50. De Giusti C.J., Ure A.E., Rivadeneyra L., et al. Macrophages and galectin 3 play critical roles in CVB3-induced murine acute myocarditis and chronic fibrosis. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 85. P. 58–70. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2015.05.010
51. Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., et al. (Eds.). *Galectins*. In *Essentials of Glycobiology*, 3rd; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, NY, USA. 2015. P. 469–480.
52. Cervantes-Alvarez E., la Rosa N.L., la Mora M.S., et al. Galectin-3 as a potential prognostic biomarker of severe COVID-19 in SARS-CoV-2 infected patients. *Sci. Rep.* 2022. V. 12. № 1. P. 1856. DOI: 10.1038/s41598-022-05968-4
53. Caniglia J.L., Guda M.R., Asuthkar S., et al. A potential role for Galectin-3 inhibitors in the treatment of COVID-19. *Peer. J.* 2020. V. 8. P. e9392. DOI: 10.7717/peerj.9392
54. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu. Rev. Virol.* 2016. V. 3. № 1. P. 237–261. DOI: 10.1146/annurev-virology-110615-042301
55. Burguillos M.A., Svensson M., Schulte T., et al. Microglia-Secreted galectin-3 acts as a toll-like receptor 4 ligand and contributes to microglial activation. *Cell. Rep.* 2015. V. 10. № 9. P. 1626–1638. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.02.012
56. Doverhag C., Hedtjärn M., Poirier F., et al. Galectin-3 contributes to neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Neurobiol. Dis.* 2010. V. 38. № 1. P. 36–46. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.12.024
57. Wu L., Zhao Q., Zhu X., et al. A novel function of microRNA let-7d in regulation of galectin-3 expression in attention deficit hyperactivity disorder rat brain. *Brain. Pathol.* 2010. V. 20. № 6. P. 1042–1054. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2010.00410.x
58. Trompet S., Jukemaa W., P. Mooijaarte S., et al. Genetic variation in galectin-3 gene associates with cognitive function at old age. *Neurobiol. Aging.* 2012. V. 33. № 9. P. 2232.e1–2232.e9. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.001
59. Boza-Serrano A., Ruiz R., Sanchez-Varo R., et al. Galectin-3, a novel endogenous TREM2 ligand, detrimentally regulates inflammatory response in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2019. V. 138. № 2. P. 251–273. DOI: 10.1007/s00401-019-02013-z
60. Soares. L.C., Al-Dalahmah O., Hillis J., et al. Novel Galectin-3 Roles in Neurogenesis, Inflammation and Neurological Diseases. *Cells.* 2021. V. 10. № 11. P. 3047–3071. DOI: 0.3390/cells10113047
61. Lalancette-Hebert M., Swarup V., Beaulieu J.M., et al. Galectin-3 is required for resident microglia activation and proliferation in response to ischemic injury. *J. Neurosci.* 2012. V. 32. № 30. P. 10383–10395. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1498-12.2012
62. Li P., Liu S., Lu M., et al. Hematopoietic derived galectin-3 causes cellular and systemic insulin resistance. *Cell.* 2016. V. 167. № 4. P. 973–984.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.025
63. Mostacada K., Oliveira F.L., Villa-Verde D.M.S., et al. Lack of galectin-3 improves the functional outcome and tissue sparing by modulating inflammatory response after a compressive spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 2015. V. 271. P. 390–400. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.07.006
64. Pasmazi E., Papadionysiou C., Monastirli A., et al. Galectin 3: an extraordinary multifunctional protein in dermatology. Current knowledge and perspectives. *An. Bras. Dermatol.* 2019. V. 94. № 3. P. 348–354. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20198426
65. Hara A., Niwa M., Noguchi K., et al. Galectin-3 as a Next-Generation Biomarker for Detecting Early Stage of Various Diseases. *Biomolecules.* 2020. V. 10. P. 389–408. DOI: 10.3390/biom10030389

Information about the authors

Natalia N. Zybina – Ph.D. (Biol.), Professor, Head Department of Laboratory Diagnostics

Olga V. Tikhomirova – Ph.D. (Med.), Associate Professor, Head Department of Clinical Neurology and Sleep Medicine

Elena A. Kulikova – Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics

Polina L. Prischep – Pediatric Oncologist

Nikolai E. Kushlinskii – Ph.D. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head Laboratory of Clinical Biochemistry

The article was submitted 21.02.2023

Approved after reviewing 21.02.2023

Accepted for publication 17.04.2023

Обзорная статья
УДК 616-079; 616-071; 340.1
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-02>

Биомаркеры как инструмент медико-биологического мониторинга и контроля (Обзор литературы. Часть 1)

Г.А. Тихонова¹, О.В. Котов², А.А. Маркин³

¹⁻³ ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации –
Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (Москва, Россия)

³ andre_markine@mail.ru

Аннотация

Постановка проблемы. Актуальной задачей современной медицинской науки является поиск средств, обеспечивающих диагностику и прогноз состояния организма человека при различных патологиях, оценку эффективности терапевтических мероприятий, а также мониторинг донозологических процессов, имеющих предиктивное значение. Такими средствами стали биомаркеры – специфично и количественно определяемые объективные индикаторы физиологических и патологических процессов в организме на разных уровнях его интеграции. Несмотря на то, что биомаркеры широко используются в клинической, экспериментальной, авиакосмической, морской, экологической, спортивной, возрастной медицине, медицине катастроф, фармакологии и многих других отраслях, настоятельной необходимостью является разработка и внедрение новых, высокоинформативных биомаркеров с учетом вызовов, стоящих перед человечеством.

Цель работы – систематизация имеющихся данных о различных классах биомаркеров и возможностях их применения в интересах медико-биологических наук, а также в практике клинической медицины.

Результаты. На основе имеющейся международной классификации показано множество категорий биомаркеров в медико-биологической и клинической версиях. Определены их свойства и области применения. Сделан акцент на возможностях применения биомаркеров в медицине.

Практическая значимость. Данные, представленные в обзоре, могут послужить базисом для планирования медико-биологических, клинических и фармакологических исследований в части оценки и прогнозирования эффектов изучаемых феноменов.

Ключевые слова

Биомаркеры, классификации биомаркеров, свойства биомаркеров, клиническая медицина, космическая медицина и физиология

Работа финансировалась за счет темы РАН № 65.1

Для цитирования

Тихонова Г.А., Котов О.В., Маркин А.А. Биомаркеры как инструмент медико-биологического мониторинга и контроля (Обзор литературы. Часть 1) // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 18–26. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-02>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Термин «биологический маркер» («биомаркер») был впервые введен Национальной академией наук США (USNRC) в 1989 г. при проведении исследований по биологическому мониторингу населения [1] и применялся в широком диапазоне значений как качественный показатель, характеризующий взаимодействие между биологической системой и потенциально опасным для нее агентом.

Однако позднее стало очевидно, что этот «ключ» может использоваться в различных медицинских и/или биологических системах, где необходимо подчеркнуть роль причинно-значимых связей. Поиск индикатора, позволившего бы не только идентифицировать эти связи, но и стать их точным диагностическим маркером, обусловил активный интерес научно-практического сообщества к данной теме. Последующие десятилетия охарактеризовались появлением целого каскада различных диагностических агентов в клинической медицине, физиологии, экспериментальных медико-биологических науках, а также экологии, которые в большей или меньшей степени соответствовали поставленным перед ними задачам. Предложенный научно-практическому сообществу спектр маркеров требовал системного анализа и формирования единого методологического подхода. В этой связи, ведущими международными организациями в области медицины и здоровья населения принято решение найти и обозначить основ-

ные критерии использования маркеров в целях формирования концепции их научно-практического использования.

Ц е л ь р а б о т ы – систематизация имеющихся данных о различных классах биомаркеров и возможностях их применения в интересах медико-биологических наук, а также в практике клинической медицины.

Определение и классификации биомаркеров

В 2001 г. консенсус экспертов рабочей группы Национального института здоровья (США), специалистов Международной программы по химической безопасности (ВОЗ) и Международной организацией труда (МОТ), при содействии ООН *биомаркер* (БМ) был определен как измеряемый и поддающийся количественному определению объективный индикатор естественного и патологического биологического процесса и/или фармакологического ответа на терапевтические вмешательства на разных уровнях организменной и популяционной интеграции, который может быть использован для прогнозирования частоты исхода или заболевания.

Биомаркеры было предложено разделить на несколько категорий [2]:

1. БМ подверженности (риска) заболевания – показатель, свидетельствующий о потенциальной возможности развития клинического состояния или заболевания у человека, не имеющего на данный момент никаких проявлений этого состояния/заболевания.

2. Диагностический БМ – показатель, позволяющий идентифицировать или подтвердить наличие клинического состояния или заболевания, или определить лиц с тем или иным подтипом заболевания.

3. Мониторующий БМ – показатель, который измеряется серийно и позволяет оценить течение заболевания или динамику клинического состояния, а также подтвердить воздействие (эффект) того или иного вмешательства.

4. Прогностический БМ – показатель, оценивающий вероятность развития клинического события, рецидива или прогрессирования заболевания у пациентов с уже диагностированным клиническим состоянием или заболеванием.

5. Предиктивный БМ – показатель идентификации пациентов, у которых благоприятный или неблагоприятный эффект какого-либо вмешательства можно прогнозировать с большей вероятностью по сравнению с теми, у кого тест (маркер) отрицательный.

6. БМ фармакологического ответа (фармакодинамический БМ) – показатель, отражающий формирование биологической реакции в ответ на фармакологическое воздействие.

7. БМ безопасности – показатель, измеряемый до и/или после вмешательства с целью оценки вероятности, наличия и/или степени токсичности этого вмешательства и/или другие нежелательные реакции организма.

В Клинической версии классификации выделено три типа БМ:

1. Тип 0 – описывает течение заболевания и коррелирует с основными клиническими показателями данной патологии.

2. Тип I – характеризует эффективность лечения с учетом механизмов действия лекарственного средства.

3. Тип II – описывает суррогатные конечные точки, используемые для оценки эффективности или вреда фармакологического вмешательства.

Еще одним важным результатом деятельности рабочей группы явилось создание глоссария *Biomarkers, EndpointS, and other Tools (BEST) Resource*. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/23.03.2023> 16-20), стандартизирующего подходы в терминологии и в значительной степени упрощающего научно-практическое взаимодействие специалистов, работающих с БМ.

В системе «человек – окружающая среда» БМ традиционно использовались как индикаторы экспозиции, чувствительности и эффекта [3], что актуально и в настоящее время.

Биомаркеры экспозиции позволяют оценивать и параметризовать связи типа «внешняя экспозиция – внутренняя доза – концентрация вещества в биосреде» и применяются, например, при оценке влияния загрязнений окружающей среды на организм человека [4].

Биомаркеры чувствительности – это индикатор врожденной или приобретенной способности человека реагировать на экспозиционное воздействие чужеродного вещества. Определение БМ чувствитель-

ности иллюстрирует риск развития у человека токсической реакции на присутствие в окружающей среде вредного вещества [5].

Биомаркеры эффекта количественно характеризуют биохимические, физиологические, поведенческие или иные изменения в организме, в зависимости от степени выраженности которых определяется фактическое или потенциальное нарушение здоровья, или развитие болезни. При этом, специфические БМ указывают на биологический эффект конкретного фактора или группы факторов; неспецифические БМ отражают общий комплексный результат комбинированного воздействия маркеров [6].

Области применения биомаркеров

Биомаркеры нашли применение [7, 8]:

в клинической практике как критерий в оценке наличия или отсутствия заболевания, а также для определения степени его тяжести и успешности терапии;

в клинических исследованиях для разделения пациентов на группы;

в биологических экспериментах с целью оценки пригодности доклинических моделей на животных;

в фармакологических исследованиях на этапах разработки, при поиске механизмов действия лекарственных препаратов, в оценке их эффективности, а также безопасности/токсичности, анализе и регистрации биоаналоговых средств;

во всех вышеперечисленных как диагностический, либо сопутствующий диагностике параметр.

В настоящее время эксперты Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (U.S. Food and Drug Administration – FDA) рассматривают БМ в широком значении как показатели, которые можно определить (измерить) и которые служат индикаторами метаболизма в нормальных биологических/физиологических условиях, патогенетических процессов или биологических ответов на любое вмешательство, включая медикаментозную и немедикаментозную терапию.

FDA выделено четыре категории БМ, которые должны использоваться при разработке новых лекарственных средств: прогностические, предиктивные, фармакологические и «суррогатные» (конечные) точки (CDER Biomarker Qualification Program <https://www.fda.gov/drugs/drug-development-tool-ddt-qualification-programs/biomarker-qualification-program> 15.01.2022 9-24).

Точки клинической эффективности (конечные и суррогатные точки) применяют для оценки эффективности медицинского вмешательства. При этом конечные точки представляют собой достоверный индикатор вмешательства (меры исхода диагностического, лечебного либо иного), и, конечно, исследования с использованием данного критерия в роли индикатора эффективности всегда наиболее объективны [9]. Однако особенности измерения конечных точек значительно усложняют процедуру проведения исследования.

Суррогатные точки основаны на БМ и могут быть сравнительно легко измерены, что делает их более удобными. Выбор этих точек – непростая проблема, поскольку адекватность замены должна гарантировать и определять достоверность полученных результатов, т.е. для получения достоверных результатов связь между суррогатной и конечной точками должна быть доказана, в том числе при их изменении в ходе исследования, что является сложной и не всегда достижимой задачей [10]. Метод систематизации БМ с использованием точек клинической эффективности применительно к общим процессам жизнедеятельности организма предложен Е.С. Дон и соавт. [11].

Постановка вопроса выделения БМ как постоянных и точных индикаторов контроля обусловила появление большого числа исследуемых параметров, но не упорядочила проблемы систематизации.

В настоящее время термин «БМ» используется во всем разнообразии формулировок, которые охватывают практически любые регистрирующие или визуализирующие методики, а концептуальная модель БМ становится стандартом применения в медицине и биологии.

Свойства биомаркеров

Для всех БМ, определяющихся в биологических жидкостях организма человека, принято выделять следующие свойства:

1) *специфичность* – предпочтительно, чтобы БМ являлся индивидуальной характеристикой конкретного процесса и не был подвержен влиянию других внутренних или внешних факторов;

- 2) *заменяемость* – мониторинг исследуемого процесса может быть осуществлен равнозначными БМ;
- 3) *практичность* – наличие однозначной методики измерения позволит снизить (или избежать) вероятность возникновения погрешностей;
- 4) *валидность* – доказанная объективность отражения исследуемого процесса (физиологического, патологического, токсикологического и др.) или клинического явления, измеренная в системе аналитического теста с качественными характеристиками.

Кроме того, БМ должны отличаться точностью, надежностью, не зависеть от возрастных, расовых и гендерных различий, а также способствовать возникновению однозначности мнений при интерпретации полученных данных [12].

Использование биомаркеров в медицине

В медицине БМ активно используют при ранней диагностике субклинических заболеваний и патогенетически значимых синдромов [13, 14] при определении степени риска [15–17], мониторинге заболевания и таргетировании терапии [18, 19].

Иллюстративным примером внедрения БМ в современный лабораторно-диагностический процесс является применение маркера бактериального воспаления прокальцитонина (ПКТ). В настоящее время ПКТ рассматривается как показатель воспалительного процесса [20], превосходит по чувствительности маркеры воспаления СРБ и ИЛ-6, является обязательным при оценке качества специализированной медицинской помощи [21], а также входит в алгоритмы медицинских лабораторных тестов Федеральных Клинических рекомендаций по оказанию медицинской помощи многих заболеваний, сопровождающихся воспалением [22, 23].

Научные исследования и открытия в области молекулярной биологии и медицины последнего десятилетия ознаменовались поиском новых БМ, способных уточнить природу физиологических феноменов и, в частности, старения организма. Согласно теории инфламейджинга (англ. *inflammation* – «воспаление» и *aging* – «старение»), старение и развитие возраст-ассоциированных заболеваний являются следствием хронического прогрессирующего генерализованного воспалительного процесса низкой интенсивности. Изучение секреции стареющими клетками ряда биологически активных факторов (белков, молекул и их комбинаций) позволили выделить «секреторный фенотип» старения [24] и доказать, что персистенция этих элементов способна вызывать и/или усугублять возраст-ассоциированные патологические изменения дегенеративного и гиперпластического характера [25, 26], а также разработать новую стратегию лечения посредством использования «сенолитиков». Исследование механизмов иммунитета в рамках концепции воспалительного старения позволили предложить инструмент использования части паттерн-распознающих рецепторов как БМ для формулирования подходов к изучению механизмов развития и роли иммуностарения, а также интервенционных мишеней при возрастной патологии [27].

Вызов последних лет – пандемия коронавирусной инфекции. Коронавирусная инфекция (COVID-19), обусловленная коронавирусом SARS-CoV-2, привела к большому числу заболевших и летальных исходов на всей планете. Глобальная систематизация научно-практических данных позволила выделить несколько групп БМ, характеризующих новое заболевание: иммуновоспалительные (СРБ, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), количество лейкоцитов, лимфоцитов, интерлейкинов (ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10), ферритина; БМ повреждения (тропонины Т и I (ТнТ/И), креатининфосфокиназа (КФК) и КФК-МВ, миоглобин, мозговой натрийуретический пептид (NT-proBNP), коагуляционные (фибриноген, D-димер, тромбоциты), патофизиологические – имеющие патогенетическое обоснование, но требующие расширения доказательной базы: ангиотензин (АТ)-II, стимулирующий фактор роста, экспрессирующийся геном 2 – sST2 (growth stimulation expressed gene 2 или ST2), гомоцистеин, аламандин [28–30]. Выделение БМ у пациентов с наличием сердечно-сосудистой патологии позволило стратифицировать тяжесть течения заболевания и госпитализацию в терапевтические или реанимационные отделения, прогнозировать интубацию и смертность [31].

Поиск новых диагностических и прогностических БМ сердечно-сосудистых заболеваний – одно из наиболее быстро развивающихся направлений современных научно-практических исследований. Так, NT-proBNP в последние годы рассматривается в качестве одного из основных маркеров миокардиального стресса, используемый как при острой, так и при хронической сердечной недостаточности, а также при остром коронарном синдроме [32]. Другими веществами, претендующими на роль БМ

сердечно-сосудистых событий, представляются интерлейкин-6, миелопероксидаза, растворимый лиганд CD-40 [33], а также miRNA (microRNA, микроРНК) – одноцепочечные некодирующие молекулы РНК, длиной 18–25 нуклеотидов (в среднем – 22). Идентифицировано несколько групп микроРНК, которые считаются наиболее перспективными БМ в ранней диагностике сердечно-сосудистой патологии [34, 35], но ни для одной из них пока не доказана абсолютная кардиоспецифичность. Поэтому, рассматривая большой перечень предлагаемых сердечно-сосудистых БМ, в клинической практике следует ориентироваться на кардиоспецифические маркеры, одобренные авторитетными международными организациями, в высокой степени гарантирующими целесообразность и безопасность их использования [36].

Немаловажное значение придается поискам БМ для оценки токсичности при влиянии на репродуктивную систему. Традиционно, в качестве неинвазивных маркеров нарушения сперматогенеза обычно используют лютеинизирующий гормон (ЛГ), тестостерон, фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), но все они, к сожалению, обладают низкой чувствительностью. В последние годы с этой целью начал активно использоваться ингибин В [37].

Продолжается активный научный и клинический поиск БМ травматического, токсического и метаболического поражения нервной системы [38–40]. Однако, несмотря на обширные исследования в данной области, в настоящее время нет надежных БМ поражения центральной нервной системы (ЦНС), поскольку на данный момент нет ни одного из них, удовлетворяющего всем характеристикам стандартного маркера, и будущее, скорее всего, принадлежит разработке геномных и протеомных микрочипов, а также комплексным тестам.

Особое значение придается БМ в трансляционной медицине. Правильный выбор оценочного критерия на каждом этапе исследования от разработки научной гипотезы и до практического использования является залогом клинической эффективности исследуемого ресурса, снижения уровня медикаментозных рисков и целесообразности финансово-экономических вложений [41–43].

В космической медицине использование высокоточных маркеров и, что особенно важно, БМ повреждения кардиомиоцитов, репродуктивной системы и ЦНС сможет внести неоценимый вклад в диагностику сердечно-сосудистой патологии, контроль физических тренировок космонавтов и работу в экстремальных условиях (внекорабельная деятельность, работа на поверхности космических тел (планет и астероидов), а также стратифицировать риски во время космических миссий различной продолжительности.

Поиск и определение места БМ в космической медицине и физиологии только начинается. Следует предположить, что здесь, помимо общепринятых требований, БМ должны обладать набором специальных характеристик: по возможности, быть неинвазивными (или малоинвазивными), определяться в легкодоступных биологических средах (моча, слюна, пот, кровь), иметь стабильный уровень в норме и отражать степень физиологических и медицинских изменений в диапазоне «доклинические – клинически значимые колебания». Кроме того, при поиске таких БМ следует учитывать перспективы использования обобщенных маркеров, полученных в экспериментальных исследованиях и на практике – в интересах развития и совершенствования трансляционной медицины [41].

Учитывая, что для изучения космического пространства и жизнедеятельности в нем биологических объектов принципиальное значение имеет гипогравитация, особые требования предъявляются к условиям работы и разработке аппаратуры. Ограниченность бортовых ресурсов (водо- и электрообеспечение, микроклимат, расходные материалы и пр.) создает дополнительные трудности в лабораторном оснащении миссий, и большая часть нагрузки приходится на крупные исследовательские центры.

Что касается применимости существующих БМ и вероятном открытии новых при освоении дальнего космоса, то диапазон научных открытий будет напрямую зависеть от технической оснащенности космических аппаратов. Вероятно, на ранних этапах развития этого раздела космонавтики всесторонний анализ биоматериала будет также возможен только на Земле. Поэтому разработка стабильных и нетоксичных систем хранения и стабилизации биообразцов, создание стационарной и портативной аппаратуры с особыми характеристиками (герметичность, малогабаритность, низкий вес, высокая прочность, надежность и пр.) являются перспективными задачами биотехнологов и биоинженеров космической отрасли на ближайшие десятилетия.

Заключение

Использование БМ в различных областях научных и практических знаний становится традиционной процедурой. Способность БМ служить индикаторами различных патофизиологических состояний и описывать сложные функции организма общепризнанными и точными характеристиками придает им также уникальный исследовательский потенциал. Области применения БМ неуклонно расширяются, затрагивая все большие сферы деятельности человека. Внедрение БМ в космическую медицину способно стать одним из самых наукоемких и перспективных направлений в развитии биомедицинских технологий будущего.

Список источников

1. Biologic markers in reproductive toxicology. Washington, DC: The National Academy Press. 1989. 420 p.
2. Biomarkers Definition Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2001. V. 69. № 3. P. 89–95.
3. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. IPCS. Environmental health criteria 155. Geneva: WHO. 1993. 82 p.
4. Маркова О.Л., Шилов В.В., Кузнецов А.В., Метелица Н.Д. Сравнительная оценка подходов к проблеме биомониторинга здоровья человека отечественных и зарубежных исследователей (обзор литературы) // *Гигиена и санитария*. 2020. Т. 99. № 6. С. 545–550.
5. Пономарёва Н.Ю., Митьковский В.Г., Ямпольская Е.Н., Кочетков А.В. Генетические исследования для медицины экстремальных ситуаций (обзор литературы) // *Медицина экстремальных ситуаций*. 2017. Т. 4. № 62. С. 63–74.
6. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Чащин В.П., Гудков А.Б. Научные принципы применения биомаркеров в медико-экологических исследованиях (обзор литературы) // *Экология человека*. 2019. № 9. С. 4–14.
7. Hess S., Ozoux M.L., Gerl M. Biomarker Definition and Validation During Drug Development // *Vogel H.G., Maas J., Gebauer A. (eds) Drug Discovery and Evaluation: Methods in Clinical Pharmacology*. Berlin: Springer. 2011. P. 223–244.
8. Dancey J.E., Dobbin K.K., Groshen S., Jessup J.M. et al. Guidelines for the development and incorporation of biomarker studies in early clinical trials of novel agents // *Clin. Cancer Res*. 2010. V. 16. № 6. P. 1745–1755.
9. Strimbu K., Tavel J.A. What are Biomarkers? // *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2010. V. 5. № 6. P. 463–466.
10. Atkinson A.J., Colburn W., Degrutta V. et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definition and conceptual framework // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001. V. 69. № 3. P. 89–95.
11. Дон Е.С., Тарасов А.В., Эшттейн О.И., Тарасов С.А. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017. V. 62. № 1. P. 52–59.
12. Wang J., Balu N., Canton G. et al. Imaging biomarkers of cardiovascular disease // *J. Magn. Reson. Imaging*. 2010. V. 32. № 2. P. 502–515.
13. Çintesun E., Akar S., Gul A., Çintesun F.N.I. et al. Subclinical inflammation markers in hyperemesis gravidarum and ketonuria: A case-control study // *J. Lab. Physicians*. 2019. V. 11. № 2. P. 149–153.
14. Cowie M.R., Struthers A.D., Wood D.A., Coats A.J. et al. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care // *The Lancet*. 1997. V. 350. № 9088. P. 1349–1353.
15. Anderson J.L., Adams C.D., Antman E.M., Bridges C.R. et al. ACC/AHA 2007 Guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction // *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. V. 50. № 7. P. e1–e157.
16. Wang J., Tang B., Liu X., et al. Increased monomeric CRP levels in acute myocardial infarction: a possible new and specific biomarker for diagnosis and severity assessment of disease // *Atherosclerosis*. 2015. V. 239. № 2. P. 343–349.
17. Сабиров И.С., Муркамилов И.Т., Фомин В.В., Сабирова А.И. Прогностическое значение D-димера в развитии тромбоэмболических осложнений при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // *The Scientific Heritage*. 2021. V. 60. № 2. P. 38–46.
18. Миняева Р.К., Баталова Г.Ю., Сахатудинова И.В., Гулязова И.Р. Геномные и протеомные маркеры и перспективы их использования при раке шейки матки // *Креативная хирургия и онкология*. 2021. Т. 11. № 2. С. 166–173.
19. Сокова Е.А., Архипов В.В., Мазеркина И.А., Муслимова О.В. Некоторые аспекты оценки лекарственного поражения почек // *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2020. Т. 8. № 3. С. 123–133.
20. De Jong E., van Oers J.A., Beishuizen A., et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial // *Lancet Infect Dis*. 2016. V. 16. P. 819–827.
21. Приказ МЗ РФ № 520н об утверждении критериев качества оценки медицинской помощи от 15 июля 2016 года.
22. Клинические рекомендации МЗ РФ. Внебольничная пневмония у взрослых. 2021. 126 с.
23. Клинические рекомендации МЗ РФ. Воспалительные болезни женских тазовых органов. 2021. 46 с.
24. Coppé J.P., Desprez P.Y., Krtolica A., Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression // *Ann. Rev. Pathol.* 2010. № 5. P. 99–118.
25. Несмиянов П.П., Джайн М., Рахматуллин Т.И., Буравлева К.В., Середенина Е.М., Самоходская Л.М. Цитокиновый профиль эритроцитов периферической крови пациентов с ишемической болезнью сердца и хронической сердечной недостаточностью // *Технологии живых систем*. 2022. Т. 19. № 4. С. 33–41.
26. Chinta S.J., Woods G., Rane A., Demaria M. et al. Cellular senescence and the aging brain // *Exp. Gerontol*. 2015. V. 68. P. 3–7.
27. Артемьева О.В., Ганковская Л.В. Воспалительное старение как основа возраст-ассоциированной патологии // *Медицинская иммунология*. 2020. Т. 22. № 30. С. 419–432.
28. Ciaccio M., Agnello L. Biochemical biomarkers alterations in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) // *Diagnosis (Berl)*. 2020. V. 7. № 4. P. 365–372.

29. Yang Z., Shi J., He Z., et al. Predictors for imaging progression on chest CT from coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients // *Aging*. 2020. V. 12. P. 6037–6048.
30. Гончарова А.Г., Тихонова Г.А., Гончаров И.Н. Роль кардиальных маркеров в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний после перенесенного SARS-CoV-2 // *Технологии живых систем*. 2022. Т. 19. № 4. С. 42–51.
31. Santoso A., Pranata R., Wibowo A., et al. Cardiac injury is associated with mortality and critically ill pneumonia in COVID-19: a meta-analysis // *Am. J. Emerg. Med.* 2021. V. 44. P. 352–357.
32. Zagidullin N., Motloch L.J., Gareeva D., et al. Combining Novel Biomarkers for Risk Stratification of Two-Year Cardiovascular Mortality in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction // *J. Clin. Med.* 2020. V. 9. № 2. P. 550.
33. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Биомаркеры острого инфаркта миокарда: диагностическая и прогностическая ценность. Часть 2 (обзор литературы) // *Клиническая практика*. 2020. Т. 11. № 4. С. 70–82.
34. Chaulin A.M., Duplyakov D.V. MicroRNAs in Atrial Fibrillation: Pathophysiological Aspects and Potential Biomarkers // *International Journal of Biomedicine*. 2020. V. 10. № 3. P. 198–205.
35. Jiwei Gu, Chunlian Liu, Yun Wang, Zhenghao Huo. miRNA and Cardiac Hypertrophy // *Science Insights*. 2019. V. 28. № 1. P. 17–24.
36. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Валидные кардиоспецифические биохимические маркеры. Часть I // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020. Т. 19. № 4. С. 2573–2629.
37. Лихонос Н.П., Аюб А.Х., Бабенко А.Ю., Боровец С.Ю. Роль ингибина в регуляции сперматогенеза и его клиническая значимость при мужском бесплодии // *Урологические ведомости*. 2019. Т. 9. № 1. С. 39–45.
38. Шай А.Н., Федулова М.В., Качева Ю.Е., Шигеев С.В. и др. Значение белков-маркеров нервной ткани для морфологической диагностики черепно-мозговой травмы // *Судебно-медицинская экспертиза*. 2017. Т. 60. № 4. С. 40–45.
39. Roberts R.A., Aschner M., Calligaro D. et al. Translational biomarkers of neurotoxicity: Health and Environmental Sciences Institute perspective on the way forward // *Toxicol. Sci.* 2015. V. 148. № 2. P. 332–340.
40. O'Callaghan J.P., Sriram K. Glial fibrillary acidic protein and related glial proteins as biomarkers of neurotoxicity // *Expert Opin. Drug Saf.* 2005. V. 4. № 3. 433–442.
41. Осипова Т.В., Бухман В.М. Биомаркеры трансляционной медицины // *Российский биотерапевтический журнал*. 2018. Т. 17. № 1. С. 6–13.
42. Roberts R.A., Aschner M., Calligaro D. et al. Translational biomarkers of neurotoxicity: Health and Environmental Sciences Institute perspective on the way forward // *Toxicol. Sci.* 2015. V. 148. № 2. P. 332–340.
43. Кочетов А.Г., Лянг О.В., Жирова И.А. и др. Лабораторные исследования в медицине // *Терапевтический архив*. 2020. Т. 92. № 4. С. 4–8.

Информация об авторах

Гелена Александровна Тихонова – к.м.н., ст. науч. сотрудник,
лаборатория разработки и реализации медико-биологических программ
SPIN-код: не представлен

Олег Валериевич Котов – к.м.н., зам. директора, летчик-космонавт Российской Федерации, Герой России
SPIN-код: не представлен

Андрей Аркадьевич Маркин – к.м.н., доцент, вед. науч. сотрудник,
зав. лабораторией медицинской биохимии и нейроэндокринологии
SPIN-код: 8547-1248

Статья поступила в редакцию 04.03.2023

Одобрена после рецензирования 27.03.2023

Принята к публикации 17.04.2023

Review article

Biomarkers in the practice of biology and medicine (Literature review. Part 1)

G.A. Tikhonova¹, O.V. Kotov², A.A. Markin³

¹⁻³ Federal State Budgetary Institution of Science State Scientific Center of the Russian Federation – Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

³ andre_markine@mail.ru

Abstract

An urgent task of modern medical science is the search for tools that provide diagnosis and prognosis of the human body in various pathologies, evaluation of the effectiveness of therapeutic measures, as well as monitoring of prenosological processes that have predictive value. Biomarkers have become such means – specifically and quantitatively determined objective indicators of physiological and pathological processes in the body at different levels of its integration. Despite the fact that biomarkers are widely used in clinical, experimental, aerospace, marine, environmental, sports, age-related medicine, disaster medicine, pharmacology and many other industries, it is imperative to develop and implement new, highly informative biomarkers taking into account the challenges facing humanity. The paper systematizes the available data on various classes of biomarkers and the possibilities of their application in the interests of biomedical sciences, as well as in the practice of clinical medicine. Based on the existing international classification, the whole set of categories of biomarkers in biomedical and clinical versions is shown. Their properties and areas of application are determined. Emphasis is placed on the possibilities of using biomarkers in medicine. The data presented in the review can serve as a basis for planning biomedical, clinical and pharmacological studies in terms of assessing and predicting the effects of the studied phenomena.

Keywords

Biomarkers, classifications of biomarkers, properties of biomarkers clinical medicine, space medicine and physiology

For citation

Tikhonova G.A., Kotov O.V., Markin A.A. Biomarkers in the practice of biology and medicine (Literature review. Part 1). Technologies of Living Systems. 2023. V. 20. № 2. P. 18–26. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-02> (In Russian)

References

1. Biologic markers in reproductive toxicology. Washington, DC: The National Academy Press. 1989. 420 p.
2. Biomarkers Definition Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2001. V. 69. № 3. P. 89–95.
3. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. IPCS. Environmental health criteria 155. Geneva: WHO. 1993. 82 p.
4. Markova O.L., Shilov V.V., Kuznetsov A.V., Metelitsa N.D. Sravnitel'naya otsenka podkhodov k probleme biomonitoringa zdorovia cheloveka otechestvennykh i zarubezhnykh issledovateley (obzor literatury). *Gigiyena i sanitariya*. 2020. T. 99. № 6. S. 545–550. (in Russian).
5. Ponomareva N.Yu., Mitkovskiy V.G., Yampolskaya E.N., Kochetkov A.V. Geneticheskiye issledovaniya dlya meditsiny ekstremalnykh situatsiy (obzor literatury). *Meditsina ekstremalnykh situatsiy*. 2017. T. 4. № 62. S. 63–74. (in Russian).
6. Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Chashchin V.P., Gudkov A.B. Nauchnyye printsipy primeneniya biomarkerov v mediko-ekologicheskikh issledovaniyakh (obzor literatury). *Ekologiya cheloveka*. 2019. № 9. S. 4–14. (in Russian).
7. Hess S., Ozoux M.L., Gerl M. Biomarker Definition and Validation During Drug Development. Vogel H.G., Maas J., Gebauer A. (eds) *Drug Discovery and Evaluation: Methods in Clinical Pharmacology*. Berlin: Springer. 2011. P. 223–244.
8. Dancy J.E., Dobbin K.K., Groshen S., Jessup J.M. et al. Guidelines for the development and incorporation of biomarker studies in early clinical trials of novel agents. *Clin. Cancer Res.* 2010. V. 16. № 6. P. 1745–1755.
9. Strimbu K., Tavel J.A. What are Biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2010. V. 5. № 6. P. 463–466.
10. Atkinson A.J., Colburn W., Degrutta V. et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definition and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001. V. 69. № 3. P. 89–95.
11. Don E.S., Tarasov A.V., Epshteyn O.I., Tarasov S.A. Biomarkery v meditsine: poisk. vybor. izucheniye i validatsiya. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017. V. 62. № 1. S. 52–59. (in Russian).
12. Wang J., Balu N., Canton G. et al. Imaging biomarkers of cardiovascular disease. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2010. V. 32. № 2. P. 502–515.
13. Çintesan E., Akar S., Gul A., Çintesan F.N.I. et al. Subclinical inflammation markers in hyperemesis gravidarum and ketonuria: A case-control study. *J. Lab. Physicians*. 2019. V. 11. № 2. P. 149–153.
14. Cowie M.R., Struthers A.D., Wood D.A., Coats A.J. et al. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care. *The Lancet*. 1997. V. 350. № 9088. P. 1349–1353.
15. Anderson J.L., Adams C.D., Antman E.M., Bridges C.R. et al. ACC/AHA 2007 Guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. V. 50. № 7. P. e1–e157.
16. Wang J., Tang B., Liu X., et al. Increased monomeric CRP levels in acute myocardial infarction: a possible new and specific biomarker for diagnosis and severity assessment of disease. *Atherosclerosis*. 2015. V. 239. № 2. P. 343–349.
17. Sabirov I.S., Murkamilov I.T., Fomin V.V., Sabirova A.I. Prognosticheskoye znachenie D-dimera v razvitiy tromboembolicheskikh oslozhneniy pri novoy koronavirusnoy infektsii (COVID-19). *The Scientific Heritage*. 2021. V. 60. № 2. P. 38–46. (in Russian).
18. Minyazeva R.K., Batalova G.Yu., Sakhautdinova I.V., Gilyazova I.R. Genomnyye i proteomnyye markery i perspektivy ikh ispolzovaniya pri rake sheyki matki. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*. 2021. T. 11. № 2. C. 166–173. (in Russian).

19. Sokova E.A., Arkhipov V.V., Mazerkina I.A., Muslimova O.V. Nekotoryye aspekty otsenki lekarstvennogo porazheniya pochek. Bezopasnost i risk farmakoterapii. 2020. T. 8. № 3. S. 123–133. (in Russian).
20. De Jong E., van Oers J.A., Beishuizen A., et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infect Dis.* 2016. V. 16. P. 819–827.
21. Prikaz MZ RF № 520n ob utverzhdenii kriteriyev kachestva otsenki meditsinskoy pomoshchi ot 15 iyulya 2016 goda. (in Russian).
22. Klinicheskiye rekomendatsii MZ RF. Vnebolnichnaya pnevmoniya u vzroslykh. 2021. 126 c. (in Russian).
23. Klinicheskiye rekomendatsii MZ RF. Vospalitelnyye bolezni zhenskikh tazovykh organov. 2021. 46 c. (in Russian).
24. Coppé J.P., Desprez P.Y., Krtolica A., Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Ann. Rev. Pathol.* 2010. № 5. P. 99–118.
25. Nesmiyanov P.P., Dzhayn M., Rakhmatullin T.I., Buravleva K.V., Seredenina E.M., Samokhodskaya L.M. Tsitokinovyy profil eritrotsitov perifericheskoy krovi patsiyentov s ishemiceskoy boleznyu serdtsa i khronicheskoy serdechnoy nedostatochnostyu. *Tekhnologii zhivyykh sistem.* 2022. T. 19. № 4. S. 33–41. (in Russian).
26. Chinta S.J., Woods G., Rane A., Demaria M. et al. Cellular senescence and the aging brain. *Exp. Gerontol.* 2015. V. 68. P. 3–7.
27. Artemyeva O.V., Gankovskaya L.V. Vospalitelnoye stareniye kak osnova vozrast-assotsirovannoy patologii. *Meditsinskaya immunologiya.* 2020. T. 22. № 30. S. 419–432. (in Russian).
28. Ciaccio M., Agnello L. Biochemical biomarkers alterations in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Diagnosis (Berl).* 2020. V. 7. № 4. P. 365–372.
29. Yang Z., Shi J., He Z., et al. Predictors for imaging progression on chest CT from coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. *Aging.* 2020. V. 12. P. 6037–6048.
30. Goncharova A.G., Tikhonova G.A., Goncharov I.N. Rol kardialnykh markerov v diagnostike serdechno-sosudistykh zabolevaniy posle perenesennogo SARS-CoV-2. *Tekhnologii zhivyykh sistem.* 2022. T. 19. № 4. S. 42–51. (in Russian).
31. Santoso A., Pranata R., Wibowo A., et al. Cardiac injury is associated with mortality and critically ill pneumonia in COVID-19: a meta-analysis. *Am. J. Emerg. Med.* 2021. V. 44. P. 352–357.
32. Zagidullin N., Motloch L.J., Gareeva D., et al. Combining Novel Biomarkers for Risk Stratification of Two-Year Cardiovascular Mortality in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction. *J. Clin. Med.* 2020. V. 9. № 2. P. 550.
33. Chaulin A.M., Duplyakov D.V. Biomarkery ostrogo infarkta miokarda: diagnosticheskaya i prognosticheskaya tsennost. Chast 2 (obzor literatury). *Klinicheskaya praktika.* 2020. T. 11. № 4. C. 70–82. (in Russian).
34. Chaulin A.M., Duplyakov D.V. MicroRNAs in Atrial Fibrillation: Pathophysiological Aspects and Potential Biomarkers. *International Journal of Biomedicine.* 2020. V. 10. № 3. P. 198–205.
35. Jiwei Gu, Chunlian Liu, Yun Wang, Zhenghao Huo. miRNA and Cardiac Hypertrophy. *Science Insights.* 2019. V. 28. № 1. P. 17–24.
36. Metelskaya V.A., Gumanova N.G. Validnyye kardiospetsificheskiye biokhimicheskiye markery. Chast I. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2020. T. 19. № 4. S. 2573–2629. (in Russian).
37. Likhonosov N.P., Ayub A.Kh., Babenko A.Yu., Borovets S.Yu. Rol ingibina v regulyatsii spermatogeneza i ego klinicheskaya znachimost pri muzhskom besplodii. *Urologicheskiye vedomosti.* 2019. T. 9. № 1. S. 39–45. (in Russian).
38. Shay A.N., Fedulova M.V., Kvacheva Yu.E., Shigeyev S.V. i dr. Znachenije belkov-markerov nervnoy tkani dlya morfologicheskoy diagnostiki cherepno-mozgovoy travmy. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza.* 2017. T. 60. № 4. S. 40–45. (in Russian).
39. Roberts R.A., Aschner M., Calligaro D. et al. Translational biomarkers of neurotoxicity: Health and Environmental Sciences Institute perspective on the way forward. *Toxicol. Sci.* 2015. V. 148. № 2. P. 332–340.
40. O'Callaghan J.P., Sriram K. Glial fibrillary acidic protein and related glial proteins as biomarkers of neurotoxicity. *Expert Opin. Drug Saf.* 2005. V. 4. № 3. 433–442.
41. Osipova T.V., Bukhman V.M. Biomarkery translyatsionnoy meditsiny. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal.* 2018. T. 17. № 1. S. 6–13. (in Russian).
42. Roberts R.A., Aschner M., Calligaro D. et al. Translational biomarkers of neurotoxicity: Health and Environmental Sciences Institute perspective on the way forward. *Toxicol. Sci.* 2015. V. 148. № 2. P. 332–340.
43. Kochetov A.G., Lyang O.V., Zhirona I.A. i dr. Laboratornyye issledovaniya v meditsine. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2020. T. 92. № 4. S. 4–8. (in Russian).

Information about the authors

Gelena A. Tikhonova – Ph.D. (Med.), Senior Research Scientist

Oleg V. Kotov – Ph.D. (Med.), Deputy Director of the Institute,
Pilot-cosmonaut of the Russian Federation, Hero of Russia

Andrei A. Markin – Ph.D. (Med.), Associate Professor, Leading Research Scientist,
Head of Medical Biochemistry and Neuroendocrinology Laboratory

The article was submitted 04.03.2023

Approved after reviewing 27.03.2023

Accepted for publication 17.04.2023

Научная статья
УДК 612.821.1
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-03>

Принципиальная возможность объективной регистрации психической деятельности мозга человека на основе вейвлетного анализа электроэнцефалограммы

Е.А. Юматов¹, Л.Т. Сушкова²

¹ Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина РАН (Москва, Россия)

² Институт информационных технологий и радиоэлектроники

Владимирского государственного университета имени А.Г. и Н.Г. Столетовых (г. Владимир, Россия)

¹ eyumatov@mail.ru, ² ludm.sushkova@mail.ru

Аннотация

Постановка проблемы. Головной мозг является уникальной системной организацией в живой природе, обладающей способностью к субъективной, психической деятельности, которая проявляется в сознании, мыслях, чувствах, эмоциях, т.е. в субъективном восприятии человека самого себя и окружающего мира.

Для раскрытия природы психической деятельности мозга необходима разработка принципиально новой информационной методологии, позволяющей расшифровать в нейрофизиологических процессах проявления (паттерны) психической деятельности мозга.

Цель работы – разработка информационной технологии, экспериментальных моделей и медицинской аппаратуры для выявления психической деятельности мозга человека на основе непрерывного вейвлетного анализа электроэнцефалограммы (ЭЭГ).

Результаты. С помощью непрерывного вейвлетного преобразования ЭЭГ установлена принципиальная возможность прямой объективной регистрации различных видов психической деятельности мозга человека: осознания смыслового содержания изображения, правдивых или лживых мысленных ответов, мысленного извлечения (воспоминания) информации из памяти.

Практическая значимость. Полученные данные открывают принципиальную возможность объективного выявления психической деятельности мозга человека на основе непрерывного вейвлет-преобразования и расчёта вейвлетной энергии ЭЭГ в отдельных структурах мозга. Раскрытие механизмов психической деятельности мозга является фундаментальной общебиологической, актуальной проблемой науки, решение которой открывает широкие возможности для разработки и практического использования принципиально новых информационных технологий и аппаратурных систем.

Ключевые слова

Информационные технологии, медицинская аппаратура, электроэнцефалограмма (ЭЭГ), непрерывное вейвлет-преобразование ЭЭГ, психическая деятельность мозга, сознание, правда и ложь, память

Для цитирования

Юматов Е.А., Сушкова Л.Т. Принципиальная возможность объективной регистрации психической деятельности мозга человека на основе вейвлетного анализа электроэнцефалограммы // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 27–33. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-03>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Происхождение психической деятельности мозга остаётся одной из величайших загадок природы. Головной мозг является уникальной системной организацией в живой природе, обладающей способностью к субъективной, психической деятельности, которая проявляется в сознании, мыслях, чувствах, эмоциях, т.е. в субъективном восприятии человека самого себя и окружающего мира.

Несмотря на огромные достижения современной психофизиологии и нейрофизиологии, существующие в данных областях методы не позволяют непосредственно регистрировать и изучать паттерны психической деятельности мозга [1–6].

При использовании классических методов анализа электроэнцефалограммы (ЭЭГ) можно видеть, что ритмическая активность имеет нестационарную природу, отличается чрезвычайно высоким разнообразием формы и частотного состава, что существенно ограничивает информационные возможности традиционных методов спектрального анализа сигналов. В связи с этим возникает принципиальный вопрос – отражается ли в ЭЭГ психическая (субъективная) деятельность мозга человека?

Для раскрытия природы психической деятельности мозга необходима разработка принципиально новой информационной методологии, позволяющей расшифровать в нейрофизиологических процессах различные проявления психической деятельности мозга.

В последние годы получил развитие современный математический метод непрерывного вейвлетного анализа ЭЭГ. Непрерывное вейвлет-преобразование является оптимальным методом частотно-временного анализа нестационарных сигналов (в том числе ЭЭГ), а также служит надёжной основой для создания алгоритмов автоматического распознавания отдельных форм ритмической активности на ЭЭГ [7–12].

Ц е л ь р а б о т ы – разработка информационной технологии, экспериментальных моделей и аппаратуры для выявления психической деятельности мозга человека на основе непрерывного вейвлетного анализа ЭЭГ, при различных психических состояниях мозга: осознании визуального изображения, правдивых и лживых мысленных ответов, при субъективном воспроизведении памяти [13–23].

Описание метода непрерывного вейвлет-преобразования сигналов ЭЭГ

Запись ЭЭГ проводилась в разных структурах мозга в 10 отведениях с помощью электроэнцефалографа «Нейрон-спектр» (г. Иваново, Россия), монополярно по схеме «10 – 20» в затылочных (O2, O1), теменных (P4, P3), центральных (C4, C3), лобных (F4, F3) и височных (T4, T3) отведениях. Объединенные референтные электроды располагались на мочках ушей. Полоса фильтрации составляла 0,5...75,0 Гц, постоянная времени – 0,32 с, режекторный фильтр – 50 Гц; частота оцифровки – 200 Гц [13–23].

Метод вейвлет-преобразования позволяет проводить частотно-временной анализ ЭЭГ-сигналов, зарегистрированных у испытуемых на этапах демонстрации вопросов и мысленных ответов на них. В частности, использовалось непрерывное вейвлет-преобразование ЭЭГ в диапазоне частот от 0,5 до 30 Гц. В качестве базисной функции экспериментальным путем был выбран вейвлет Морле.

Непрерывное вейвлет-преобразование представляет собой скалярное произведение сигнала $s(t)$ и двухпараметрической вейвлет-функции $\Psi_{a,b}(t)$ выбранного вида. В качестве сигнала $s(t)$ в данном исследовании используется ЭЭГ-сигнал. Непрерывное вейвлет-преобразование сигнала $s(t)$ имеет следующий вид:

$$S_{\Psi}(a,b) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)\psi_{a,b}(t)dt,$$

где a – параметр временного масштаба, обратно пропорциональный частоте и отвечающий за ширину вейвлета; b – параметр сдвига, определяющий положение вейвлета по оси времени.

Вейвлет-функция $\Psi_{a,b}(t)$ используемого набора получается из одной математической функции Ψ путем растяжения или сжатия и последующего сдвига

$$\psi_{a,b}(t) = |a|^{-1/2} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right).$$

Выбранная вейвлет-функция Морле имеет следующее математическое выражение:

$$\varphi(t) = \exp\left(-\frac{t^2}{2}\right) \cdot \cos(5t).$$

Для получения вейвлет-спектров производилось двумерное представление трехмерной поверхности энергии вейвлет-преобразования на плоскость “частота-время” путем вычисления логарифма квадрата значения функции $S(a,b)$ для каждого масштаба и сдвига:

$$E(a,b) = \log_2\left(S(a,b)^2\right).$$

Для выравнивания амплитуд вейвлет-спектров разных испытуемых применялось нормирование энергии вейвлет-спектра к общей энергии в каждый момент времени:

$$E_n(a,b) = \frac{E(a,b)}{\int E(a,b)da}.$$

Количественная характеристика частотного диапазона определялась как усредненная энергия нормированного вейвлет-спектра в заданных частотных и временных границах:

$$P_{\Delta f \Delta t} = \int_{a \in \Delta f} \left[\int_{b \in \Delta t} E_n(a, b) db \right] da.$$

Преимуществом вейвлет-преобразования является возможность анализа спектрального состава сигнала в динамике – тем самым, исследователь в состоянии наблюдать за изменением различных частот, соответствующим тем или иным состояниям головного мозга, в течение времени наблюдения.

Полученные значения средней энергии вейвлет-спектра усреднялись для каждого испытуемого отдельно с применением критерия Уилкоксона (W). Достоверные различия находились по значениям p -уровня ниже 5% (вероятность ошибки).

Выявление в психической деятельности мозга осознания визуального изображения на основе непрерывного вейвлетного анализа ЭЭГ

Для исследования психической деятельности мозга при осознании визуального изображения разработана экспериментальная модель на базе ПК и соответствующее программное обеспечение для тестирования по ЭЭГ-показателям двух состояний деятельности мозга человека, одно из которых характеризуется субъективным, сознательным восприятием зрительного образа, другое – его отсутствием, из-за кратковременности предъявления визуального изображения [13, 14].

Как показали проведенные исследования, для осознаваемых визуальных изображений (200...300 мс) характерно присутствие пика *альфа*-ритма перед демонстрацией изображения и после него, а во время непосредственного восприятия визуального изображения активность в *альфа*-диапазоне резко падает; при неосознаваемых изображениях (~0 мс) уменьшение *альфа*-ритма выражено слабее или вообще практически отсутствует [15, 16].

Непрерывный вейвлетный анализ фрагментов записи ЭЭГ показывает, что основным ритмом ЭЭГ, по которому можно судить о наличии субъективного восприятия зрительного изображения, является *альфа*-ритм.

Показаны достоверные различия *альфа*-ритма ЭЭГ при осознании испытуемым смыслового содержания изображения и при отсутствии сознательного (субъективного) восприятия смыслового содержания изображения. Проведенные исследования позволяют сделать важный вывод о возможности выявления в сигнале ЭЭГ проявлений психической деятельности мозга, связанной с осознанием визуального изображения.

Выявление лживого и правдивого состояний человека на основе вейвлет-преобразования ЭЭГ разных структур мозга

Одним из проявлений психической деятельности является лживое или правдивое состояние мозга человека.

Для выявления лживого или правдивого состояния мозга человека авторами были разработаны экспериментальная модель на базе ПК и соответствующее информационно-программное обеспечение [17, 18]. Это позволило сравнивать по ЭЭГ-показателям два мыслительных состояния деятельности мозга, одно из которых – лживое, другое – правдивое.

Анализ результатов выявил достоверные различия ЭЭГ при лживых и правдивых мысленных ответах в разных структурах мозга человека [19, 20].

В интервале осмысления вопроса – Q значимые различия среднего значения нормированной вейвлет-энергии в классах: «Правда» и «Ложь» проявились в *альфа*- и *бета*-ритмах ЭЭГ в отведении O1, наивысшие достоверные различия среднего значения нормированной вейвлет-энергии в классах «Правда» и «Ложь» проявились в *тета*-ритме ЭЭГ в отведении P3 ($p = 0,014$).

В интервале мысленного ответа – R значимые различия среднего значения нормированной вейвлет-энергии в классах «Правда» и «Ложь» проявились в отведении O2 в диапазоне *тета*-ритма и в отведении O1 в общем диапазоне. Наиболее достоверный результат выявлен в отведении O1 в общем диапазоне ($p = 0,02$).

В интервале TP – весь период, от постановки вопроса до мысленного ответа испытуемого. Значимые результаты оказались в отведениях O1 и P3 в общем диапазоне ритмов. Наиболее достоверные результаты в интервале TP обнаружены в отведении O1 ($p = 0,01$).

В проведённом исследовании установлены критерии оценки правдивого и лживого состояний мозга: если во время осмысления вопроса средняя энергия вейвлет-спектра в *альфа*- и *бета*-ритмах в отведении О1 и в *тета*-ритме в отведении Р3 понижается, а во время мысленного ответа на вопрос средняя энергия вейвлет-спектра в *тета*-ритме ЭЭГ в отведении О2 повышается, то выявляется лживое состояние мозга, а если все отличия носят обратный характер, то правдивое состояние.

Данные, полученные на основе непрерывного вейвлет-преобразования и расчёта вейвлетной энергии ЭЭГ, открывают принципиальную возможность выявления в деятельности отдельных структур мозга правдивого и лживого мыслительных состояний и являются основой для разработки устройства контроля лживого и правдивого состояний мозга человека.

Выявление в психической деятельности мозга способности извлечения (воспоминание) информации из памяти на основе вейвлет-преобразования ЭЭГ разных структур мозга

Мозг обладает памятью – уникальной способностью к запоминанию и воспроизведению информации. Механизмы памяти состоят из восприятия, запоминания, сохранения и последующего воспроизведения информации.

Извлечение информации из памяти происходит в субъективной, психической сфере деятельности мозга, которая была недоступна для изучения существующими нейрофизиологическими методами.

Ключевые механизмы извлечения информации из памяти до сих пор остаются абсолютно неизвестными.

Для решения этой задачи разработаны экспериментальная модель и информационно-программное обеспечение, позволяющие выявлять и сравнивать по ЭЭГ-показателям разные мыслительные состояния психической деятельности мозга: одно из них – испытуемый вспомнил и дал правильный мысленный ответ на вопрос; другое – когда испытуемый не знал или не смог вспомнить ответ [21,22].

Проведенные исследования показали, что существуют достоверные отличия в ЭЭГ у людей (способных извлечь из памяти информацию и не способных ответить на вопрос), которые проявились в процессе осознания вопроса (при мысленном ответе) в различных отведениях ЭЭГ. При этом наиболее достоверное отличие между способностью мозга воспроизвести мысленный ответ и отсутствием такового проявилось в *бета*-диапазоне ЭЭГ в затылочном отведении О1 (*p*-уровень = 0,002) [23].

Полученные данные показывают, что на основе непрерывного вейвлетного анализа ЭЭГ можно выявить в психической деятельности мозга процесс извлечения информации из памяти.

Заключение

С помощью непрерывного вейвлет-преобразования ЭЭГ впервые установлена принципиальная возможность прямой объективной регистрации различных видов психической деятельности мозга человека: осознания смыслового содержания изображения, правдивых или лживых мысленных ответов, мысленного извлечения (воспоминания) информации из памяти [13–23].

В целом результаты исследований позволяют сделать важный вывод о возможности объективного изучения природы психической деятельности мозга.

Раскрытие механизмов психической деятельности мозга имеет фундаментальное общебиологическое и практическое значение для науки, поскольку открывает широкие возможности для разработки принципиально новых информационных технологий и медицинской аппаратуры для психофизиологии, нейрофизиологии и психиатрии.

Список источников

1. *Нагель Т.* Мыслимость невозможного и проблема духа и тела // Вопросы философии. 2001. № 10. С. 92–107.
2. *Юматов Е.А.* Психическая деятельность мозга – «ключ» к познанию // Вестник Международной академии наук. Русская секция. 2013. № 1. С. 35–45.
3. *Yumatov E.A.* To knowledge of the origin of the brain mental activity // World Journal of Neuroscience. 2014. V. 4. № 2. P. 170–182.
4. *Yumatov E.A.* The molecularly fielding psychophysical nature of the brain mental activity // J. Neuroscience and Medicine. 2019. V. 10. № 2. P. 55–74.
5. *Юматов Е.А.* Дистанционно-полевые проявления психической деятельности мозга // Биомедицинская радиоэлектроника. 2019. № 1. С. 5–13.

6. *Yumatov E.A.* Psychogenic theory of consciousness // *J. Medical Research Archives*. 2021. V. 9. № 5. DOI: <https://doi.org/10.18103/mra.v9i5.2407>
7. *Павлов А.Н., Храмов А.Е., Короновский А.А., Ситникова Е.Ю., Макаров В.А., Овчинников А.А.* Вейвлет-анализ в нейродинамике // *Успехи физических наук*. 2012. Т. 182(9). С. 905–939.
8. *Грубов В.В., Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Павлов А.Н., Храмов А.Е.* Автоматическое выделение и анализ осцилляторных паттернов на нестационарных сигналах ЭЭГ с использованием вейвлетного преобразования и метода эмпирических мод // *Известия РАН. Сер. физическая*. 2012. Т. 76(12). С. 1520–1523.
9. *Короновский А.А., Макаров В.А., Павлов А.Н., Ситникова Е.Ю., Храмов А.Е.* Вейвлеты в нейродинамике и нейрофизиологии. М.: Физматлит. 2013.
10. *Nazimov A.I., Pavlov A.S., Nazimova A.A., Grubov V.V., Koronovskii A.A., Sitnikova E.Yu., Hramov A.E.* Serial identification of EEG patterns using adaptive wavelet-based analysis // *Eur. Phys. J. Special Topics*. 2013. V. 222. P. 2713–2722.
11. *Hramov A.E., Koronovskii A.A., Makarov V.A., Pavlov A.N., Sitnikova E.Yu.* Wavelets in Neuroscience. Springer Heidelberg, New York, Dordrecht London, 2015. 318 p.
12. *Grubov V.V., Sitnikova E.Yu., Pavlov A.S., Koronovskii A.A., Hramov A.E.* Recognizing of stereotypic patterns in epileptic EEG using empirical modes and wavelets // *Physica A*. 2017. V. 486. P. 206–217.
13. *Потапова О.В., Потапов В.Ю., Юматов Е.А.* Информационно-программное обеспечение для электроэнцефалографического анализа психической деятельности мозга // *Нейрокомпьютеры: разработка и применение*. 2016. № 11. С. 45–50.
14. *Yumatov E.A., Potapova O.V., Potapov V.Y., Glazachev O.S. Rajewski V.V.* The experimental behavioral model and software to identify of mental activity of the brain // *Psychology and Behavioral Science International Journal*. 2017. V. 2. № 1. P. 1–4.
15. *Юматов Е.А., Храмов А.Е., Грубов В.В., Глазачев О.С., Дудник Е.Н., Каратыгин Н.А.* Исследование возможности распознавания психической деятельности мозга на основе вейвлетного анализа электроэнцефалограммы // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2018. № 4. С. 3–12.
16. *Yumatov E.A., Hramov A.E., Grubov V.V., Glazachev O.S., Dudnik E.N., Karatygin N.A.* Possibility for recognition of psychic brain activity with continuous wavelet analysis of EEG // *Journal of Behavioral and Brain Science (JBBS)*. 2019. V. 9. № 3. P. 67–77.
17. *Юматов Е.А., Потапов В.Ю., Каратыгин Н.А., Перцов С.С.* Экспериментальная модель и программное обеспечение для распознавания правдивых и ложных мысленных ответов на основе анализа электроэнцефалограммы // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2019. № 5. С. 38–44.
18. *Yumatov E.A., Potapov V.Yu., Karatygin N.A., Dudnik E.N., Pertsov S.S.* Experimental approach to the recognition of truthful and false mental responses based on the wavelet transform of the electroencephalogram // *J. Trends in Med.* 2019. V. 4. P. 19: DOI: 10.15761/TiM.1000199
19. *Юматов Е.А., Каратыгин Н.А., Дудник Е.Н., Храмов А.Е., Грубов В.В., Перцов С.С.* Распознавание правдивого и лживого состояний мозга на основе вейвлетного анализа электроэнцефалограммы // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2021. Т. 24. № 1. С. 5–13. DOI: 10.18127/j15604136-202101-06
20. *Юматов Е.А., Каратыгин Н.А., Дудник Е.Н., Глазачев О.С., Филипченко А.И., Сушкова Л.Т., Исаков Р.В., Аль-Хайдри В.А., Перцов С.С.* Выявление лживого и правдивого состояния человека на основе вейвлет-преобразования электроэнцефалограммы разных структур мозга // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2022. Т. 25. № 2-3. С. 84–93. DOI: <https://doi.org/10.18127/j15604136-202202-09>
21. *Юматов Е.А., Потапов В.Ю., Дудник Е.Н., Каратыгин Н.А., Перцов С.С.* Экспериментальная модель и программное обеспечение для выявления процессов воспроизведения памяти на основе вейвлетного анализа электроэнцефалограммы // *Вестник психофизиологии*. 2019. № 2. С. 99–105.
22. *Yumatov E.A., Potapov V.Yu., Dudnik E.N., Karatygin N.A., Pertsov S.S.* Methodology, experimental model and software for indentifying memory replication processes based on wavelet analysis of electroencephalograms // *J. Trends in Med.* 2020. V. 20. № 3. P. 1–4. DOI: 10.15761/TiM.1000229
23. *Юматов Е.А., Каратыгин Н.А., Дудник Е.Н., Глазачев О.С., Филипченко А.И., Сушкова Л.Т., Исаков Р.В., Аль-Хайдри В.А., Перцов С.С.* Проявление памяти (воспоминания) в электроэнцефалограмме на основе вейвлет-преобразования // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2021. № 6. С. 37–45. DOI: 10.18127/j15604136-202106-04

Информация об авторах

Евгений Антонович Юматов – д.м.н., профессор, академик Международной АН (Здоровье и Экология), гл. науч. сотрудник

SPIN-код: не представлен

Людмила Тихоновна Сушкова – д.т.н., профессор, зав. кафедрой электроники, приборостроения и биотехнических систем

SPIN-код: не представлен

Статья поступила в редакцию 11.03.2023

Одобрена после рецензирования 23.03.2023

Принята к публикации 17.04.2023

Original article

The principal possibility of objective registration of the mental activity of the human brain on the basis of electroencephalogram wavelet analysis

E.A. Yumatov¹, L.T. Sushkova²

¹ P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, RAS (Moscow, Russia)

² Institute of Information Technologies and Radioelectronics of the A.G. and N.G. Stoletovs Vladimir State University (Vladimir, Russia)

¹ eayumatov@mail.ru, ² ludm.sushkova@mail.ru

Abstract

The brain is a unique organization in living nature, which has the ability for mental activity, which manifests itself in consciousness, in thoughts, feelings, emotions, i.e. in the subjective perception of a person himself and the world around him.

Despite the enormous achievements of modern psychophysiology and neurophysiology, the methods existing in these areas do not allow one to directly register and study the patterns of mental activity of the brain.

The aim of the study is to develop information technology, experimental models and equipment for detecting the mental activity of the human brain based on continuous wavelet analysis of the electroencephalogram (EEG) in various mental states of the brain: awareness of a visual image, true and false mental responses and subjective memory reproduction.

To identify the mental activity of the brain in the electroencephalogram (EEG), we created experimental models, software, conducted a study of various types of mental activity of the human brain using the mathematical method of continuous wavelet EEG transformation (Yumatov E.A. et al., 2019-2022).

With the help of continuous wavelet transformation of the EEG, we have established the fundamental possibility of direct objective registration of various types of mental activity of the human brain: awareness of the semantic content of the image, truthful or false mental responses, mental extraction (recollection) of information from memory.

Wavelet analysis of fragments of the EEG recording shows that the main EEG rhythm, which can be used to judge the presence of subjective perception of a visual image, is the alpha rhythm. Significant differences in the dynamics of the EEG alpha rhythm were revealed when the subject understood the semantic content of the image and in the absence of conscious (subjective) perception of the semantic content of the image. These studies allow us to draw an important conclusion about the possibility of detecting in the EEG manifestations of the mental activity of the brain associated with mental awareness of the visual image.

One of the manifestations of mental activity is a false or truthful state of the human brain. The study shows the fundamental possibility of detecting a false or true mental state in the mental activity of the brain on the basis of continuous wavelet analysis of the EEG of individual cortical structures of the human brain. Criteria have been established for the participation of different brain structures in the formation of a false or truthful mental state in different EEG frequency bands.

The data obtained show that on the basis of continuous wavelet EEG analysis, it is possible to identify in the mental activity of the brain the process of extracting information from memory, which characterizes recollection, in people who are able to extract information from memory and are not able to answer the question.

In general, the results of the research allow us to draw an important conclusion about the possibility of an objective study of the nature of the mental activity of the brain.

The disclosure of the mechanisms of the mental activity of the brain is a fundamental general biological, actual problem of science, the solution of which opens up wide opportunities for the development and practical use of fundamentally new information technologies and hardware systems.

Keywords

Information technology, medical equipment, electroencephalogram (EEG), continuous EEG wavelet transformations, mental activity of the brain, consciousness, truth and falsehood, memory

For citation

Yumatov E.A., Sushkova L.T. The principal possibility of objective registration of the mental activity of the human brain on the basis of electroencephalogram wavelet analysis. *Technologies of Living Systems*. 2023. V. 20. № 2. P. 27–33. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-03> (In Russian)

References

1. Nagel T. Myslimost nevozmozhnogo i problema dukha i tela. *Voprosy filosofii*. 2001. № 10. S. 92–107. (in Russian).
2. Yumatov E.A. Psikhicheskaya deyatelnost mozga – «klyuch» k poznaniyu. *Vestnik Mezhdunarodnoy akademii nauk. Russkaya sektsiya*. 2013. № 1. S. 35–45. (in Russian).
3. Yumatov E.A. To knowledge of the origin of the brain mental activity. *World Journal of Neuroscience*. 2014. V. 4. № 2. P. 170–182.
4. Yumatov E.A. The molecularly fielding psychophysical nature of the brain mental activity. *J. Neuroscience and Medicine*. 2019. V. 10. № 2. P. 55–74.
5. Yumatov E.A. Distantionno-polevyvye proyavleniya psikhicheskoy deyatelnosti mozga. *Biomeditsinskaya radioelektronika*. 2019. № 1. S. 5–13. (in Russian).

6. Yumatov E.A. Psychogenic theory of consciousness. J. Medical Research Archives. 2021. V. 9. № 5. DOI: <https://doi.org/10.18103/mra.v9i5.2407>
7. Pavlov A.N., Khramov A.E., Koronovskiy A.A., Sitnikova E.Yu., Makarov V.A., Ovchinnikov A.A. Veyvlet-analiz v neyrodinamike. Uspekhi fizicheskikh nauk. 2012. T. 182(9). S. 905–939. (in Russian).
8. Grubov V.V., Sitnikova E.Yu., Koronovskiy A.A., Pavlov A.N., Khramov A.E. Avtomaticheskoye vydeleniye i analiz ostsillyatornykh patternov na nestatsionarnykh signalakh EEG s ispolzovaniyem veyvletnogo preobrazovaniya i metoda empiricheskikh mod. Izvestiya RAN. Ser. fizicheskaya. 2012. T. 76(12). S. 1520–1523. (in Russian).
9. Koronovskiy A.A., Makarov V.A., Pavlov A.N., Sitnikova E.Yu., Khramov A.E. Veyvlety v neyrodinamike i neyrofiziologii. M.: Fizmatlit. 2013. (in Russian).
10. Nazimov A.I., Pavlov A.S., Nazimova A.A., Grubov V.V., Koronovskii A.A., Sitnikova E.Yu., Hramov A.E. Serial identification of EEG patterns using adaptive wavelet-based analysis. Eur. Phys. J. Special Topics. 2013. V. 222. P. 2713–2722.
11. Hramov A.E., Koronovskii A.A., Makarov V.A., Pavlov A.N., Sitnikova E.Yu. Wavelets in Neuroscience. Springer Heidelberg, New York, Dordrecht London, 2015. 318 p.
12. Grubov V.V., Sitnikova E.Yu., Pavlov A.S., Koronovskii A.A., Hramov A.E. Recognizing of stereotypic patterns in epileptic EEG using empirical modes and wavelets. Physica A. 2017. V. 486. P. 206–217.
13. Potapova O.V., Potapov V.Yu., Yumatov E.A. Informatsionno-programmnoye obespecheniye dlya elektroentsefalograficheskogo analiza psikhicheskoy deyatelnosti mozga. Neyrokomp'yutery: razabotka i primeneniye. 2016. № 11. S. 45–50. (in Russian).
14. Yumatov E.A., Potapova O.V., Potapov V.Y., Glazachev O.S., Rajewski V.V. The experimental behavioral model and software to identify of mental activity of the brain. Psychology and Behavioral Science International Journal. 2017. V. 2. № 1. P. 1–4.
15. Yumatov E.A., Khramov A.E., Grubov V.V., Glazachev O.S., Dudnik E.N., Karatygin N.A. Issledovaniye vozmozhnosti raspoznavaniya psikhicheskoy deyatelnosti mozga na osnove veyvletnogo analiza elektroentsefalogrammy. Biomeditsinskaya radioelektronika. 2018. № 4. S. 3–12. (in Russian).
16. Yumatov E.A., Hramov A.E., Grubov V.V., Glazachev O.S., Dudnik E.N., Karatygin N.A. Possibility for recognition of psychic brain activity with continuous wavelet analysis of EEG. Journal of Behavioral and Brain Science (JBBS). 2019. V. 9. № 3. P. 67–77.
17. Yumatov E.A., Potapov V.Yu., Karatygin N.A., Pertsov S.S. Eksperimentalnaya model i programmnoye obespecheniye dlya raspoznavaniya pravdivykh i lozhnykh myslennykh otvetov na osnove analiza elektroentsefalogrammy. Biomeditsinskaya radioelektronika. 2019. № 5. S. 38–44. (in Russian).
18. Yumatov E.A., Potapov V.Yu., Karatygin N.A., Dudnik E.N., Pertsov S.S. Experimental approach to the recognition of truthful and false mental responses based on the wavelet transform of the electroencephalogram. J. Trends in Med. 2019. V. 4. P. 19: DOI: [10.15761/TiM.1000199](https://doi.org/10.15761/TiM.1000199)
19. Yumatov E.A., Karatygin N.A., Dudnik E.N., Khramov A.E., Grubov V.V., Pertsov S.S. Raspoznavaniye pravdivogo i lzhevogo sostoyaniya mozga na osnove veyvletnogo analiza elektroentsefalogrammy. Biomeditsinskaya radioelektronika. 2021. T. 24. № 1. S. 5–13. DOI: [10.18127/j15604136-202101-06](https://doi.org/10.18127/j15604136-202101-06) (in Russian).
20. Yumatov E.A., Karatygin N.A., Dudnik E.N., Glazachev O.S., Filipchenko A.I., Sushkova L.T., Isakov R.V., Al-Khaydri V. A., Pertsov S.S. Vyyavleniye lzhevogo i pravdivogo sostoyaniya cheloveka na osnove veyvlet-preobrazovaniya elektroentsefalogrammy raznykh struktur mozga. Biomeditsinskaya radioelektronika. 2022. T. 25. № 2-3. S. 84–93. DOI: <https://doi.org/10.18127/j15604136-202202-09> (in Russian).
21. Yumatov E.A., Potapov V.Yu., Dudnik E.N., Karatygin N.A., Pertsov S.S. Eksperimentalnaya model i programmnoye obespecheniye dlya vyyavleniya protsessov vosproizvedeniya pamyati na osnove veyvletnogo analiza elektroentsefalogrammy. Vestnik psikhofiziologii. 2019. № 2. S. 99–105. (in Russian).
22. Yumatov E.A., Potapov V.Yu., Dudnik E.N., Karatygin N.A., Pertsov S.S. Methodology, experimental model and software for indentifying memory replication processes based on wavelet analysis of electroencephalograms. J. Trends in Med. 2020. V. 20. № 3. P. 1–4. DOI: [10.15761/TiM.1000229](https://doi.org/10.15761/TiM.1000229)
23. Yumatov E.A., Karatygin N.A., Dudnik E.N., Glazachev O.S., Filipchenko A.I., Sushkova L.T., Isakov R.V., Al-Khaydri V.A., Pertsov S.S. Proyavleniye pamyati (vospominaniya) v elektroentsefalogramme na osnove veyvlet-preobrazovaniya. Biomeditsinskaya radioelektronika. 2021. № 6. S. 37–45. DOI: [10.18127/j15604136-202106-04](https://doi.org/10.18127/j15604136-202106-04) (in Russian).

Information about the authors

Evgeny A. Yumatov – Dr.Sc. (Med.), Professor,
Academician of the International Academy of Sciences (Health and Ecology), Chief Research Scientist
Lyudmila T. Sushkova – Dr.Sc. (Eng.), Professor,
Head of the Department of Biomedical and Electronic Means and Technologies

The article was submitted 11.03.2023
Approved after reviewing 23.03.2023
Accepted for publication 17.04.2023

Научная статья
УДК 616.858-008.6
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-04>

Возможности дифференциальной диагностики болезни Паркинсона с помощью кластеризационных методов

К.О. Туценко¹, А.Н. Наркевич², В.Г. Абрамов³

^{1,2} ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия)

² ИДПО ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (г. Челябинск, Россия)

³ ФГБУ Федеральный Сибирский научно-клинический центр

Федерального медико-биологического агентства ФГБУ ФСНКЦ ФМБА (г. Красноярск, Россия)

¹ kseniamkib@gmail.com, ² narkevichart@gmail.com, ³ excalibr@mail.ru

Аннотация

Постановка проблемы. Болезнь Паркинсона (БП) является тяжелым неврологическим заболеванием, значительно ухудшающим качество жизни пациента. При данной патологии наблюдается длительный латентный период, когда при отсутствии явных клинических проявлений в головном мозге происходит дегенерация дофамин-продуцирующих нейронов. Основным проявлением БП является тремор, который встречается при множестве неврологических патологий, с чем связано значительное число диагностических ошибок. Одним из заболеваний со схожими проявлениями является эссенциальный тремор (ЭТ). Высокая точность дифференциальной диагностики позволит назначить правильное лечение, замедлить развитие заболевания и улучшить качество жизни пациентов. К методу доклинической диагностики БП с высокой точностью можно отнести позитронно-эмиссионную томографию с радиофармпрепаратом ¹⁸F-ДОПА.

Цель работы – определение способности различных кластеризационных методов дифференцировать пациентов с БП от других исследуемых групп.

Результаты. В исследование включено 94 человека, из которых 33 условно здоровых лиц (35%), 32 пациента с БП (34%) и 29 человек с ЭТ (31%). Всем обследуемым группам проводилась позитронно-эмиссионная томография с радиофармпрепаратом ¹⁸F-ДОПА. Анализировались абсолютные и относительные показатели активности радиофармпрепарата в головном мозге. Для кластеризации данных использовался метод k-средних, реализованный в программе IBM SPSS Statistics 26. Для кластеризации и визуализации многомерных данных применялся метод упругих карт, реализованный в программе VidaExpert.

Была доказана неприменимость метода k-средних в классическом виде для кластеризации данных активности ¹⁸F-ДОПА. Метод упругих карт в сочетании с методом k-средних показал высокую точность кластеризации. Таким образом, показатели активности ¹⁸F-ДОПА позволяют дифференцировать пациентов с БП и здоровых людей, а также пациентов с БП и ЭТ.

Практическая значимость. Результаты работы доказывают возможность дифференциальной диагностики болезни Паркинсона с помощью кластеризационных методов.

Ключевые слова

Болезнь Паркинсона, эссенциальный тремор, дифференциальная диагностика, позитронно-эмиссионная томография, ¹⁸F-ДОПА, кластеризация

Для цитирования

Туценко К.О., Наркевич А.Н., Абрамов В.Г. Возможности дифференциальной диагностики болезни Паркинсона с помощью кластеризационных методов // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 34–41. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-04>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – это патология, при которой наблюдается разрушение нейронов дофаминергической системы головного мозга [12]. Данное заболевание является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний пожилых людей и характеризуется множеством симптомов, включающих моторные нарушения, ухудшение когнитивных способностей, депрессию, нарушение обоняния и другие проявления [6, 15].

В настоящий момент отсутствует общее представление о причинах нейродегенеративного процесса, а вместе с тем и нейропротективная терапия [3, 5]. Болезнь Паркинсона характеризуется длительным бессимптомным периодом, при котором происходит гибель значительного количества нейронов и развивается дефицит дофамина [13]. С этим связана низкая эффективность симптоматического лечения, которое пациент начинает получать, когда все компенсаторные механизмы истощены. Медикаментозная

терапия способна снизить выраженность симптомов, но разрушение нейронов продолжается, а болезнь прогрессирует. Таким образом, доклиническая диагностика является важнейшим направлением при работе с пациентами с БП [7, 9].

Тремор является часто встречающимся симптомом неврологических заболеваний, что вызывает достаточно серьезные сложности дифференциальной диагностики БП с другими патологиями, которые имеют схожую симптоматику. К таковым относится *эссенциальный тремор* (ЭТ) – это заболевание экстрапирамидной системы, основным клиническим маркером которого является постурально-кинетический тремор, когда для БП более характерен тремор покоя [4].

Описанные патологии имеют ряд отличий в клинической картине при классическом течении заболевания, но не всегда эти отличия можно идентифицировать. Ошибки при дифференциальной диагностике указанных патологий наблюдаются достаточно часто, что связано с отсутствием специфических диагностических признаков, коротким периодом наблюдения и недостатком клинических данных. Диагностические ошибки приводят к неправильному лечению, прогнозу и прогрессированию патологии [10].

Решить подобную диагностическую задачу можно через исследование дофаминергической системы головного мозга с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с радиофармпрепаратом (РФП) ^{18}F -ДОПА [14]. При выявлении снижения активности данного РФП пациенту ставится диагноз «болезнь Паркинсона»; при ЭТ разрушения нейронов и дефицита дофамина не наблюдается.

Ц е л ь р а б о т ы – определение способности различных кластеризационных методов дифференцировать пациентов с БП от других исследуемых групп.

Материалы и методы

В исследование включено 94 человека, из которых 33 условно здоровых лиц (35%), 32 пациента с БП (34%) и 29 человек с ЭТ (31%). Половозрастная структура трех исследуемых групп приведена в табл. 1.

Таблица 1. Половозрастная структура базы данных

Половозрастные характеристики	Группы пациентов					
	Здоровые		БП		ЭТ	
Возраст	52 [47; 61]		62 [52; 68]		65 [51; 71]	
Пол	М	Ж	М	Ж	М	Ж
	13 39%	20 61%	10 31%	22 69%	6 21%	23 79%

Примечание: возраст представлен в виде медианы, 1 и 3 квартилей, пол – в виде абсолютных значений и процентов.

Обследуемым вводился радиоактивный препарат в кубитальную вену, далее выполнялось сканирование на ПЭТ/КТ-сканере DISCOVERY 600 (GE Healthcare, США). Анализировались 16 абсолютных и 24 относительных показателя активности РФП в головном мозге с обеих сторон. К абсолютным относятся активность РФП в передней и задней скорлупе, хвостом ядра, зрительной коре. Относительные – отношение активности РФП: стриатум / зрительная кора; хвостатое ядро / зрительная кора, стриатум / хвостатое ядро, задняя скорлупа / передняя скорлупа.

Для кластеризации данных использовался метод k-средних, реализованный в программе IBM SPSS Statistics 26. Для кластеризации и визуализации многомерных данных применялся метод упругих карт, реализация которого включает в себя несколько этапов:

э т а п 1 – определение первой и второй главных компонент, их ортогональное проецирование на плоскость;

э т а п 2 – каждая точка (пациент) проецируется на плоскость;

э т а п 3 – замена изначально жёсткого квадрата или сферы эластичной мембраной;

э т а п 4 – обратное нелинейное преобразование мембраны обратно в плоскость или сферу.

Визуально кластеры идентифицировались по локальной плотности точек [2]. В ходе работы были построены упругие карты 16*16 (soft map 16*16) в программе VidaExpert.

Для оценки различимости исследуемых групп кластеризация проводилась на четырех наборах данных:

ЭТ и здоровые;

БП и группа без дофаминергического дефицита (здоровые лица и пациенты с ЭТ);

БП и здоровые лица;

БП и ЭТ.

Результаты и обсуждение

Кластеризация методом k-средних. Метод k-средних является классическим методом кластеризации данных, основанным на перевычислении центра масс кластеров на каждой итерации и образовании новых кластеров с минимизацией суммарного квадратичного отклонения точек кластеров от их центров [1].

На первом этапе проведена кластеризация данных, включающих в себя пациентов с ЭТ и здоровых людей. Патогенез ЭТ не включает в себя разрушение дофаминергических нейронов, а значит и дефицит дофамина у пациентов с этим диагнозом не наблюдается. На основании вышеизложенного можно судить о том, что с точки зрения накопления РФП ¹⁸F-ДОПА в головном мозге пациенты с ЭТ и здоровые люди отличаться не должны. Результаты кластеризации представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты кластеризации методом k-средних для пациентов с различной группировкой

Кластер	Группировка пациентов	
	<i>Пациенты с ЭТ и здоровые лица</i>	
Номер кластера	ЭТ	Здоровые
1	27,6%	54,5%
2	72,4%	45,5%
<i>Пациенты с БП и здоровые лица + пациенты с ЭТ</i>		
Номер кластера	БП	Здоровые + ЭТ
1	43,8%	48,4%
2	56,3%	51,6%
<i>Пациенты с БП и здоровые лица</i>		
Номер кластера	БП	Здоровые
1	43,8%	63,6%
2	56,3%	36,4%
<i>Пациенты с БП и ЭТ</i>		
Номер кластера	БП	ЭТ
1	43,8%	31,0%
2	56,3%	69,0%

При попытке кластеризации пациентов с ЭТ и здоровых лиц в первый кластер вошли 27,6% представителей группы ЭТ и 54,5% здоровых лиц, во второй кластер – 72,4% пациентов с ЭТ и 45,5% здоровых лиц. Таким образом, две исследуемые группы не разделились на отдельные кластеры.

На втором этапе здоровые лица и пациенты с ЭТ были объединены в одну группу без дофаминергического дефицита. Кластеризации подверглись пациенты с БП и образованная группа здоровые + ЭТ. При таком разделении пациентов в первый кластер вошли 43,8% пациентов с БП и 48,4% группы без дофаминергического дефицита. Во второй – 56,3% представителей группы БП и 51,6% группы здоровых лиц и пациентов с ЭТ. Исследуемые группы также не разделились на два различных кластера.

На следующем этапе совершена попытка кластеризации пациентов с БП и группы здоровых лиц. В данном случае также наблюдается практически равномерное представительство пациентов с БП и здоровых людей в каждом кластере. Подобную картину можно наблюдать и при кластеризации данных, включающих группу пациентов с БП и группу с ЭТ.

В работе [11] с помощью стандартных критериев были доказаны статистически значимые различия между группами БП и ЭТ, БП и здоровые люди по большинству показателей активности РФП. Учитывая это, можно предположить, что метод k-средних в классическом виде не может быть использован для решения задачи кластеризации данных, описанных в настоящей статье.

Визуализация метода упругих карт. Для визуализации многомерных данных был использован метод упругих карт. В качестве иницирующего многообразия использовался квадрат. Окрашивание упругих карт проводилось по локальной плотности данных, более тёмным участкам соответствовали более высокие значения плотности. Для построения представленных ниже карт были использованы все 40 показателей захвата РФП. Первым этапом этой части работы стала кластеризация данных, включающих группу ЭТ и группу здоровых лиц (рис. 1).

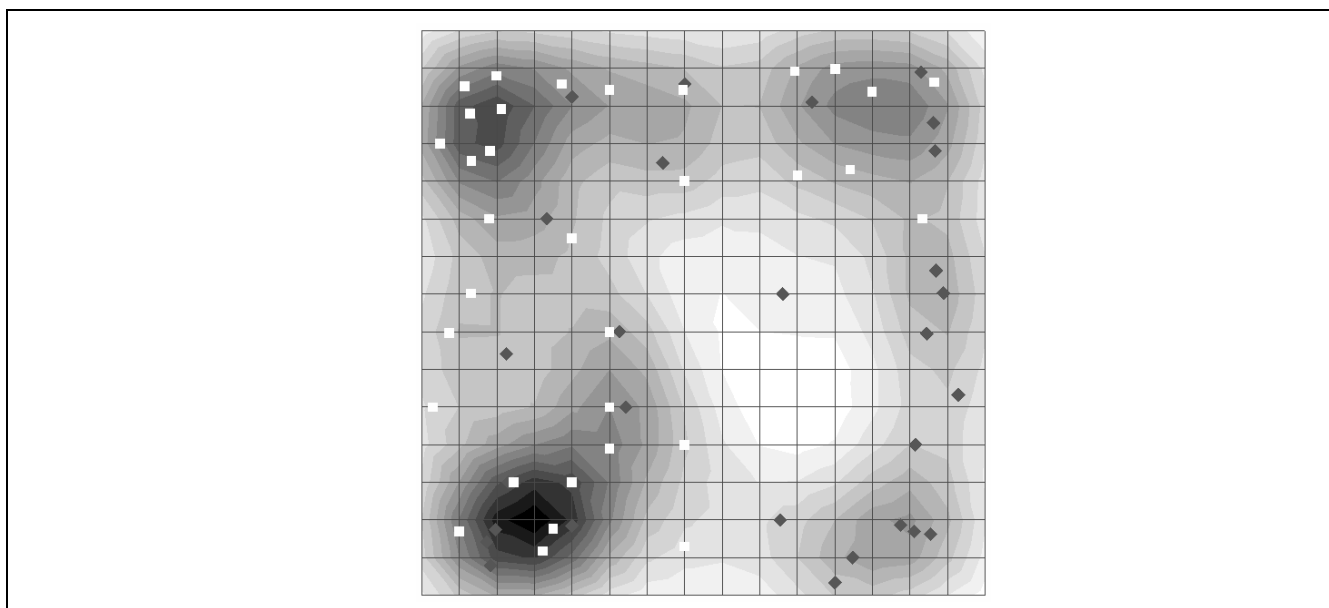


Рис. 1. Упругая карта распределения пациентов с ЭТ (серые ромбы) и здоровых людей (белые квадраты) по показателям активности ^{18}F -ДОПА

Fig. 1. Elastic map of the distribution of patients with ET (gray rhombuses) and healthy people (white squares) in terms of ^{18}F -DOPA activity

Для оценки качества кластеризации методом упругих карт были извлечены внутренние координаты точек на представленной плоскости и применен метод k -средних (табл. 3).

Таблица 3. Результаты кластеризации методом k -средних для пациентов с различной группировкой на основании внутренних координат упругой карты

Кластер	Группировка пациентов	
<i>Пациенты с ЭТ и здоровые лица</i>		
Номер кластера	ЭТ	Здоровые
1	55,2%	39,4%
2	44,8%	60,6%
<i>Пациенты с БП и здоровые лица + пациенты с ЭТ</i>		
Номер кластера	БП	Здоровые + ЭТ
1	100%	1,61%
2	0%	98,39%
<i>Пациенты с БП и здоровые лица</i>		
Номер кластера	БП	Здоровые
1	100%	0%
2	0%	100%
<i>Пациенты с БП и ЭТ</i>		
Номер кластера	БП	ЭТ
1	100%	0%
2	0%	100%

На упругой карте, представленной на рис. 1, и по результатам метода k -средних на основании внутренних координат данной карты не наблюдается деления данных на отдельные кластеры, что говорит о неразличимости этих двух групп; такой результат соответствует общепринятым клиническим данным о патогенезе ЭТ [8].

Далее проведена кластеризация данных пациентов с БП и группы без дофаминергического дефицита (рис. 2, табл. 2).

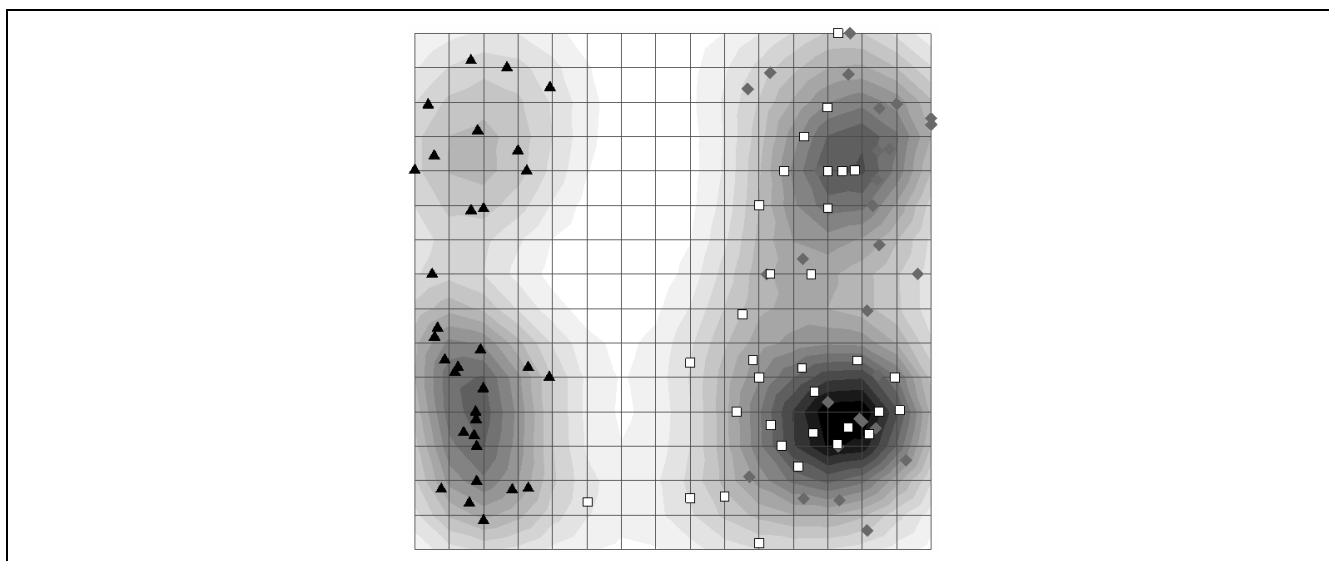


Рис. 2. Упругая карта распределения пациентов с БП (черные треугольники) и группы без дофаминергического дефицита (ЭТ – серые ромбы; здоровые – белые квадраты) по показателям активности ^{18}F -ДОПА
Fig. 2. Elastic map of the distribution of patients with PD (black triangles) and groups without dopaminergic deficiency (ET – gray rhombuses; healthy – white squares) in terms of ^{18}F -DOPA activity

На упругой карте (рис. 2) визуально определяются два отдельных кластера, один из которых включает в себя пациентов с БП, второй – здоровых лиц и пациентов с ЭТ. Метод *k*-средних на основании внутренних координат упругой карты подтверждает высокое качество кластеризации представленных групп (табл. 2).

На рис. 3 представлена упругая карта распределения пациентов с БП и здоровых лиц; группы с БП и пациентов с ЭТ. На данных упругих картах также наблюдается четкое разделение групп на кластеры; результаты оценки качества кластеризации представлены в табл. 2.

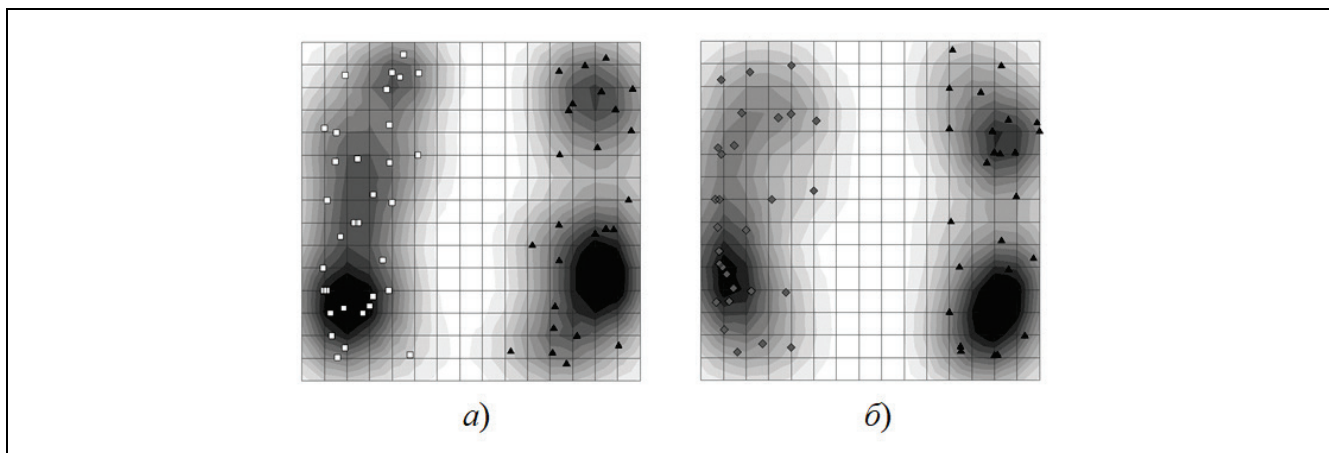


Рис. 3. Упругие карты распределения пациентов с БП (черные треугольники) и здоровых лиц (белые квадраты) (а); группы с БП (черные треугольники) и пациентов с ЭТ (серые ромбы) (б) по показателям активности ^{18}F -ДОПА
Fig. 3. Elastic maps of the distribution of patients with PD (black triangles) and healthy people (white squares) (а); PD group (black triangles) and ET patients (gray rhombuses) (б) in terms of ^{18}F -DOPA activity

Метод упругих карт и метод *k*-средних для внутренних координат упругой карты показали высокое качество кластеризации исследуемых групп, что свидетельствует о различимости групп по показателям активности РФП.

Заключение

Болезнь Паркинсона – заболевание, которое значительно снижает уровень жизни пациентов. Не существует лечения, способного обратить вспять дегенеративные процессы в головном мозге при БП. Чем раньше

будет выявлена патология, тем эффективнее будет симптоматическое лечение. Позитронно-эмиссионная томография с ^{18}F -ДОПА позволяет определить дофаминергический дефицит, а значит выявить болезнь на доклинической стадии и дифференцировать её с патологиями, имеющими схожую симптоматику.

В ходе работы была доказана неприменимость метода k-средних в классическом виде для кластеризации данных активности ^{18}F -ДОПА, что может быть связано с игнорированием зависимостей между показателями. С помощью метода упругих карт была проверена различимость исследуемых групп по данным активности РФП. Таким образом, показатели активности РФП в различных зонах головного мозга позволяют дифференцировать пациентов с БП и здоровых людей, а также пациентов с БП и ЭТ. А кластеризация методом упругих карт в сочетании с методом k-средних даёт высокую точность кластеризации.

Список источников

1. Баранов О.А., Мартын И.А. Сравнительный анализ двух методов кластерного анализа // Информационные технологии и системы: управление, экономика, транспорт, право. 2022. № 1(41). С. 30–34.
2. Зиновьев А.Ю. Визуализация произвольных данных методом упругих карт // Радиоселектроника, информатика, управления. 2000. № 1(3). С. 76–85.
3. Катунина Е.А., Блохин В.Е., Нодель М.Р., Москалец Э.Р., Угрюмов Э.Р., Угрюмов М.В. Оценка ранних клиничко-биохимических маркеров болезни Паркинсона с помощью позитронно-эмиссионной томографии // Бюллетень Национального общества по изучению болезни Паркинсона и расстройств движений. 2022. Т. 2. С. 82–86.
4. Магжанов Р.В., Ибатуллин Р.А., Давлетова А.И. Дифференциальная диагностика эссенциального и паркинсонического видов тремора // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2018. Т. 53. С. 83–84.
5. Мосалева Е.И., Жумжанов И.М., Алексеенко П.В., Исмаилова С.Б., Прокопенко С.В. Когнитивные флуктуации на фоне терапии у пациентов с болезнью Паркинсона // Сибирское медицинское обозрение. 2021. № 1. С. 63–67.
6. Плохих А.Б., Масалева И.О., Люборцева Ю.О. Нефармакологические методы лечения тревожных нарушений при болезни Паркинсона (обзор литературы) // Международный научно-исследовательский журнал. 2022. № 6-2(120). С. 103–106.
7. Повереннова И.Е., Калинин В.А., Шпилева С.А. Диагностика немоторных нарушений при болезни Паркинсона // Сибирское медицинское обозрение. 2018. № 3. С. 93–97.
8. Селихова М.В., Катунина Е.А., Воун А. Позитронная эмиссионная и однофотонная эмиссионная компьютерная томография в оценке состояния моноаминергических систем мозга при экстрапирамидных расстройствах // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2019. Т. 13(2). С. 69–78.
9. Ткач В.В., Францишко О.Б., Ткач А.В. Нейрохирургическое лечение болезни Паркинсона // Modern Science. 2021. V. 4(4). P. 206–211.
10. Труфанов Е.А. Дифференциальный диагноз болезни Паркинсона и эссенциального тремора // Медицинский вестник юга России. 2013. № 1. С. 73–79.
11. Туценко К.О., Наркевич А.Н., Абрамов В.Г. Анализ активности радиофармпрепарата ^{18}F -ДОПА для дифференциальной диагностики экстрапирамидных патологий // Вестник новых медицинских технологий. 2022. № 3. С. 105–108.
12. Угрюмов М.В., Козина Е.А., Хаиндрава В.Г., Кудрин В.С., Кучеряну В.Г., Кюлт П.Д., Раевский К.С. Моделирование паркинсонизма у мышей при помощи МФТП: от ранней досимптомной до поздней симптомной стадии // Технологии живых систем. 2011. Т. 8(8). С. 3–13.
13. Iacono D., Geraci-Erck M., Rabin M.L., Adler C.H., Serrano G., Beach T.G., Kurlan R. Parkinson disease and incidental Lewy body disease: just a question of time? // Neurology. 2015. V. 85. P. 1670–1679.
14. Löhle M., Wolz M., Beuthien-Baumann B., Oehme L., Hoff J., Kotzerke J., Reichmann H., Storch A. Olfactory dysfunction correlates with putaminal dopamine turnover in early de novo Parkinson's disease // Journal of Neural Transmission. 2020. V. 127(1). P. 9–16.
15. Savica R., Grossardt B.R., Bower J.H., Ahlskog J.E., Rocca W.A. Incidence and pathology of synucleinopathies and tauopathies related to parkinsonism // Journal of the American Medical Association. 2013. V. 70. P. 859–866.

Информация об авторах

Ксения Олеговна Туценко – преподаватель, кафедра медицинской кибернетики и информатики
SPIN-код: 5691-0828

Артём Николаевич Наркевич – д.м.н., доцент, проректор по стратегическому развитию, науке и инновациям; профессор кафедры общественного здоровья и здравоохранения; гл. науч. сотрудник, лаборатория медицинской кибернетики и управления в здравоохранении
SPIN-код: 9030-1493

Владислав Геннадьевич Абрамов – директор, центр клинических исследований в ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России
SPIN-код: 7740-8633

Статья поступила в редакцию 31.10.2022

Одобрена после рецензирования 11.11.2022

Принята к публикации 17.04.2023

Possibilities of differential diagnosis of Parkinson's disease using clustering methods

K.O. Tutsenko¹, A.N. Narkevich², V.G. Abramov³

^{1,2} FSBEI HE Prof. V.F. Voino-Yasenetsky KrasSMU MOH Russia (Krasnoyarsk, Russia)

² South Ural State Medical University (Chelyabinsk, Russia)

³ Federal Siberian Research Clinical Center, FMBA of Russia (Krasnoyarsk, Russia)

¹ kseniamkib@gmail.com, ² narkevichart@gmail.com, ³ excalibr@mail.ru

Abstract

Parkinson's disease is characterized by the destruction of neurons in the dopaminergic system of the brain. This disease is one of the most common neurodegenerative diseases of the elderly and is characterized by many symptoms. This pathology has a long asymptomatic period, during which a significant number of neurons die and dopamine deficiency develops. Preclinical diagnostics is the most important direction when working with patients with Parkinson's disease.

Parkinson's disease has symptoms similar to essential tremor. Errors in the differential diagnosis of these pathologies are observed quite often, which is associated with the absence of specific diagnostic signs, a short observation period, and a lack of clinical data. Such a diagnostic problem can be solved through the study of the dopaminergic system of the brain using positron emission tomography with the ¹⁸F-DOPA radiopharmaceutical. If a decrease in the activity of the radiopharmaceutical is detected, the patient is diagnosed with Parkinson's disease; with essential tremor, neuronal destruction and dopamine deficiency are not observed.

The purpose of the study: to determine the ability of various clustering methods to differentiate patients with PD from other study groups.

We analyzed 16 absolute and 24 relative indicators of radiopharmaceutical activity in the brain on both sides. The k-means method implemented in the IBM SPSS Statistics 26 program was used for data clustering. The elastic map method implemented in the VidaExpert program was used for data clustering and visualization.

The results of data clustering using the k-means method showed that this method in its classical form cannot be used to solve the data clustering problem described in this article. The method of elastic maps was used to visualize multidimensional data. To assess the quality of clustering using the method of elastic maps, the internal coordinates of points on the presented plane were extracted and the k-means method was applied. The method of elastic maps and the method of k-means for the internal coordinates of the elastic map showed a high quality of clustering of the studied groups, which indicates the distinguishability of the groups in terms of radiopharmaceutical activity.

In the course of the work, the inapplicability of the classical k-means method for clustering ¹⁸F-DOPA activity data was proved, which may be due to ignoring the dependencies between the indicators. Using the method of elastic maps, the distinguishability of the studied groups was checked according to the activity of the radiopharmaceutical. Thus, indicators of activity in different areas of the brain make it possible to differentiate between patients with Parkinson's disease and healthy people, as well as patients with Parkinson's disease and essential tremor. And clustering by the method of elastic maps in combination with the k-means method gives high clustering accuracy.

Keywords

Parkinson's disease, essential tremor, differential diagnosis, positron emission tomography, ¹⁸F-DOPA, clustering

For citation

Tutsenko K.O., Narkevich A.N., Abramov V.G. Possibilities of differential diagnosis of Parkinson's disease using clustering methods. Technologies of Living Systems. 2023. V. 20. № 2. P. 34–41. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-04> (In Russian)

References

1. Baranov O.A., Martyn I.A. Sravnitelnyy analiz dvukh metodov klaster'nogo analiza. Informatsionnyye tekhnologii i sistemy: upravleniye. ekonomika. transport. pravo. 2022. № 1(41). S. 30–34. (in Russian).
2. Zinovyev A.Yu. Vizualizatsiya proizvolnykh dannykh metodom uprugikh kart. Radioelektronika. informatika. upravlinnya. 2000. № 1(3). S. 76–85. (in Russian).
3. Katunina E.A., Blokhin V.E., Nodel M.R., Moskalets E.R., Ugryumov E.R., Ugryumov M.V. Otsenka rannikh kliniko-biokhimiicheskikh markerov bolezni Parkinsona s pomoshchyu pozitronno-emissionnoy tomografii. Byulleten Natsional'nogo obshchestva po izucheniyu bolezni Parkinsona i rasstroystv dvizheniy. 2022. T. 2. S. 82–86. (in Russian).
4. Magzhanov R.V., Ibatullin R.A., Davletova A.I. Differentsial'naya diagnostika essentsial'nogo i parkinsonicheskogo vidov tremora. Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii. 2018. T. S3. S. 83–84. (in Russian).
5. Mosaleva E.I., Zhumzhanov I.M., Alekseyenko P.V., Ismailova S.B., Prokopenko S.V. Kognitivnyye fluktuatsii na fone terapii u patsiyentov s boleznyu Parkinsona. Sibirskoye meditsinskoye obozreniye. 2021. № 1. S. 63–67. (in Russian).
6. Plokhikh A.B., Masaleva I.O., Lyubortseva Yu.O. Nefarmakologicheskiye metody lecheniya trevoznykh narusheniy pri bolezni Parkinsona (obzor literatury). Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal. 2022. № 6-2(120). S. 103–106. (in Russian).
7. Poverennova I.E., Kalinin V.A., Shpileva S.A. Diagnostika nemotornykh narusheniy pri bolezni Parkinsona. Sibirskoye meditsinskoye obozreniye. 2018. № 3. S. 93–97. (in Russian).

8. Selikhova M.V., Katunina E.A., Voun A. Pozitronnaya emissionnaya i odnofotonnaya emissionnaya kompyuternaya tomografiya v otsenke sostoyaniya monoaminergicheskikh sistem mozga pri ekstrapiramidnykh rasstroystvakh. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy nevrologii*. 2019. T. 13(2). S. 69–78. (in Russian).
9. Tkach V.V., Frantsishko O.B., Tkach A.V. Neyrokhirurgicheskoye lecheniye bolezni Parkinsona. *Modern Science*. 2021. V. 4(4). P. 206–211. (in Russian).
10. Trufanov E.A. Differentzialnyy diagnoz bolezni Parkinsona i essentsialnogo tremora. *Meditsinskiy vestnik yuga Rossii*. 2013. № 1. S. 73–79. (in Russian).
11. Tutsenko K.O., Narkevich A.N., Abramov V.G. Analiz aktivnosti radiofarmpreparata 18F-DOPA dlya differentsialnoy diagnostiki ekstrapiramidnykh patologiy. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2022. № 3. S. 105–108. (in Russian).
12. Ugryumov M.V., Kozina E.A., Khaindrava V.G., Kudrin V.S., Kucheryanu V.G., Klodt P.D., Rayevskiy K.S. Modelirovaniye parkinsonizma u myshey pri pomoshchi MFTP: ot ranney dosimptomnoy do pozdney simptomnoy stadii. *Tekhnologii zhivykh sistem*. 2011. T. 8(8). S. 3–13. (in Russian).
13. Iacono D., Geraci-Erck M., Rabin M.L., Adler C.H., Serrano G., Beach T.G., Kurlan R. Parkinson disease and incidental Lewy body disease: just a question of time? *Neurology*. 2015. V. 85. P. 1670–1679.
14. Löhle M., Wolz M., Beuthien-Baumann B., Oehme L., Hoff J., Kotzerke J., Reichmann H., Storch A. Olfactory dysfunction correlates with putaminal dopamine turnover in early de novo Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*. 2020. V. 127(1). P. 9–16.
15. Savica R., Grossardt B.R., Bower J.H., Ahlskog J.E., Rocca W.A. Incidence and pathology of synucleinopathies and tauopathies related to parkinsonism. *Journal of the American Medical Association*. 2013. V. 70. P. 859–866.

Information about the authors

Ksenia O. Tutsenko – Lecturer, Department of Medical Cybernetics and Computer Science

Artem N. Narkevich – Dr.Sc. (Med.), Associate Professor,

Vice-Rector for Strategic Development, Science and Innovation;

Professor of the Department of Public Health and Healthcare;

Chief Research Scientist, Laboratory of Medical Cybernetics and Management in Healthcare

Vladislav G. Abramov – Director

The article was submitted 31.10.2022

Approved after reviewing 11.11.2022

Accepted for publication 17.04.2023

Научная статья
УДК 615.281:[615.33:633.88]
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-05>

Химическая модификация противомикробных комплексов органическими молекулами с целью получения смешанно-лигандных антирезистентных агентов

Ю.А. Плотникова¹, Е.С. Барышева², С.А. Пешков³

¹⁻³ ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» (г. Оренбург, Россия)

¹ shik8mail@mail.ru, ² baryshevae@mail.ru, ³ darvin156@mail.ru

Аннотация

Постановка проблемы. Синтез антибактериальных соединений на основе химической модификации противомикробных агентов природными комплексами является одним из перспективных методов в борьбе с антибиотикорезистентностью. Включение в состав противомикробного препарата сложных структурных комплексов вторичных метаболитов лекарственных растений и биомолекул – веществ, входящих в состав клетки (аминокислот, нуклеиновых кислот, липидов и других соединений), может скрыть или уменьшить распознавание бактериями антибактериальных веществ. Образующиеся смешанные или смешанно-лигандные соединения могут мимикрировать и поступать в клетку по каналам, по которым идет транспорт биомолекул. Разрушаясь в клетке, они высвобождают антимикробное средство и облегчают его доступ к мишени действия.

Цель работы – оценка антибактериального потенциала биохимического взаимодействия вторичных метаболитов растительных экстрактов с антибиотиками – ингибиторами синтеза клеточной стенки бактерий в отношении грамотрицательных и грамположительных бактериальных клинических изолятов.

Результаты. На основе данных инфракрасного (ИК) анализа состава модифицированных смешанно-лигандных комплексов, данных предварительного квантово-химического моделирования смешанных комплексов с органическими молекулами, а также экспериментальной апробации полученных результатов в условиях *in vitro* было показано, что вторичные метаболиты растительных экстрактов, при содействии с антибактериальными препаратами фосфомицина и цефтазидима на клинические изоляты *S. Aureus* и *P. aeruginosa* способны к синергии, подавляя жизнедеятельность и размножение изолятов.

Практическая значимость. Модификация уже известных форм противомикробных препаратов позволит преодолеть резистентность микроорганизмов и восстановит их активность.

Ключевые слова

Смешанно-лигандные комплексы, квантово-химическое моделирование, ИК-анализ, биомолекула, бактериальная клетка, интеркаляция, экзопротеом, синергическая активность

Для цитирования

Плотникова Ю.А., Барышева Е.С., Пешков С.А. Химическая модификация противомикробных комплексов органическими молекулами с целью получения смешанно-лигандных антирезистентных агентов // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 42–52. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-05>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Большая часть антимикробной активности растительных экстрактов объясняется содержанием в них фенольных соединений, главным образом флавоноидов и их производных. Эта группа полифенолов может взаимодействовать с липидными бислоями и нарушать функциональность плазматической мембраны. Этот механизм разделяется почти всеми растительными экстрактами.

Взаимодействие полифенолов с бактериальными плазматическими мембранами может вызвать множество эффектов, которые поддерживают их антибактериальную способность. Существует большое количество доказательств того, что растительные экстракты и полифенолы обладают способностью нарушать структуру бактериальной плазматической мембраны, вызывая образование пор, утечку, изменение электрического заряда, полярности, увеличение проницаемости, изменение текучести, делокализацию мембранных белков и другие явления, ответственные за антибактериальную активность. Например, полифенолы, такие как галлоилкатехины, способны интеркалировать в мембранах, достигая глубокого положения в липидном частокле и вызывая биофизические изменения в его структуре. Эти изменения могут предотвратить образование биопленок, уменьшить секрецию части экзопротеома, ответственных за устойчивость к бета-лактамам антибиотикам. Полифенолы, извлеченные из патоки сахар-

ной свеклы, могут нанести большой ущерб бактериальной цитоплазматической мембране, вызывая утечку, разделение мембраны и клеточной стенки. Антимикробные механизмы полифенолов, которые взаимодействуют с мембранами, заключаются в разрушении их путем накопления гидроксильных групп. Это накопление изменяет гидрофобность и поверхностный заряд мембраны, вызывая сегрегацию липидов, локальные разрывы, образование и утечку пор, среди других разрушительных эффектов.

Терпены являются наиболее распространенными антимикробными соединениями (56,8%), за которыми следуют полифенолы (включая флавоноиды, фенольные кислоты и т.д.) (32,4%). Эти два химических класса обладают похожими механизмами действия, основанными на разрушении бактериальной плазматической мембраны. Если посмотреть на соединения с исключительно высокой антимикробной активностью (т.е. минимальная ингибирующая концентрация (МИК) меньше 10 мкг/мл), то большинство из них относятся к группе флавоноидов. Эти исключительно активные соединения включают хризоэриолгликозиды, гликозид изорамнетина, лютеолиновый гликозид, гибikusид С и прополиин D. Гликозиды хризоэриола и лютеолина имеют сахарный фрагмент, прикрепленный к 7-ОН флавоновых агликонов хризоэриола и лютеолина соответственно, в то время как гликозид изорамнетина имеет сахарный фрагмент, прикрепленный к 3-ОН флавонола агликона изорамнетина. Эти четыре соединения показали активность в отношении грамотрицательных бактерий *Vibrio cholerae* и грамположительных бактерий *S. aureus* через нарушение плазматической мембраны и утечку внутриклеточного содержимого. Хотя мало что известно о структурно-функциональной взаимосвязи антибактериальных фитохимических веществ, представляется, что конъюгация с сахарными фрагментами в определенных положениях ароматического кольца приводит к увеличению антибактериальной активности [1].

Имеются данные, что при однократном применении в отношении *S. aureus* кверцетин-пивалоксиметилконъюгат (Q-ПОМ) обладал антибактериальной активностью с МИК = 16...32 мг/л. Q-ПОМ показал МИК 32 мг/л против ванкомицин-резистентного *Enterococcus faecium* (VRE), что значительно ниже, чем у других исследованных антибиотиков (≥ 256 мг/л). Был обнаружен синергизм Q-ПОМ с ампициллином и цефепимом в отношении *S. aureus* и *Enterococcus* [2].

Комбинации карбапенемов и галлата эпигаллокатехина (EGCg; основной компонент катехинов чая) показали мощную синергию против 24 клинических MRSA. Минимальную ингибирующую концентрацию имипенема в присутствии EGCg при 3,125, 6,25, 12,5 и 25 мкг/мл восстанавливали до чувствительной точки разрыва (≤ 4 мкг/мл) для 8, 38, 46 и 75% изолятов MRSA соответственно. Аналогичные результаты наблюдались и для комбинаций панипенема или меропенема и EGCg. Поэтому комбинации могут быть достойны дальнейшей оценки *in vivo* против инфекции MRSA [3].

EGCg в дозах вдвое и ниже его расчетного МИК 100 мкг/мл способен влиять на резистентность к тетрациклину в стафилококковых изолятах, экспрессирующих специфический эффлюксный насос Tet(K), и, по-видимому, улучшает МИК тетрациклина для восприимчивых стафилококковых изолятов. Видимым эффектом EGCg является повышенное накопление тетрациклина внутри бактериальных клеток. Этот эффект, вероятно, обусловлен ингибированием активности насоса, и он очевиден не только для насосов Tet(K), но и для эффлюксных насосов другого класса [Tet(B)] [4].

Минимальные ингибирующие концентрации микса амоксициллина, пенициллина, кверцетина и кемпферола против всех штаммов амоксицилин резистентного стафилококка составляли 16, 200, 256-384 и >1024 мкг/мл соответственно. Синергические эффекты были проявлены на амоксициллин плюс кверцетин и пенициллин плюс кемпферол против этих штаммов с индексом FICI 0,50 и $<0,38$ соответственно. Кверцетин обладал ингибирующей активностью в отношении β -лактамазы [5].

Минимальную ингибирующую концентрацию ципрофлоксацина против RWW337 и M116 снижали в 4 и 8 раз апигенином (15...60 мкг/мл) и его аналогом изофлавоном генистеином (30...60 мкг/мл) соответственно. Генистеин также снижал МИК ципрофлоксацина в отношении SA1199B в 8 раз, но не апигенина. Даидзеин (60 мкг/мл) только потенцировал ципрофлоксацин против SA1199B (4-кратное снижение). Генистеин произвел 4-кратное снижение МИК эритромицина против штаммов RWW337, M116 и RWW50 MRSA. Потенцирующего эффекта при применении хризина не было получено [6].

При использовании комбинации икариина (1% мас./об.) и ампициллина контрольный штамм показал увеличение диаметра зоны ингибирования на 11%. Кроме того, наблюдалось повышение чувствительности во всех клинических изолятах *mesA*⁺ животных (увеличение диаметра зоны ингибирования между 11 и 20% по отношению к контролю) [7].

Комбинации EGCg-ванкомицин и EGCg-тейкопланин показали неожиданную антагонистическую тенденцию при определенных концентрациях и соотношениях. Например, EGCg при 12,5 мг/л противодействовал активности тейкопланина при 0,5 мг/л, но EGCg при 6,25 и 25 мг/л показал аддитивный эффект с тейкопланином в той же концентрации. Комбинация EGCg с полимиксином В также была протестирована против *E. coli*. EGCg, по-видимому, противодействовал активности полимиксина В; МИК полимиксина В увеличивался с 0,25 до 2 мг/л в присутствии 12,5 мг/л EGCg [8].

Было показано, что использование различных антибиотиков — ампицилина (AMP), оксациллина (OXI), гентамицина (GET), ципрофлоксацина (CIP) и норфлоксацина (NOR) — в сочетании с софарафлаваном В (SPF-B) вызвало значительное снижение роста MRSA. Эта комбинированная терапия протекает различными путями в соответствии с антибактериальным средством, используемым против патогенных инфекций. Наиболее распространенной комбинированной стратегией является использование лекарств, каждое из которых ингибирует различный бактериальный путь [9].

Был изучен комбинированный эффект кемпферола (3,5,7-тригидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4Н-хромен-4-он) и кверцетина (2-(3,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидрокси-4Н-хромен-4-он) с рифампицином против штаммов MRSA, резистентных к рифампицину. Только кемпферол и кверцетин были способны легко ингибировать β -лактамазу, но в сочетании с рифампицином наблюдаемое ингибирование увеличивалось на 57,8 и 75,8% соответственно. Исследованные гликозиды кемпферола потенцировали активность ципрофлоксацина в 4–8 раз по отношению ко всем штаммам MRSA [10].

Среди флавоноидов взаимосвязь между структурой и антимикробной активностью широко изучалась в хальконах ((2E)-1,3-дифенилпроп-2-en-1-one). Характерной особенностью молекулы халькона является открытое гетероциклическое кольцо, замыкание которого превращает халкон во флаванон. Полученные данные свидетельствуют о том, что хальконовый скелет является привлекательным шаблоном для химических модификаций, которые могут повысить антимикробный потенциал. Известно, что гидроксирование кольца А, особенно в положении 2', усиливает антибактериальные свойства, в то время как замещение углерода в положении 2' метокси- или ацетильными группами дает противоположные эффекты. Фторирование кольца А в положении 3' и/или 5' также снижает антибактериальные свойства. Что касается хальконового кольца В, то известно, что прикрепление липофильных заместителей, особенно в положении 4' и 5', усиливает антибактериальный потенциал. Наличие фенольных гидроксильных групп с высоким сродством связывания с белками может ингибировать микробные ферменты и одновременно повышать сродство к цитоплазматическим мембранам, тем самым усиливая антибактериальную активность. Показано, что замещение соединения одной гидроксильной группой и/или определенной степенью липофильности достаточно для повышения его антибактериальных свойств.

Более того, доказано, что замещение гидроксила в положениях 2' и 4' или 2' и 6' В-кольца и в положениях 5' и 7' А-кольца значительно повышает антибактериальную активность флаванонов даже против штаммов MRSA. Повышение антимикробного потенциала может быть достигнуто также путем замены положения 6' или 8' длинной алифатической цепью.

Повышение гидрофобности флавоноидов путем замещения длинных алифатических цепей облегчает взаимодействие с бактериальной цитоплазматической мембраной, тем самым повышая антибактериальную активность этих соединений.

Другие исследования также показали, что синтетические модификации природных флавоноидов повышают их антибактериальную активность. Например, добавление N-гетероциклического кольца в 7' положении кольца А хризина дает 16–32-кратное повышение антимикробной активности по сравнению с самим хризином, поскольку у него большая липофильность. Показано, что кверцетин и хризин обладают более сильной антимикробной активностью в отношении штамма *S. aureus* ATCC 6538 (МИК = 6,25 мкг/мл), чем лютеолин (50 мкг/мл) и другие производные 140 гликозидов (100...400 мкг/мл), из-за их относительно низкой полярности [10].

Ц е л ь р а б о т ы – изучение антибактериального и синергического эффектов межмолекулярных комплексов, при совместном присутствии противомикробных препаратов и вторичных метаболитов лекарственных растений или биомолекул – органических компонентов клетки, для преодоления резистентности микроорганизмов к уже известным формам противомикробных препаратов и восстановлению их активности.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили бактериальные клинические изоляты *P. aeruginosa* и *S. aureus*, посев которых осуществлялся на плотные питательные среды, с последующим выделением и идентификацией чистой культуры микроорганизма, определением чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам и бактериофагам [11].

В исследование включены 10 лекарственных растений с предварительно установленной выраженной антибактериальной активностью, приобретенных в аптечной сети: *Herba Achilleae millefolii* (фиточай «Тысячелистника трава» серия Алтай, изготовитель ООО «АЛСУ»); *Folia Eucalypti viminalis* (эвкалипта лист, серии Алтай, изготовитель ООО «Фирма Кима»); *Urticae folia* (крапивы листья, изготовитель АО «Красногорсклексредства»); *Cortex Quercus* (сухой экстракт дуба (кора), изготовитель ООО «Казанский завод экстрактов»); *Herba Hyperici* (зверобоя трава, изготовитель АО «Красногорсклексредства»); *Camellia sinensis* (чай зеленый «Flying Dragon», производитель ООО «ОРИМИ»); *Ribes nigrum L.* (сухой экстракт черной смородины (*Ribes nigrum L.*), изготовитель ООО «Казанский завод экстрактов»); *Sorbus aucuparia L.* (сухой экстракт рябины красной, изготовитель ООО «Казанский завод экстрактов»); *Allium sativum* (чеснок сушеный, поставщик АО «Продимпорт»); *Dianthus* (гвоздика *Dianthus Kamis*, изготовитель АО МАККОРМИК Польша).

Из спектра антибактериальных препаратов были отобраны представители, оказывающие влияние на клеточную стенку бактерии. Это антибиотик цефалоспоринового ряда III поколения – цефтазидим и антибиотик широкого спектра действия – фосфомицин. Предполагается, что молекулы биологически активных веществ (БАВ) будут воздействовать как на антибиотик, так и на пенициллинсвязывающие белки в составе комплекса с антибиотиком или будет происходить ингибирование β -лактамаз БАВ.

В квантово-химическом расчете на первом этапе молекулы исследуемых веществ оптимизировались в небольшом приближении RVE/3-21+G. Производился конфигурационный поиск, и с учетом оптимального пространственного расположения функциональных групп выполнялись дальнейший расчет исследуемых молекул и построение карт молекулярно-электростатического потенциала (МЭП). Рассчитанные на первом этапе молекулы, с учетом МЭП, попарно соединяли и оптимизировали с использованием теории функционала плотности в приближении RVE/3-21+G.

Спектры чистых веществ и предполагаемых межмолекулярных комплексов получали с использованием Фурье-спектрометра «ИНФРАЛЮМ ФТ-02» и ИК-Фурье-спектрометра Bruker Alpha (без приставки НПВО).

Экспериментальную апробацию совокупного действия смешанно-лигандных комплексов проводили методом диффузии в лунки агара.

Результаты и обсуждение

Изначально, были проведены исследования противомикробной активности в условиях *in vitro* при совместном введении в среду БАВ и антибиотиков (фосфомицина и цефтазидима), в которых был обнаружен синергический эффект, проявляющийся в уменьшении минимально необходимых концентраций последних. Затем, чтобы доказать и объяснить такой эффект, были использованы методы квантовой химии и спектральные методы, в которых продемонстрировано возможное образование межмолекулярных комплексов.

Исследования *in vitro*. Методом трёхкратной спиртовой экстракции были получены фенольные извлечения из исследуемых лекарственных растений. Спектрофотометрически определено количественное их содержание (λ – 765 нм, контроль – хлороформ) и получены комбинации с фосфомицином и цефтазидимом. Контролем служили комбинации спиртовых растительных экстрактов (настоек) с выбранными антибиотиками. В таблице приведены данные оптической плотности (D) и концентрации флавоноидов (мг/г), выделенных из растительных экстрактов.

Таблица. Количественные значения оптической плотности (D) и концентрации (мг/г) флавоноидов

Растительный экстракт	Значение оптической плотности, D	Концентрация, мг/г
<i>Dianthus</i>	4,759±0,0017	0,0925
<i>Herba Achilleae millefolii</i>	4,452±0,0016	0,09
<i>Ribes nigrum L.</i>	4,049±0,0012	0,08175
<i>Herba Hyperici</i>	5,851±0,0017	0,11625
<i>Folia Eucalypti viminalis</i>	6,603±0,0021	0,12575
<i>Urticae folia</i>	2,783±0,0017	0,058
<i>Cortex Quercus</i>	3,975±0,0005	0,0795
<i>Camellia sinensis</i>	5,680±0,0012	0,11125
<i>Sorbus aucuparia L.</i>	4,114±0,0022	0,0825
<i>Allium sativum</i>	2,363±0,0017	0,04925
Контроль (хлороформ)	0,505±0,0005	

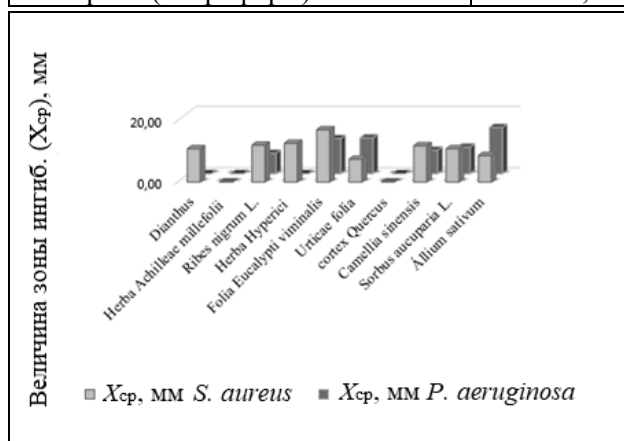


Рис. 1. Зоны ингибирования (мм) флавоноидов
Fig. 1. Zones of inhibition (mm) of flavonoids

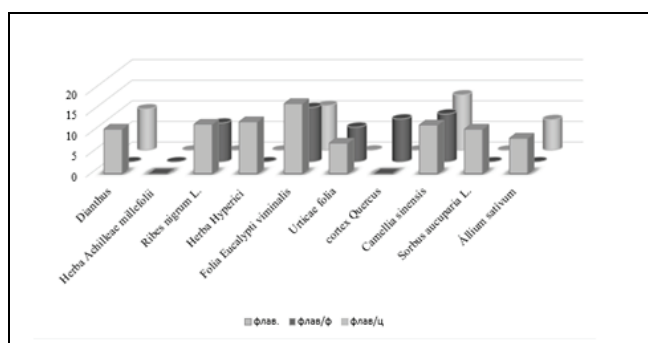


Рис. 2. Оценка ингибирующего потенциала комплексов флавоноиды + фосфомицин и комплексов флавоноиды + цефтазидим в отношении *S. aureus*
Fig. 2. Evaluation of the inhibitory potential of flavonoids and Fosfomicin complexes and flavonoids and ceftazidime complexes against *S. aureus*

Как видно из рис. 2 и 3, отмечен синергический эффект во взаимодействии комплексов цефтазидим + флавоноиды. *Dianthus*, *Herba Achilleae millefolii*, *Ribes nigrum L.*, *Folia Eucalypti viminalis*, *Cortex Quercus* показали следующие зоны ингибирования: 12,8±0,33 мм (0 мм в настойках); 11±0,4 мм* (0 мм в

Анализ зон ингибирования клинических изолятов *S. aureus* и *P. aeruginosa* (рис. 1) демонстрирует отсутствие влияния флавоноидных извлечений *Herba Achilleae millefolii* и *Cortex Quercus*. (концентрации – 0,09 мг/г и 0,0795 мг/г соответственно). Наиболее высокие концентрации фенольных соединений обнаружены в образцах *Herba Hyperici*, *Folia Eucalypti viminalis* и *Camellia sinensis* (0,11625 мг/г, 0,12575 мг/г и 0,11125 мг/г соответственно), проявившие ингибирующие свойства в отношении всех изолятов.

Обращает на себя внимание тот факт, что относительно высокая степень ингибирования в отношении *S. aureus* обнаружена у *Allium sativum*, при том что концентрация фенольных соединений в его составе была минимальной в сравнении с другими экстрактами (0,04925 мг/г).

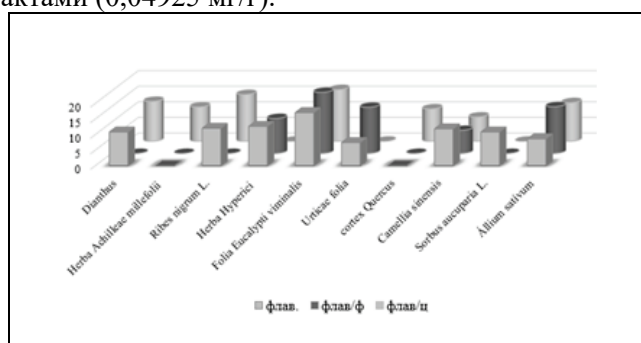


Рис. 3. Оценка ингибирующего потенциала комплексов флавоноиды + фосфомицин и комплексов флавоноиды + цефтазидим в отношении *P. aeruginosa*
Fig. 3. Evaluation of the inhibitory potential of flavonoids and Fosfomicin complexes and flavonoids and ceftazidime complexes against *P. aeruginosa*

настойках); $15 \pm 0,40$ мм** ($8 \pm 0,49$ мм); $16,6 \pm 0,67$ мм ($12,8 \pm 0,52$ мм); $10,4 \pm 0,46$ мм* ($7,4 \pm 0,22$ мм) соответственно.

Синергизм в ингибировании для комплексов фосфомицин + флаваноиды присутствовал у *Herba Hyperici*, *Folia Eucalypti viminalis*, *Urticae folia*, *Allium sativum* (зоны ингибирования составили $11,2 \pm 0,66$ мм* (0 мм в настойке); $19,6 \pm 0,46$ мм ($12,8 \pm 0,52$ мм); $14,8 \pm 0,44$ мм ($10,6 \pm 0,54$ мм); $15 \pm 0,57$ мм ($13,8 \pm 0,44$ мм)). Однако в случае с *Urticae folia* полученные результаты оказались не достоверными. В остальных случаях, с учетом погрешностей, наблюдался аддитивный эффект либо его полное отсутствие. Стоит принять во внимание, что были использованы комплексы антибиотика + вторичные метаболиты из расчета, что концентрация антибиотика составляла менее МИК. Таким образом удалось установить вариант присутствия взаимодействия как такового (либо его полного отсутствия, либо же антагонизма).

Квантово-химические расчеты. Чтобы объяснить наблюдаемый синергический эффект от введения БАВ в среду при культивировании, выражающийся в уменьшении требуемой минимальной концентрации антибиотиков для подавления роста бактерий, были использованы методы квантовой химии. Возможно, в среде образуются межмолекулярные или даже молекулярные комплексы между БАВ и фосфомицином и цефтазидимом. Доказать это (частично) можно по распределению электронной плотности на атомах и электростатическому потенциалу. Области, имеющие большой отрицательный потенциал, сопряженный с наличием гидроксильных или карбонильных групп, должны стать электрофильными центрами, а молекула или ее участок в целом – нуклеофилом. Все это должно привести к образованию, за счет электростатических сил, межмолекулярного комплекса между молекулами БАВ с молекулами антибиотиков, а в случае наличия комплексообразователя к смешанно-лигандному комплексу.

На рис. 4 представлены молекулярно-электростатический потенциал (МЭП) и распределение электронной плотности БАВ и антибиотиков.

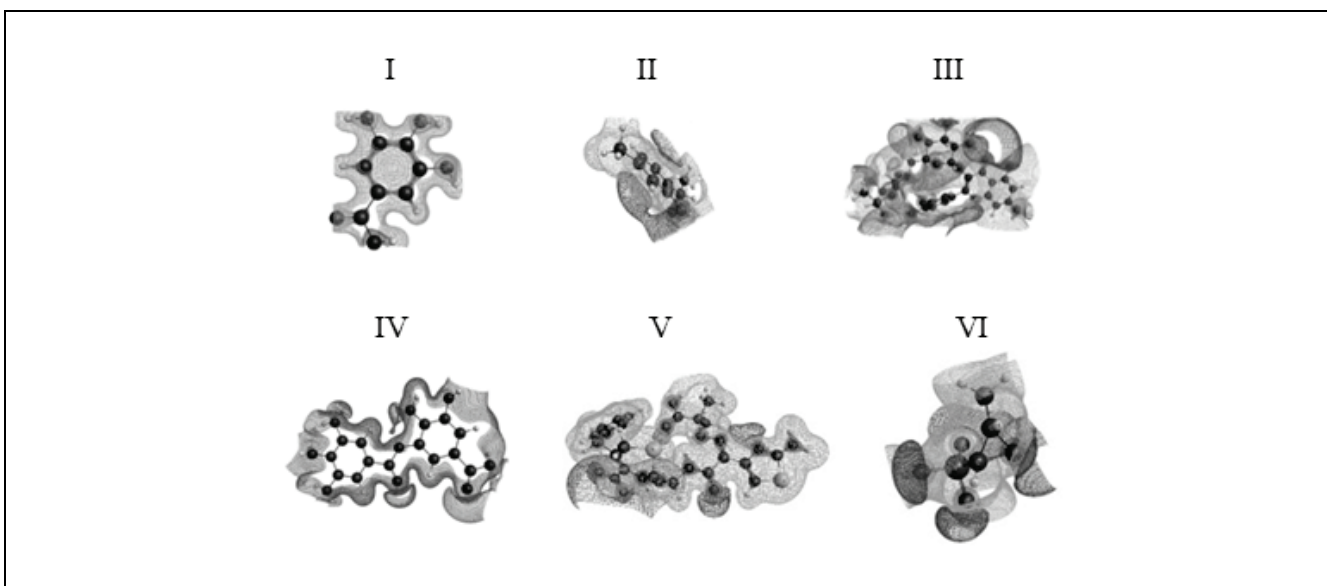


Рис. 4. Молекулярно-электростатический потенциал и распределение электронной плотности (I – gallic acid, II – thymol, III – rutin, IV – tannin, V – ceftazidime, VI – fosfomycin)

Fig. 4. Molecular electrostatic potential and electron density distribution (I – gallic acid, II – thymol, III – rutin, IV – tannin, V – ceftazidime, VI – fosfomycin)

По изображениям МЭП исследуемых структур можно предположить, что все соединения, за исключением галловой кислоты, могут выступать как электро- так и нуклеофилами. Наибольшая электронная плотность сосредоточена на атомах кислорода и азота, в некоторых случаях распределена по ароматическому кольцу. В основном, отрицательные области электростатического потенциала расположены вдоль гидроксильных групп.

В случае с противомикробными средствами для фосфомицина электрофильные участки расположены точно над гидроксильными группами; для цефтазидаима форма электрофильных участков сложная.

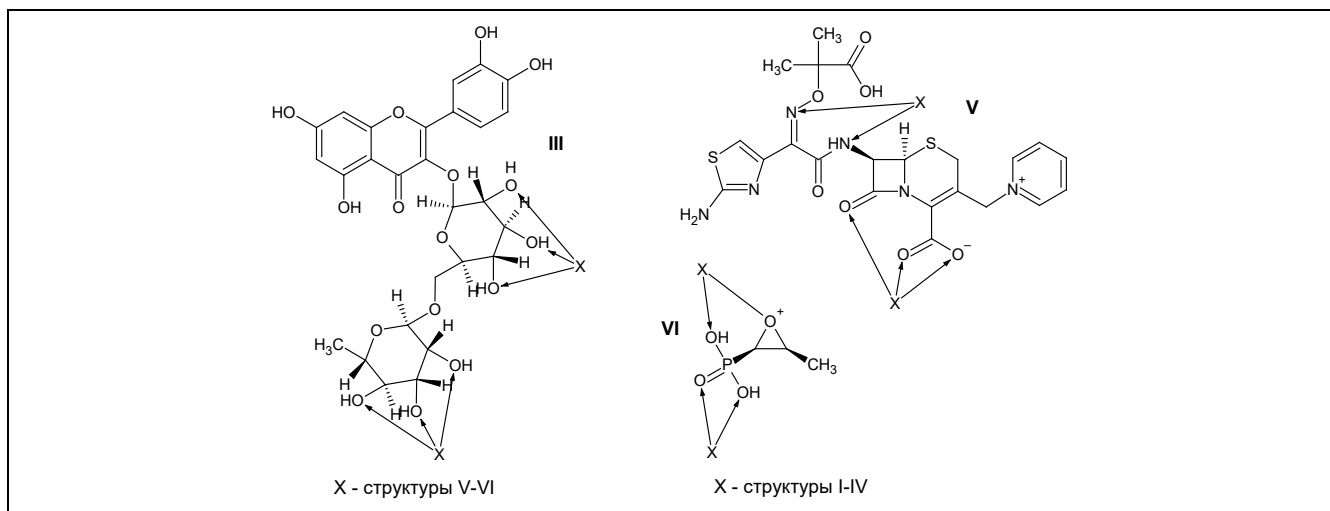


Рис. 5. Возможные конфигурации межмолекулярных комплексов БАВ с молекулами фосфомицина и цефтазидама
 Fig. 5. Possible configurations of intermolecular complexes of BAS with phosphomycin and ceftazidime molecules

На рис. 5 показаны центры, к которым может присоединиться противоположная молекула БАВ или антибиотиков. Это может быть выражено в маскировании молекул АБ от *бета*-лактамаз и, как следствие, в уменьшении их необходимой концентрации.

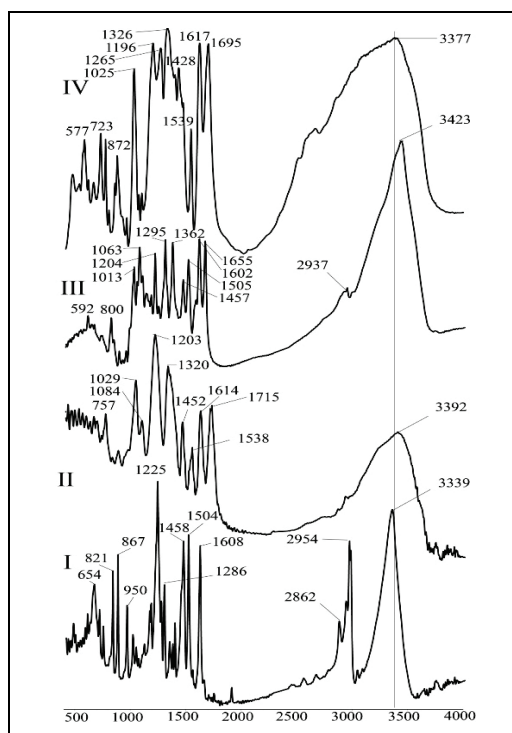


Рис. 6. Спектры биологически активных веществ: I – тимол, II – танин, III – рутин, IV – галловая кислота

Fig. 6. Spectra of biologically active substances: I – thymol, II – tannin, III – rutin, IV – gallic acid

Спектральный анализ. Для доказательства наличия или отсутствия молекулярных смешанно-лигандных комплексов были получены (с помощью ИК-Фурье-спектрометра) спектры чистых веществ и экстрактов, выделенных из растений, отдельно и совместно с фосфомицином и цефтазидимом. Спектры чистых БАВ, находящихся в экстрактах, приведены на рис. 6. Спектр с номером II получен из порошка с фармацевтическим названием – танин, представляет собой смесь фенольных веществ, выделяемых из растений, общее название которых – танины. В диапазоне 3200...3500 см⁻¹ находятся валентные колебания гидроксильных групп. У исследуемых молекул их разное количество и расположение, поэтому в спектрах БАВ наблюдается смещение полос поглощения как в ультрафиолетовую, так и в инфракрасную область относительно друг друга. Частоты 2950...2850 см⁻¹ соответствуют валентным колебаниям метильных, –CH₂– групп и –CH– групп ароматических колец. Частоты в разных спектрах, находящиеся в диапазоне ~1700...1550 см⁻¹, относятся к деформационным колебаниям связей C–C в ароматических кольцах и ν(C=O), 1600...1450 см⁻¹ к маятниковым и вилочковым колебаниям метильных групп и групп –CH–, –CH₂–. После 1400 см⁻¹ начинаются сложные колебания углеродного скелета с дополнительными вкладами δ(–OH), крутильными колебаниями δ(–CH₃), плоскостными деформационными колебаниями с участием –(CH)_n–, –(CH)_n, –OH.

В спектрах противомикробных веществ (рис. 7) пики находятся на почти тех же частотах. Конечно, наблюдаются смещение и появление дополнительных пиков, в частности с фосфомицином; пик 1525 см⁻¹, сильно отличающийся по интенсивности, соответствует валентному колебанию –P=O. С цефтазидимом можно наблюдать несколько дополнительных пиков в пределах 3450...3250 см⁻¹, соответствующих валентным колебаниям аминогрупп, и 1700...1350 см⁻¹, относящихся к δ(–NH₂), δ(–NH–), δ(–O–N–C–).

В целом, точная идентификация используемых в работе веществ не требуется; вещества для анализа имеют марку ч.д.а., а наличие БАВ в экстрактах описано во множестве научных исследований. Кроме того, установление соответствия колебаний атомов в молекуле частотам на экспериментальном ИК-спектре и совпадение экспериментальных и полученных теоретических ИК-спектров проверяли с помощью квантово-химического анализа в приближении PBE/3-21+G с учетом масштабирующего фактора 0,923. Наблюдалось практически полное совпадение по частотам.

Основная задача спектрального анализа заключалась в проверке: вступают ли антибиотики с молекулами БАВ в химическую реакцию или с другими молекулами в экстрактах растений. Как видно по спектрам (рис. 8) – нет. Ключевые частоты БАВ находятся на одинаковых полосах и в спектрах экстрактов хорошо просматриваются. Полосы поглощения в противомикробных средствах почти совпадают с полосами поглощения в БАВ, однако в экстрактах, при совместном введении в среду, не заметны на фоне. Это говорит о малой концентрации антибиотиков, но также указывает и на то, что в химическое взаимодействие цефтазидим и фосфомицин не вступают, поскольку отсутствуют дополнительные пики, свидетельствующие о продуктах реакции. Следовательно, антибиотики в растворе могут образовывать только межмолекулярные комплексы.

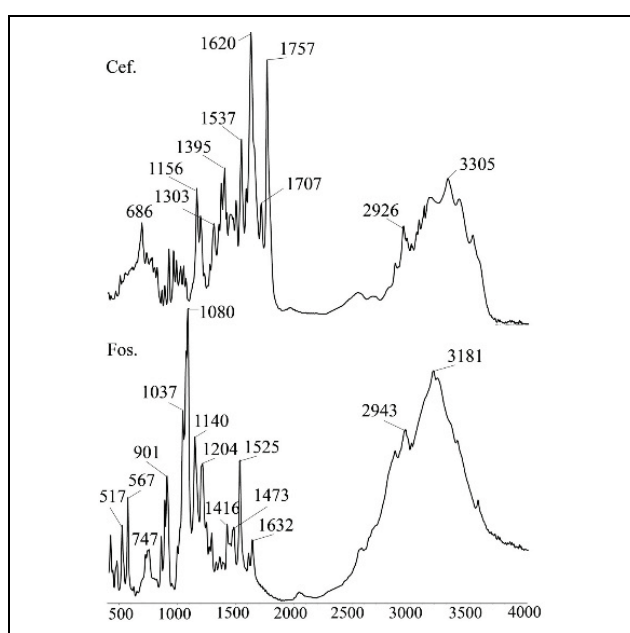


Рис. 7. Спектры противомикробных веществ: сверху – цефтазидим, внизу – фосфомицин
Fig. 7. Antimicrobial spectra: top – ceftazidime; bottom – Fosfomicin

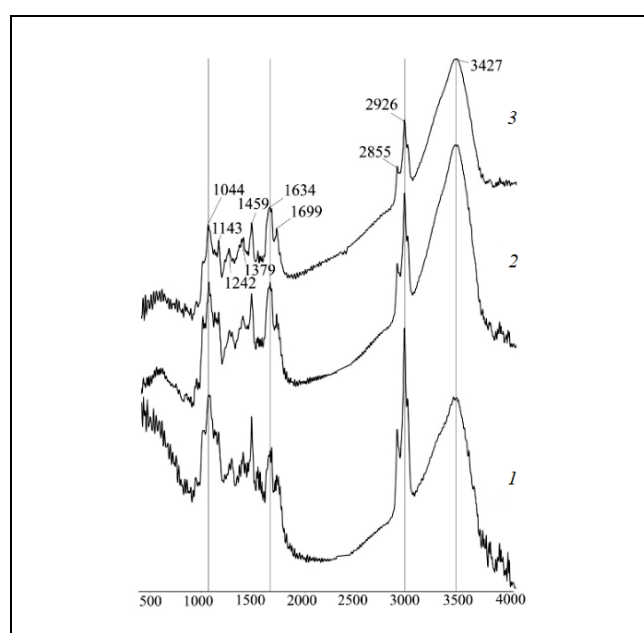


Рис. 8. Спектры экстрактов БАВ, полученных из зеленого чая: 1 – только экстракт зеленого чая; 2 – экстракт зеленого чая с цефтазидимом; 3 – экстракт зеленого чая с фосфомицином
Fig. 8. Spectra of BAS extracts obtained from green tea: 1 – green tea extract only; 2 – green tea extract with ceftazidime; 3 – green tea extract with fosfomicin

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что антибактериальная активность может быть обусловлена как возможным синергическим эффектом между взаимодействующими комплексами вторичных метаболитов и антибиотиков, так и индивидуальными механизмами, присущими конкретному действующему агенту, присутствующему в экстракте. При этом, не стоит исключать зависимость полученных результатов как от внешних условий взаимодействия (среда, температура, и т.д.), так и внутренних факторов (изменение конформаций, условий протекания реакций и пр.)

В результате проведенных исследований было установлено:

1. Биохимическое взаимодействие комплексов вторичных метаболитов растительных экстрактов с антибиотиками в условиях *in vitro* позволило выявить синергические эффекты в отношении изолятов *S. aureus* со стороны комплексов *Ribes nigrum L*, *Urticae folia*, *Camellia sinensis*, *Allium sativum* (комплекс «вт.метаб. + антибиотики»). Не наблюдалось взаимодействия у *Herba Achilleae millefolii*.

Наиболее выраженный синергический эффект отмечен у комплексов *Folia Eucalypti viminalis* и *Camellia sinensis*., отличающихся величиной зоны ингибирования как в случае комплексного действия с цефтазидимом, так и с фосфомицином.

В отношении изюлатов *P.aeruginosa* отмечены проявления синергических эффектов у *Folia Eucalypti viminalis*, *Camellia sinensis*, *Allium sativum* в комплексе с обоими антибиотиками. При этом в случае с *Herba Achilleae millefolii* и *Cortex Quercus*, флавоноиды которых не оказывали ингибирующего действия на оба бактериальных штамма, в случае совокупного действия с антибиотиками был отмечен ингибирующий эффект в отношении *P.aeruginosa* комплексов с цефтазидимом.

Наилучшие показатели синергического взаимодействия наблюдались у *Folia Eucalypti viminalis* и *Allium sativum*, синергизм с антибиотиками.

2. Присутствие в составе вторичных метаболитов, таких соединений, как рутин (*Herba Hyperici*, *Folia Eucalypti viminalis*), галловая кислота (*Herba Hyperici*, *Camellia sinensis*, *Cortex Quercus*), тимол (*Urticae folia*, *Herba Achilleae millefolii*, *Camellia sinensis*, *Sorbus aucuparia* L, *Dianthus*), танин (*Folia Eucalypti viminalis*, *Cortex Quercus*), раскрывает механизм действия, объясняющий природу возникновения антибактериального эффекта.

3. Квантово-химический расчет и анализ ИК-спектров указал на отсутствие химических взаимодействий между антибактериальными агентами и вторичными метаболитами, на что указывает отсутствие дополнительных пиков, соответствующих продуктам реакции. Следовательно, антибиотики в растворе могут образовывать только межмолекулярные комплексы с молекулами БАВ.

Список источников

1. Alvarez-Martinez F.J., Barrajon-Catalan E., Herranz-Lopez M., Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action // Phytomedicine. 2021. V. 90. P. 1–16.
2. Kyoung Kim Mi, Tae-Gum Lee, Minji Jung, Ki-Ho Park, Youhoon Chong. In Vitro Synergism and Anti-biofilm Activity of Quercetin-Pivaloxymethyl Conjugate against Staphylococcus aureus and Enterococcus Species // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2018. V. 66. P. 1019–1022.
3. Hu Z.Q., Zhao W.H., Asano N., Yoda Y., Hara Y., Shimamura T. Epigallo-catechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant Staphylococcus aureus // Antimicrob Agents Chemother. 2002. V. 46. № 2. P. 558–560.
4. Sudano Roccaro A., Blanco A.R., Giuliano F., Rusciano D., Enea V. Epigal-locatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells // Antimicrob Agents Chemother. 2004. V. 48. № 6. P. 1968–1973.
5. Siriwong S., Teethaisong Y., Thumanu K., Dunkhunthod B., Eumkeb G. The synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant Staphylococcus epidermidis // BMC Pharmacol Toxicol. 2016. V. 17. № 1. P. 1–14.
6. Abreu A.C., Coqueiro A., Sultan A.R., Lemmens N., Kim H.K., Verpoorte R., van Wamel W.J.B., Simoes M., Choi Y.H. Looking to nature for a new concept in antimicrobial treatments: isoflavonoids from Cytisus striatus as antibiotic adjuvants against MRSA // Scientific Reports. 2017. V. 7. № 1. P. 1–16.
7. Peris M.C., Martinez A., Ortiz M.P., Sheth C.C., Veses V. Icarin in Combination with Amoxicillin-Clavulanate and Ampicillin, but Not Vancomycin, Increases Antibiotic Sensitivity and Growth Inhibition against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus // Antibiotics (Basel). 2022. V. 11. № 2. P. 1–10.
8. Zhi-Qing H., Wei-Hua Z., Yoshiyuki Y., Nozomi A., Yukihiko H., Tadakatsu S. Additive, indifferent and antagonistic effects in combinations of epigallocatechin gallate with 12 non-β-lactam antibiotics against methicillin-resistant Staphylococcus aureus // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2002. V. 50. № 6. P. 1051–1054.
9. Mun S.H., Kang O.H., Joung D.K., Kim S.B., Seo Y.S., Choi J.G., Lee Y.S., Cha S.W., Ahn Y.S., Han S.H., Kwon D.Y. Combination Therapy of Sophoraflavanone B against MRSA: In Vitro Synergy Testing // Evid Based Complement Alternat Med. 2013. P. 1–7.
10. Miklasinska-Majdanik M., Kępa M., Wojtyczka R.D., Idzik D., Wąsik T.J. Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of Staphylococcus Aureus Clinical Strains // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2018. V. 15. № 10. P. 1–18.
11. Климова Т.А. Барышева Е.С., Плотникова Ю.А. Использование эссенциальных элементов транзитными пробиотическими штаммами в системе коррекции минерал-дефицитных состояний на модели лабораторных животных // Технологии живых систем. 2021. Т. 18. № 4. С. 34–43.

Информация об авторах

Юлия Александровна Плотникова – зав. лабораторией, кафедра биохимии и микробиологии

SPIN-код: 2475-5210

Елена Сергеевна Барышева – д.м.н., доцент, зав. кафедрой биохимии и микробиологии

SPIN-код: 4026-5042

Сергей Алексеевич Пешков – к.х.н., доцент, кафедра химии

SPIN-код: 3198-5673

Статья поступила в редакцию 11.03.2023

Одобрена после рецензирования 23.03.2023

Принята к публикации 17.04.2023

Original article

Chemical modification of antimicrobial complexes with organic molecules in order to obtain mixed ligand anti-resistant agents

Y.A. Plotnikova¹, E.S. Barysheva², Peshkov S.A.³

¹⁻³ Orenburg State University (Orenburg, Russia)

¹ shik8mail@mail.ru, ² baryshevae@mail.ru, ³ darvin156@mail.ru

Abstract

As a result of the conducted studies, it was found that the antibacterial activity may be due to both a possible synergistic effect between interacting complexes of secondary metabolites and antibiotics, and individual mechanisms inherent in a specific active agent present in the extract. At the same time, the antibacterial effect shown by the complex interaction of antibiotics and plant extracts to specific nitrogen- or phenol-containing compounds depends on the external conditions of interaction (environment, temperature, pressure, humidity, etc.), and internal factors (changes in the conformations of interaction, reaction conditions, etc.)

The probability of synergistic interaction was estimated by modeling the complexes "antibiotic + secondary metabolite" in the in silico experiment in the Autodock program. The analysis of the molecular-electrostatic potential and the distribution of electron density allowed us to obtain several of the most successful intermolecular complexes, the probability of formation of which would be the greatest.

As a result of the conducted research, it was established:

1. Biochemical interaction of complexes of plant extracts and their secondary metabolites with antibiotics in vitro revealed synergistic effects against *S.aureus* isolates from the complexes *Dianthus*, *Herba Achilleae millefolii*, *Nerba Nuregisi* and *Sortex Quercus* (complex "tinctures + antibiotics"). However, for these extracts, no inhibition was observed in the interaction of antibiotics with secondary metabolites.

A noticeable synergistic effect was observed in *Urticae folia* and *Camellia sinensis* complexes (both in the case of tinctures and secondary metabolites). It should also be noted the synergism of combinations with *Allium sativum* ("antibiotics + secondary metabolites").

With respect to *P.aeruginosa* isolates, manifestations of synergistic effects were noted with respect to all extracts, with a difference in agents. So for *Dianthus* it is a combination of antibiotics with secondary metabolites. At the same time, tinctures separately, and tinctures in combination with antibiotics did not manifest themselves in any way. For *Herba Achilleae millefolii*, a synergistic effect was obtained in combinations of "antibiotics + tinctures" and "antibiotics + secondary metabolites". Similar results were found in *Nerba Nuregisi*, *Urticae folia*, *Camellia sinensis*, *Folia Eucalypti viminalis*, *Sorbus aucuparia* L. and *Allium sativum*. In an experiment with *Sorbus aucuparia* L., combinations of "antibiotic + secondary metabolites" are characterized by an additive effect rather than a synergistic one.

2. The presence in the composition of secondary metabolites of compounds such as rutin (*Nerba Nuregisi*, *Folia Eucalypti viminalis*), gallic acid (*Nerba Nuregisi*, *Camellia sinensis*, *Sortex Quercus*), thymol (*Urticae folia*, *Herba Achilleae millefolii*, *Camellia sinensis*, *Sorbus aucuparia* L., *Dianthus*), reveals the mechanism of action that explains the nature of occurrences antibacterial effect.

3. The evaluation of the molecular-electrostatic potential and interaction energies obtained by computer modeling in the in silico experiment in the Autodock program allowed us to determine the nucleophilicity of rutin and thymol, as well as ceftazidime and fosfomycin, and also to assume the most probable conformations of their interactions.

4. The analysis of IR spectra indicated the absence of chemical interactions between antibacterial agents and secondary metabolites, as indicated by the absence of additional peaks on the maps of reaction products. The key frequencies of secondary metabolites are on the same bands and are clearly visible in the spectra of extracts. The absorption bands in antimicrobials almost coincide with the absorption bands in secondary metabolites, however, in extracts, when co-administered into the medium, they are not noticeable against the background. Consequently, antibiotics in solution can form only intermolecular complexes.

Keywords

Mixed ligand complexes, quantum chemical modeling, IR analysis, biomolecule, bacterial cell, intercalation, exoproteome, synergistic activity

For citation

Plotnikova Y.A., Barysheva E.S., Peshkov S.A. Chemical modification of antimicrobial complexes with organic molecules in order to obtain mixed ligand anti-resistant agents. *Technologies of Living Systems*. 2023. V. 20. № 2. P. 42–52. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-05> (In Russian)

References

1. Alvarez-Martinez F.J., Barrajon-Catalan E., Herranz-Lopez M., Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*. 2021. V. 90. P. 1–16.
2. Kyoung Kim Mi, Tae-Gum Lee, Minji Jung, Ki-Ho Park, Youhoon Chong. In Vitro Synergism and Anti-biofilm Activity of Quercetin-Pivaloxymethyl Conjugate against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* Species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2018. V. 66. P. 1019–1022.
3. Hu Z.Q., Zhao W.H., Asano N., Yoda Y., Hara Y., Shimamura T. Epigallo-catechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002. V. 46. № 2. P. 558–560.
4. Sudano Roccaro A., Blanco A.R., Giuliano F., Rusciano D., Enea V. Epigal-locatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2004. V. 48. № 6. P. 1968–1973.

5. Siriwong S., Teethaisong Y., Thumanu K., Dunkhunthod B., Eumkeb G. The synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2016. V. 17. № 1. P. 1–14.
6. Abreu A.C., Coqueiro A., Sultan A.R., Lemmens N., Kim H.K., Verpoorte R., van Wamel W.J.B., Simoes M., Choi Y.H. Looking to nature for a new concept in antimicrobial treatments: isoflavonoids from *Cytisus striatus* as antibiotic adjuvants against MRSA. *Scientific Reports.* 2017. V. 7. № 1. P. 1–16.
7. Peris M.C., Martinez A., Ortiz M.P., Sheth C.C., Veses V. Icarin in Combination with Amoxicillin-Clavulanate and Ampicillin, but Not Vancomycin, Increases Antibiotic Sensitivity and Growth Inhibition against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel).* 2022. V. 11. № 2. P. 1–10.
8. Zhi-Qing H., Wei-Hua Z., Yoshiyuki Y., Nozomi A., Yukihiko H., Tadakatsu S. Additive, indifferent and antagonistic effects in combinations of epigallocatechin gallate with 12 non- β -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2002. V. 50. № 6. P. 1051–1054.
9. Mun S.H., Kang O.H., Joung D.K., Kim S.B., Seo Y.S., Choi J.G., Lee Y.S., Cha S.W., Ahn Y.S., Han S.H., Kwon D.Y. Combination Therapy of Sophoraflavanone B against MRSA: In Vitro Synergy Testing. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013. P. 1–7.
10. Miklasinska-Majdanik M., Kępa M., Wojtyczka R.D., Idzik D., Wąsik T.J. Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of *Staphylococcus Aureus* Clinical Strains. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2018. V. 15. № 10. P. 1–18.
11. Klimova T.A., Barysheva E.S., Plotnikova Yu.A. Ispolzovanie essentsialnykh elementov tranzitornymi probioticheskimi shtammami v sisteme korrektsii mineral-defitsitnykh sostoyanij na modeli laboratornykh zhivotnykh. *Tekhnologii zhivykh system* 2021. T. 18. № 4. S. 34–43. (in Russian).

Information about the authors

Yulia A. Plotnikova – Head of Laboratory, Department of Biochemistry and Microbiology

Elena S. Barysheva – Dr.Sc. (Med.), Head of the Department of Biochemistry and Microbiology

Sergey A. Peshkov – Ph.D. (Chem.), Associate Professor, Department of Chemistry

The article was submitted 11.03.2023

Approved after reviewing 23.03.2023

Accepted for publication 17.04.2023

Научная статья
УДК 579.61:577.15
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-06>

Влияние условий культивирования *Aspergillus fumigatus* на секрецию коллагенолитических протеаз

З.К. Никитина¹, Э.М. Насибов², И.К. Гордонова³, П.С. Савин⁴

¹⁻⁴ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений – ВИЛАР (Москва, Россия)
¹ nikitinaz@yandex.ru, ² el-one-1@mail.ru, ³ igordonova777@yandex.ru, ⁴ pavel-savin@list.ru

Аннотация

Постановка проблемы. В последнее время в медицине особое внимание уделяется методам, основанным на неинвазивных подходах, в том числе с использованием так называемых «терапевтических» ферментов, обеспечивающих выраженный эффект при низких концентрациях и физиологических условиях. К таким ферментам относятся коллагеназы – эндопептидазы, катализирующие химические процессы и разрушающие пептидные связи в коллагене. Коллаген — основной структурный белок межклеточного матрикса, играющий важную роль в физиологических и патологических процессах в организме. В связи с этим ферменты, гидролизующие белок, имеют значительный потенциал для использования в медицине. Кроме того, коллагеназы могут применяться в пищевой промышленности, фармации, для решения экологических проблем. Все сказанное выше определяет актуальность поиска новых продуцентов коллагенолитических протеаз и оптимизацию условий синтеза ферментов.

Цель работы – изучение влияния условий культивирования *Aspergillus fumigatus* на секрецию коллагенолитических протеаз.

Результаты. Объектом исследования являлся микромицет *A. fumigatus* F 22 из коллекции микромицетов ФГБНУ ВИЛАР. Выявлены факторы экзогенной регуляции, влияющие на скорость роста и коллагенолитическую активность *A. fumigatus*. Найден оптимальный состав модифицированной среды и количество посевного материала при погруженном культивировании. Обнаружено, что способ инокуляции при погруженном культивировании определяет параметры роста и секрецию коллагенолитических ферментов грибом. Выбраны оптимальные условия культивирования. Проведено масштабирование процесса ферментации *A. fumigatus* F 22, подтвердившее перспективность использования микромицета в качестве продуцента коллагенолитических протеаз.

Практическая значимость. Полученные результаты могут служить основой для дальнейшей разработки технологии получения новых коллагенолитических протеаз с использованием *A. fumigatus*.

Ключевые слова

Мицелиальные грибы, *Aspergillus fumigatus*, погруженное культивирование, протеазы, коллагеназы

Для цитирования

Никитина З.К., Насибов Э.М., Гордонова И.К., Савин П.С. Влияние условий культивирования *Aspergillus fumigatus* на секрецию коллагенолитических протеаз // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 53–62. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-06>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Протеазы и ингибиторы протеаз не только обеспечивают нормальное функционирование и поддержание гомеостаза, но и влияют на иммунитет, воспаление и развитие болезней [1, 2]. В связи с этим указанные ферменты используются для прогностических, диагностических, а также терапевтических целей [3]. Протеазы играют решающую роль в жизненном цикле всех организмов, в том числе инфекционных агентов, становясь основой новых лекарственных средств для контроля инфекций, вызванных вирусом иммунодефицита человека, коронавирусом [4, 5]. Кроме этого, существуют другие применения этих ферментов в области медицины, такие как профилактика и лечение сердечно-сосудистых и воспалительных заболеваний, расстройств пищеварения, а также активация регенеративных процессов при ожогах, переломах, случайных или хирургических травмах [1, 6, 7].

Коллагеназы, гидролизующие пептидные связи трехцепочечного фибриллярного белка коллагена, находят заметное применение в медицине. Миграция клеток и ремоделирование коллагена во время восстановления и регенерации тканей является важным этапом в процессе заживления ран, где коллагеназа играет ключевую роль [8]. Для улучшения процесса заживления используются мази с коллагеназой, которые осуществляют ферментативную очистку и облегчают процесс эпителизации во время санации [9].

Другие применения фермента включают лечение грыжи межпозвоночного диска [10], фиброза и цирроз печени [11], контрактуры Дюпюитрена и болезни Пейрони [12], миомы матки [13]. Получение с помощью коллагеназ отдельных клеток из тканей печени и поджелудочной железы позволяет использовать их для лечения хронического панкреатита и диабета [14].

Коллагеназы присутствуют в тканях животных, микроорганизмах, корнях некоторых растений [15]. Однако микроорганизмы в качестве продуцентов коллагеназ имеют ряд преимуществ: неограниченность источников получения, возможность экзогенной регуляции, отсутствие прионов, относительная простота процессов выделения и очистки, возможность генно-инженерных манипуляций [15–18]. Первый коммерческий препарат коллагеназ, в том числе для использования в медицине, был получен с использованием *Clostridium histolyticum* [8, 12, 19, 20]. Однако данный микроорганизм обладает рядом недостатков, к которым относится его патогенность и анаэробность. В связи с этим поиск новых продуцентов коллагеназ и оптимизация способов получения ферментных препаратов остается актуальной биотехнологической задачей. Ранее авторами на основании оценки параметров роста, протеолитической и коллагенолитической активности пяти культур мицелиальных грибов при глубинном культивировании в качестве перспективного продуцента коллагеназ был выбран микромицет *Aspergillus fumigatus* F 22 из коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР [21].

Ц е л ь р а б о т ы – оптимизация условий получения коллагенолитических протеаз, секретируемых микромицетом *A. fumigatus*.

Материалы и методы

Объектом исследования являлся микромицет *Aspergillus fumigatus* (Fresen, 1836) из коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР. Для получения посевного материала использовали 7-суточную споровую культуру, выращенную на скошенной поверхности агаризованной среды Чапека-Докса (%): NaNO_3 – 0,2; KH_2PO_4 – 0,1; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,05; KCl – 0,05; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; CaCO_3 – 0,3; сахароза – 3; агар-агар – 2.

При проведении глубинного культивирования использовали разные варианты инокуляции посевного материала. В первом варианте посевным материалом служила суспензия спор дейтеромицета (от 10^6 до 10^7 спор/мл среды). Культивирование осуществляли в колбах объемом 600 мл со 100 мл питательной среды на орбитальном шейкере при скорости вращения 220 об/мин при 26 °С. В этом случае использовалась модифицированная среда, содержащая солевой фон среды Чапека-Докса с частичной заменой сахарозы на коллаген (соотношение сахароза : коллаген менялась от 0,1:1,9 до 2,0:0). В ряде экспериментов для изучения влияния источников углерода и азота на секрецию протеиназ использовали глюкозу, фруктозу, микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ), шрот пажиты и марены (экспериментально-технологический отдел ФГБНУ ВИЛАР) в концентрации 0,5%, а также бычий сывороточный альбумин (БСА), казеин, пептон, дрожжевой экстракт (1,5%).

Во втором варианте инокуляции *A. fumigatus* в течение 2 сут. культивировали при приведенных выше условиях на стандартной жидкой среде Чапека-Докса, а затем вегетативный посевной материал в разных количествах переносился на модифицированную среду. Культивирование проводили при тех же условиях.

Для масштабирования процесса получения коллагенолитических протеаз *A. fumigatus* использовали ферментер MD-250-2,6 «Marubisi» (Япония) объемом 2,7 л с 1 л модифицированной среды. Условия аэрации составляли 0,5 л/мин, скорость перемешивания – 150 об/мин. Для инокуляции использовали 5% мицелия, выращенного на среде Чапека-Докса в течение 2 сут. Среда стерилизовалась в ферментере.

При всех вариантах культивирования через определенные промежутки времени отбирали пробы, которые центрифугировали при 4 °С при 6000 об/мин в течение часа на лабораторной центрифуге К-24 (Германия). Микроскопический контроль над развитием мицелия и отсутствием посторонней микрофлоры проводили на микроскопе МБИ–3 с использованием объектива 40×. Осадки после центрифугирования высушивали до постоянного веса и взвешивали. На основании определения количества биомассы на различных этапах культивирования рассчитывали удельные скорости роста. В надосадочной жидкости определяли концентрацию белка методом Лоури и коллагенолитическую активность (КЛА).

Для определения КЛА к 1 мл супернатанта приливали 1 мл 1%-ной суспензии коллагена (коллаген тип I, Sigma-Aldrich, США) в 0,01М фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,2 мкМ CaCl_2 . Длитель-

ность проведения гидролиза составила 2 ч при температуре 37 °С. Контролем служила смесь 1 мл буфера указанного состава и 1 мл 1%-ной суспензии коллагена (контроль субстрата), а также смесь 1 мл супернатанта культуральной жидкости с 1 мл буфера (контроль фермента). После инкубации реакцию останавливали кипячением в течение 20 мин. Осадок отделяли центрифугированием на центрифуге К 24 при 4 °С при 6000 об/мин. Коллагенолитическую активность в надосадочной жидкости определяли по накоплению α-аминогрупп с использованием нингидринового реактива [22] и выражали в мкМ свободных аминогрупп аминокислот, образующихся в течение 1 мин 1 мл культуральной жидкости [Е/мл]. Удельную коллагенолитическую активность (УКА) рассчитывали как отношение КЛА к содержанию белка в образце [Е/мг]. Для измерения оптической плотности использовали спектрофотометр «Shimadzu MPS – 2000» (Япония).

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с помощью пакета программ Microsoft Office Excel 2010. Каждое испытание выполняли 5 раз. Результаты представляли в виде $X \pm \sigma$, где X – среднее значение; σ – стандартное отклонение выборочного среднего. Достоверность различия между выборками определяли по критерию Стьюдента. Различия между выборками считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Известно, что количество индукторов синтеза протеаз в питательной среде может существенно влиять на выработку соответствующих гидролитических ферментов [16–18, 23–25]. В связи с этим на первом этапе работы было изучено влияние соотношения сахарозы и коллагена в питательной среде на выработку микрометом коллагенолитических протеаз (рис. 1, табл. 1). Можно видеть, что при отсутствии коллагена в среде (вариант № 1) наблюдается крайне низкая выработка ферментов, которые обнаруживаются только на 9-е сутки культивирования. Постепенное увеличение концентрации индуктора с соответствующим снижением углевода приводит к постепенному увеличению КЛА в культуральной жидкости и снижению времени достижения максимальной активности.

Максимальная КЛА наблюдалась при соотношении сахара : коллаген, равным 0,5:1,5 (вариант № 4). Дальнейшее снижение концентрации сахарозы с соответствующим увеличением индуктора вызывало резкое снижение максимальной КЛА в культуральной среде, возможно, связанное с низким уровнем углевода, недостаточным для накопления необходимого количества биомассы.

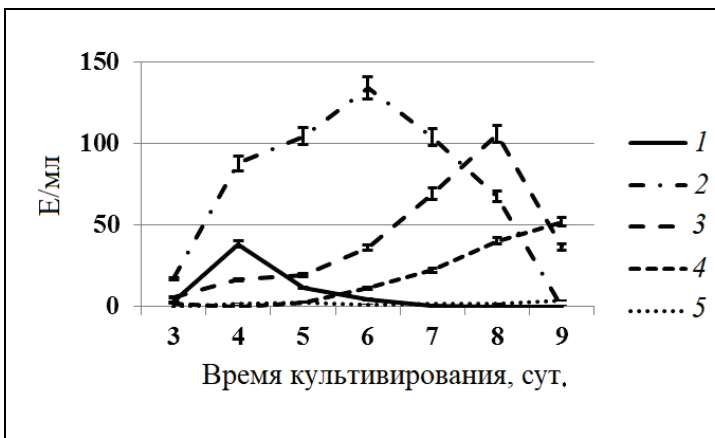


Рис. 1. Секреция коллагенолитических протеаз *A. fumigatus* при различных условиях культивирования (сахара : коллаген – 1(0,1:1,9); 2(0,5:1,5); 3(1,0:1,0); 4(1,5:0,5); 5(2,0:0), 10^7 спор/мл
 Fig. 1. Collagenolytic proteases secretion by *A. fumigatus* under various cultivation conditions (sucrose : collagen – 1(0,1:1,9); 2(0,5:1,5); 3(1,0:1,0); 4(1,5:0,5); 5(2,0:0), 10^7 spores/ml

Таблица 1. Максимальные значения КЛА при погруженном культивировании *A. fumigatus* на средах с различным содержанием сахарозы и коллагена

Соотношение сахара : коллаген	Е/мл	Время, сут.
0,1:1,9	38,08±5,01	4
0,5:1,5	133,77±1,67	6
1,0:1,0	105,71±1,17	8
1,5:0,5	51,77±0,67	9
2,0:0	3,51±0,33	9

Еще одним важным фактором экзогенной регуляции биосинтетических процессов при культивировании микроорганизмов является количество посевного материала [24, 25]. Как показали проведенные эксперименты (рис. 2), изменение количества спор в диапазоне от 1×10^6 до 10×10^6 спор/мл среды влияло

на секрецию коллагенолитических протеаз при погруженном культивировании *A. fumigatus*. При этом, если увеличение посевного материала от 10^6 до $2,5 \times 10^6$ спор/мл оказывало незначительный эффект на процесс накопления ферментов в культуральной жидкости, то инокуляция в количестве 5×10^6 спор/мл среды приводила к возрастанию максимальной КЛА в 2 раза. При дальнейшем увеличении засеянных в среду спор происходило торможение процесса образования коллагенолитических ферментов. Аналогичные результаты были получены и другими авторами при изучении влияния количества посевного материала на выработку пептидаз [25]. По мнению авторов, существуют некоторые оптимальные соотношения количества питательных веществ и посевного материала, обеспечивающие наилучшие условия для синтеза ферментов. В дальнейшем во всех экспериментах количество посевного материала составляло 5×10^6 спор/мл среды.

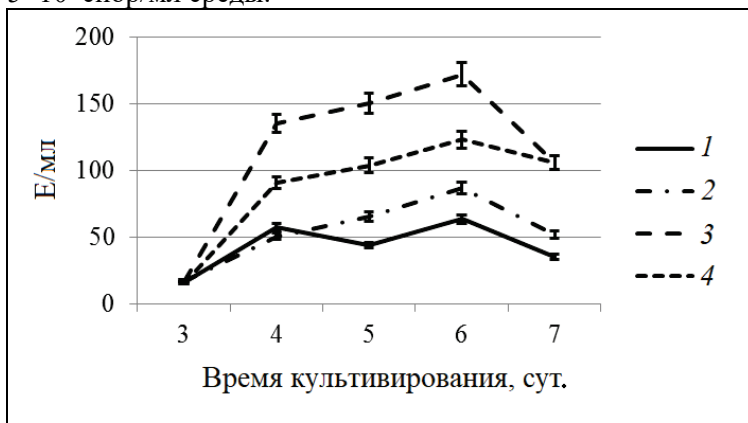


Рис. 2. Секреция коллагенолитических протеаз *A. fumigatus*. Влияние количества посевного материала: 1 – 10^6 ; 2 – $2,5 \times 10^6$; 3 – 5×10^6 ; 4 – 10^7 спор/мл; сахароза – 0,5%, коллаген – 1,5%

Fig. 2. Collagenolytic proteases secretion by *A. fumigatus*. Effect of the inoculum size: 1 – 10^6 ; 2 – $2,5 \times 10^6$; 3 – 5×10^6 ; 4 – 10^7 spores/ml; sucrose – 0,5%, collagen – 1,5%

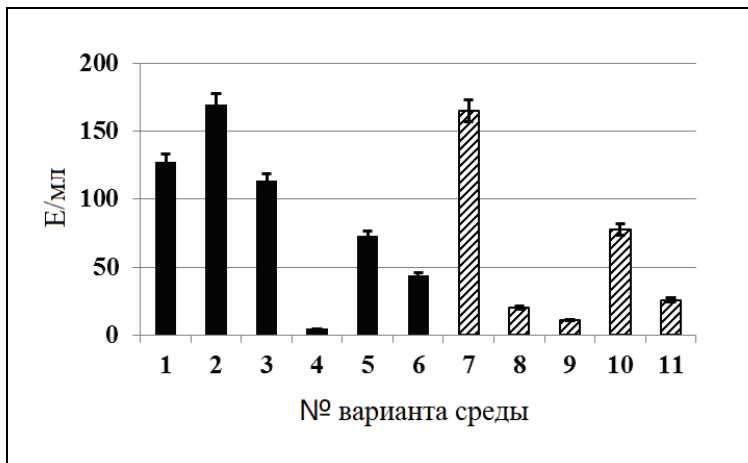


Рис. 3. Влияние источников углерода (№ 1–6) и азота (№ 7–11) на продукцию коллагенолитических ферментов *A. fumigatus*. №№ 1–6: 1,5% коллагена и 0,5% глюкозы (1), сахарозы (2), фруктозы (3), целлюлозы (4), шрота пажиты (5), шрота марены (6). №№ 7–11: 0,5% сахарозы и 1,5% коллагена (7), казеина (8), БСА (9), пептона (10), дрожжевого экстракта (11). Время культивирования – 6 сут, 5×10^6 спор/мл

Fig. 3. Effect of carbohydrate sources (№ 1–6) and nitrogen sources (№ 7–11) on the collagenolytic enzymes production by *A. fumigatus*. №№ 1–6: collagen 1,5% and 0,5% glucose (1), sucrose (2), fructose (3), cellulose (4), schrot of *Tanacetum* (5), schrot of *Rubia* (6). №№ 7–11: sucrose 0,5% and 1,5% collagen (7), casein (8), bovine serum albumin (9), peptone (10), yeast extract (11). Cultivation time – 6 days, 5×10^6 spores/ml

Важным фактором для биосинтетической активности микроорганизмов является качественный состав источников углерода и азота в питательной жидкости [16, 24, 25]. Можно видеть, что из трех легко метаболизируемых источников углерода (глюкозы, сахарозы и фруктозы) наибольшая активность коллагенолитических протеаз в культуральной жидкости фиксировалась при использовании сахарозы (рис. 3). Следует отметить, что подобные результаты были получены при изучении влияния разных углеводов на секрецию коллагеназ новым штаммом *Bacillus cereus* [24]. Однако имеются и другие данные, свидетельствующие о преимуществах использования глюкозы при синтезе протеиназ микромицетами [25]. Целлюлоза ингибирует выработку ферментов в процессе культивирования гриба, тогда как в присутствии шрота лекарственных растений наблюдается значительная КЛА. Полученные результаты при использовании шрота, возможно, свидетельствуют о содержании в субстрате относительно низкомолекулярных питательных веществ, обеспечивающих, в отличие от МКЦ, рост и биосинтетическую активность *A. fumigatus*. Подтверждением этого предположения являются полученные ранее данные об активном росте и секреции гидролитических ферментов при культивировании микромицетов на средах со шротом цветков пажиты или корней и корневищ марены красильной [27, 28]. Следует отметить, что использование при глубинном культивировании для синтеза протеаз отходов сельскохозяйственной продукции (пшеничных отрубей) описано и в других работах [25].

Изучение влияния различных белковых субстратов на секрецию коллагенолитических протеаз *A. fumigatus* показало (рис. 3, №№ 7–11), что наибольший эффект наблюдался при использовании коллагена.

Казеин и альбумин вызвали значительно меньшую индукцию синтеза и секреции ферментов. Из двух часто используемых компонентов питательных сред – дрожжевого экстракта и пептона, применение последнего приводило к большему увеличению КЛА в культуральной жидкости, вероятно, за счет возможного присутствия в его составе фрагментов гидролиза коллагена, входящего в состав препарата. В связи с полученными результатами, в дальнейшей работе в качестве основной питательной среды использовалась модифицированная среда, содержащая солевой фон среды Чапека-Докса, 0,5% сахарозы и 1,5% коллагена.

Альтернативным вариантом инокуляции посевного материала при погруженном культивировании микромицетов является использование вегетативного мицелия [16, 26]. В связи с этим на следующем этапе проводилось сравнительное исследование параметров роста и ферментативной активности *A. fumigatus* при засеве спорами и вегетативным мицелием. Можно видеть, что способ инокуляции влияет на удельную скорость роста и количество образовавшейся биомассы (рис. 4, табл. 2). Так, использование 10% мицелия приводит к статистически значимому увеличению обоих показателей ($p \leq 0,5$) по сравнению с использованием при засеве спор или 5% вегетативного материала.

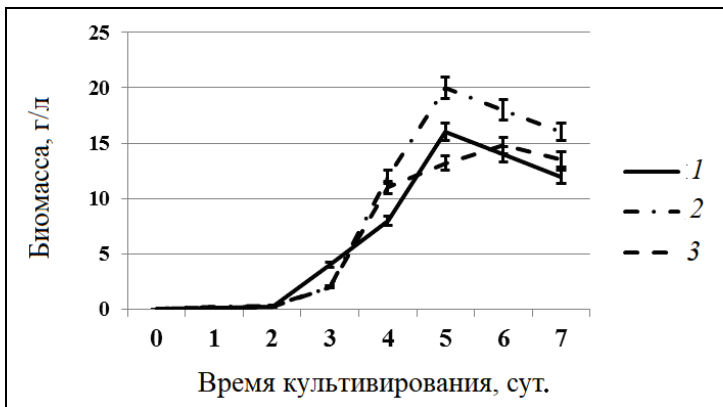


Рис. 4. Кривые роста *A. fumigatus* при различных способах инокуляции (1 – 5%, 2 – 10% мицелий, 3 – 5×10^6 спор/мл)

Fig. 4. The growth curves of the *A. fumigatus* under various inoculation conditions (1 – 5%, 2 – 10% mycelium, 3 – 5×10^6 spores/ml)

Таблица 2. Параметры роста *A. fumigatus* при погруженном культивировании

Посевной материал	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Количество биомассы, г/л
5%-ный мицелий	0,020±0,002	16,25±1,10
10%-ный мицелий	0,028±0,003	20,01±1,24
Споры	0,018±0,002	14,80±1,02

Изучение влияния способа инокуляции на секрецию коллагенолитических протеаз показало, что на ранних этапах культивирования (3 – 4-е сутки) ферментативная активность в культуральной жидкости мало меняется при засеве различными концентрациями мицелия (рис. 5). Однако в дальнейшем уровень КЛА становился выше для 5% мицелия по сравнению со спорами или 10% мицелием.

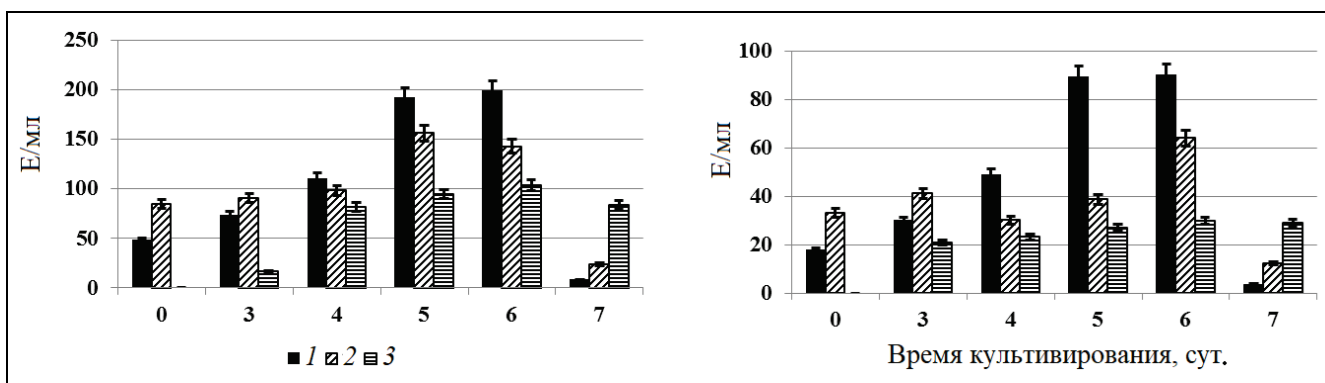


Рис. 5. Секреция коллагенолитических протеаз *A. fumigatus* при различных способах инокуляции (1 – 5%, 2 – 10% мицелий, 3 – 5×10^6 спор/мл)

Fig. 5. Collagenolytic proteases secretion by *A. fumigatus* under various inoculation conditions (1 – 5%, 2 – 10% mycelium, 3 – 5×10^6 spores/ml)

Следует отметить, что преимущества использования 5% вегетативного материала по сравнению с 10% было обнаружено и другими авторами [26]. Аналогичные результаты получены авторами статьи и

при анализе УКА *A. fumigatus* (рис. 5). При этом время достижения максимальных значений КЛА и УКА практически не зависело от способа использования посевного материала (табл. 3). Исходя из полученных результатов, для дальнейших экспериментов был выбран способ инокуляции 5%-ным вегетативным мицелием.

Таблица 3. Максимальна коллагенолитическая активность *A. fumigatus* при разных вариантах внесения посевного материала

Посевной материал	Е/мл	Время, сут	Е/мг	Время, сут.
5%-ный мицелий	198,40±15,03	6	90,18±10,61	5-6
10%-ный мицелий	156,15±13,82	5	63,96±5,34	6
Споры	103,77±10,60	6	29,89±3,21	6

Пилотное масштабирование *A. fumigatus* проводили в ферментере объемом 2,7 л. В данных исследованиях параметром, характеризующим интенсивность массообмена в культиваторе, был принят объёмный коэффициент массопередачи по кислороду (K_{La} , $ч^{-1}$), который составлял $21 ч^{-1}$. Динамику роста микромицета оценивали на основании изменений морфологических признаков и количества биомассы.

Отмечено, что начиная с 67 ч культивирования, нити мицелия собирались в клубки – пеллеты. Проведенная ферментация выявила следующие особенности процесса: образование на последних этапах некоторого количества пены, незначительную флотацию биомассы на стенках ферментеров. Посторонней микрофлоры обнаружено не было.

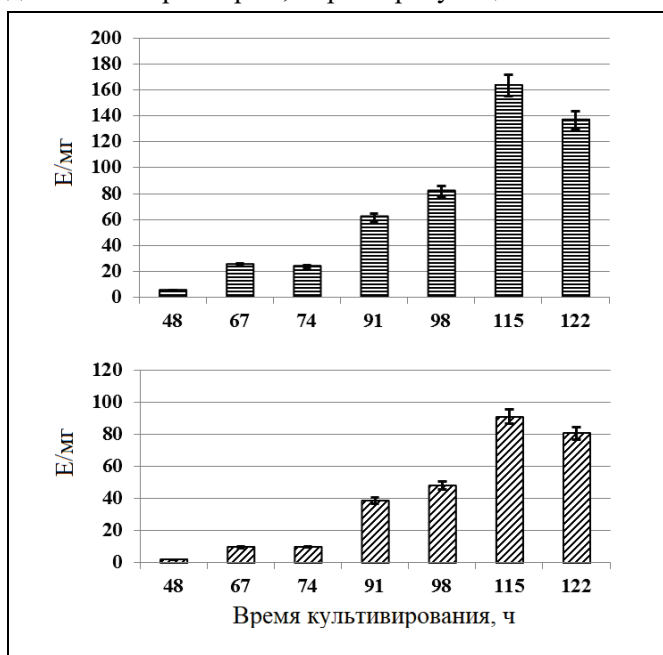


Рис. 6. Секреция коллагенолитических протеаз *A. fumigatus* при культивировании в ферментере
Fig. 6. Collagenolytic proteases secretion by *A. fumigatus* during cultivation in the fermenter

На основании определения количества биомассы на различных этапах культивирования были рассчитаны удельные скорости роста при ферментации в различных условиях, которые статистически значимо ($p \leq 0,05$) не отличались (табл. 4). Активность секреции коллагенолитических протеаз постепенно повышалась в процессе культивирования, достигая своего максимума через 115 ч (рис. 6). Значения УКА при обоих способах культивирования также были подобны, тогда как уровень КЛА был несколько выше при культивировании на шейкере. Следует отметить некоторое снижение времени

достижения максимальной активности коллагенолитических протеаз при использовании ферментера, однако, возможно, это связано с более длительными интервалами отбора опытных проб при культивировании в колбах.

Таблица 4. Максимальная коллагенолитическая активность *A. fumigatus* при разных вариантах культивирования

Способ культивирования	Е/мл	Е/мг	Удельная скорость роста, $ч^{-1}$	Время, ч КЛА/УКА
Ферментер	163,66±14,37	90,18±7,35	0,027±0,002	115/115
Колбы на шейкере	198,40±15,03	90,85±10,61	0,029±0,002	144/120

Заключение

Как уже отмечалось выше, в настоящее время основным источником получения микробных коллагеназ, в том числе разрешенным к использованию в медицине, являются ферменты, секретлируемые *Cl. histolyticum* [19, 20]. В связи с этим при работе с новыми продуцентами коллагенолитических протеаз одним из

важных вопросов является сравнение продуктивности нового штамма с аналогичными показателями ранее изученных микроорганизмов. В ряде работ приводятся подробные данные о продуктивности некоторых новых продуцентов, а также о влиянии условий культивирования на ферментативную активность коллагеназ [20, 25, 29–31]. Полученные результаты о КЛА протеиназ *A. fumigatus* сравнимы с приведенными данными. Кроме того, перспективным направлением в дальнейшей работе с *A. fumigatus* рассматривается возможность использования твердофазной ферментации, которая, по данным многих авторов, позволяет увеличить протеолитическую активность микромицетов от 2 до 20 раз и более [23, 30, 31].

Таким образом, выявлены факторы экзогенной регуляции, влияющие на скорость роста и КЛА *A. fumigatus*. Найдены оптимальный состав модифицированной среды и количество посевного материала при глубинном культивировании. Обнаружено, что способ инокуляции при погруженном культивировании определяет параметры роста и секрецию коллагенолитических ферментов грибом. Выбраны оптимальные условия культивирования. Проведено масштабирование процесса ферментации *A. fumigatus*, подтвердившее перспективность использования микромицета в качестве продуцента коллагенолитических протеаз. Полученные результаты могут служить основой для дальнейшей разработки технологии получения новых коллагеназ с использованием *Aspergillus fumigatus*.

Список источников

1. Bond J.S. Proteases: history, discovery, and roles in health and disease // J. Biol. Chem. 2019. V. 294 (5). P. 1643–1651.
2. Patel S., Homaei A., El-Seedide H.R., Akhtar N. Cathepsins: proteases that are vital for survival but can also be fatal // Biomed. Pharmacoth. 2018. V. 105. P. 526–553.
3. Данилова Н.В. Экспрессия маркеров желудочной и кишечной дифференцировки в раке желудка: обзор литературы // Технологии живых систем. 2023. Т. 20 (1). С. 16–26.
4. Tigabu B.M., Agide F.D., Mohraz M., Nikfar S. Atazanavir/ritonavir versus Lopinavir/ritonavir-based combined antiretroviral therapy (cART) for HIV-1 infection: a systematic review and meta-analysis // Afr. Health. Sci. 2020. V. 20 (1). P. 91–101.
5. Савина А.Д., Станчук А.Е. Влияние SARS-CoV-2 на иммунную систему и возможности иммунотерапии // Технологии живых систем. 2020. Т. 17 (5). С. 35–53.
6. Kumar L., Jain S.K. Proteases: a beneficial degradative enzyme in therapeutic applications // Inter. J. Sci. Res. Biol. Sci. 2018. V. 5(4). P. 114–118.
7. Agbowuro A.A., Huston W.M., Gamble A.B., Tyndall J.D.A. Proteases and protease inhibitors in infectious diseases // Med. Res. Rev. 2018. V. 38 (4). P. 1295–1331.
8. Waycaster C., Carter M.J., Gilligan A.M. et al. Comparative cost and clinical effectiveness of clostridial collagenase ointment for chronic dermal ulcers // J. Comp. Eff. Res. 2018. V. 7(2). P. 149–165.
9. Майорова А.В., Сысыев Б.Б., Иванкова Ю.О., Ханалиева И.А. Коллагеназы в медицинской практике: современные средства на основе коллагеназы и перспективы их совершенствования // Фармация и фармакология. 2019. Т. 7(5). С. 260–270.
10. Zhang D., Zhang Y., Wang Z., Zhang X. et al. Target radiofrequency combined with collagenase chemonucleolysis in the treatment of lumbar intervertebral disc herniation // Int. J. Clin. Exp. Med. 2015. V. 8(1). P. 526–532.
11. Salma S.S., Abdel-Halim M., Ali M.E. et al. Collagenase loaded chitosan nanoparticles for digestion of the collagenous scar in liver fibrosis: The effect of chitosan intrinsic collagen binding on the success of targeting // Europ. J. Pharmaceutics Biopharmaceutics. 2020. V. 148. P. 54–66.
12. Ziegelmann M.J., Heslop D., Houlihan M. et al. The Influence of Indentation Deformity on Outcomes With Intralesional Collagenase Clostridium Histolyticum Monotherapy for Peyronie's Disease // Urology. 2020. V. 139. P. 122–128.
13. Corder R.D., Gadi S.V., Vachieri R.B. et al. Using rheology to quantify the effects of localized collagenase treatments on uterine fibroid digestion // Acta Biomater. 2021. V. 134. P. 443–452.
14. Loganathan G., Balamurugan A.N., Venugopal S. Human pancreatic tissue dissociation enzymes for islet isolation: Advances and clinical perspectives // Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2020. V. 14. P. 159–166.
15. Wanderley M.C.A., Wanderley J.M., Neto D. et al. Collagenolytic enzymes produced by fungi: a systematic review // Brazilian J. Microbiology. 2017. V. 48 (1). P. 13–24.
16. Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S. Fibrinolytic and Collagenolytic Activity of Extracellular Proteinases of the Strains of Micromycetes *Aspergillus ochraceus* L-1 and *Aspergillus ustus* 1 // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2016. V. 71 (1). P. 62–66.
17. Zhang Y.-Z., Ran L.-Y., Li C.-Y., Chen X.-L. Diversity, structures, and collagen-degrading mechanisms of bacterial collagenolytic proteases // Appl. Environ. Microbiol. 2015. V. 81 (18). P. 6098–6107.
18. Pal G.K., Suresh P.V. Microbial collagenases: Challenges and prospect in production and potential applications in food and nutrition // RSC Advances. 2016. V. 6 (40). P. 40–56.
19. Daboor S.M., Budge S.M., Ghaly A.E. et al. Extraction and purification of collagenase enzymes: a critical review // Am. J. Biochem. Biotechnol. 2010. V. 6(4). P. 239–263.
20. Конон А.Д., Петровский С.В., Шамбурова М.Ю. и др. Особенности биотехнологий клостридиальных коллагеназ – перспективных ферментов медицинского назначения // Медицина экстренных ситуаций. 2019. № 2 (56). С. 45–57.
21. Никитина З.К., Гордонова И.К., Насибов Э.М. Изучение протеолитической и коллагенолитической активности мицелиальных грибов в процессе глубинного культивирования // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022. Т. 25(9). С. 16–21.

22. Lee Y.P., Takahashi T. An improved colorimetric determination of amino acids with the use of ninhydrin // Analytical Biochemistry. 1996. V. 14 (1). P. 71–77.
23. Solanki P., Putatunda C., Kumar A., Bhatia R., Walia A. Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses // 3 Biotech. 2021. V. 11. P. 428–453.
24. Liu L., Meng Y., Dai X., Chen K. Isolation of A Novel Collagenase-producing Strain from Animal Bone Wastes and Optimization of Its Enzyme Production // Chiang. Mai. J. Sci. 2019. V. 46(2). P. 219–235.
25. da Silva R.R., de Freitas C.T.P., Rodrigues A., Cabral H. Production and partial characterization of serine and metallo peptidases secreted by *Aspergillus fumigatus* Fresenius in submerged and solid state fermentation // Brazilian Journal of Microbiology. 2013. V. 44 (1). P. 235–243.
26. Зиганшин Д.Д., Егорова А.А., Лукьянцев М.А., Сироткин А.С. Глубинное культивирование микромицета *Trichoderma asperellum* ВКПМ F-1323 в опытно-промышленных условиях // Известия вузов. Сер. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10 (1). С. 39–47.
27. Никитина З.К., Гордонова И.К. Использование отходов лекарственного растительного сырья для биотехнологического получения гидролитических ферментов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019. Т. 22 (9). С. 37–42.
28. Гордонова И.К., Никитина З.К. Использование мицелиальных грибов для вторичной переработки лекарственного растительного сырья // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020. Т. 23 (6). С. 6–12.
29. Ida E.L., da Silva R.R., de Oliveira T.B., Souto T.B. et al. Biochemical properties and evaluation of washing performance in commercial detergent compatibility of two collagenolytic serine peptidases secreted by *Aspergillus fischer* and *Penicillium citrinum* // Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2017. V. 47 (3). P. 282–290.
30. Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S. Vermiculite as a new carrier for extracellular protease production by *Aspergillus spp.* under solid-state fermentation // Biotechnology Reports. 2021. V. 29. P. e00576.
31. Souza K.P.S., Cunha M.N.C., Batista J.M.S., Oliveira V.M. et al. A novel collagenolytic protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262: Comparative analysis of production and extraction in submerged and stated-solid fermentation // An. Acad. Bras. Ciênc. 2022. V. 94 (4). P. 1–14.

Информация об авторах

Зоя Кимовна Никитина – д.б.н., профессор, гл. науч. сотрудник

SPIN-код: 5208-1437

Элвин Мубариз оглы Насибов – аспирант

SPIN-код: 7528-4950

Ирина Константиновна Гордонова – к.б.н., вед. науч. сотрудник

SPIN-код: 6447-4847

Павел Сергеевич Савин – к.б.н., вед. науч. сотрудник

SPIN-код: 1957-9755

Статья поступила в редакцию 16.01.2023

Одобрена после рецензирования 20.02.2023

Принята к публикации 17.04.2023

Н а ш и м п о д п и с ч и к а м !

Если вы еще не подписались на наши журналы на 2023 г., то напоминаем, что вы можете это сделать в Издательстве «Радиотехника» в любое время, на любой срок и с любого месяца.

Оформление подписки через Издательство освободит вас от дополнительных расходов, в том числе почтовых расходов, которые в пределах Российской Федерации редакция возьмет на себя.

Адрес Издательства:

107031, г. Москва, К-31, Кузнецкий мост, д. 20/6,

тел./факс: (495) 625-78-72, 621-48-37, 625-92-41

<http://www.radiotec.ru>, e-mail:info@radiotec.ru

Original article

Effect of cultivation conditions of *Aspergillus fumigatus* on the collagenolytic proteases secretion

Z.K. Nikitina¹, E.M. Nasibov², I.K. Gordonova³, P.S. Savin⁴

¹⁻⁴ FGUU All-Russian research Institute of medicinal and aromatic plants (Moscow, Russia)

¹ nikitinaz@yandex.ru, ² el-one-1@mail.ru, ³ igordonova777@yandex.ru, ⁴ pavel-savin@list.ru

Abstract

Recently, in medicine, special attention has been paid to methods based on non-invasive approaches, including the use of so-called "therapeutic" enzymes that provide a pronounced effect at low concentrations and physiological conditions. Such enzymes include collagenases - endopeptidases that catalyze chemical processes and destroy peptide bonds in collagen. Collagen is the main structural protein of the intercellular matrix which plays an important role in physiological and pathological processes in the body. In this regard, protein hydrolyzing enzymes have significant potential for use in medicine. In addition, collagenases can be used in the food industry, pharmacy, to solve environmental problems. All of the above determines the relevance of the search for new producers of collagenolytic proteases and optimization of enzyme synthesis conditions. The aim of the work was to study the effects of cultivation conditions on the collagenolytic proteases secretion by *Aspergillus fumigatus*. The object of the study was mycelial fungus *Aspergillus fumigatus* F 22 from the VILAR microorganisms collection. Submerged cultivation was carried out using a liquid modified medium Chapek Dox with partial replacement of sucrose for collagen in flasks or fermenter. The concentrations of protein and collagenolytic activity were determined in the culture medium filtrates. The maximum secretion of collagenolytic proteases was observed at a concentration of 0.5% sucrose and 1.5% collagen in the nutrient medium. Among the studied concentrations of spores, we detected, that the maximum collagenolytic proteases production in submerged cultivation were with 5×10^6 spores/ml. Effect of carbohydrate sources and nitrogen sources on the collagenolytic enzymes production by *A. fumigatus* has been studied as well. It is shown that the growth rate and the biomass weight of *A. fumigatus* depend on the inoculation methods. It was found that use of 5% mycelium provides maximum collagenolytic proteases secretion by *A. fumigatus*. Based on the results obtained, the method of inoculation with 5% mycelium was chosen for cultivation in the fermenter. The growth rate and production of collagenolytic proteases were compared during cultivation in flasks and in the fermenter. It is shown that there are no statistically significant differences in these indicators for the two cultivation methods. The results obtained are important for a new *A. fumigatus* based collagenolytic proteases production technology development.

Keywords

Mycelial fungi, *Aspergillus fumigatus*, submerged cultivation, proteases, collagenases

For citation

Nikitina Z.K., Nasibov E.M., Gordonova I.K., Savin P.S. Effect of cultivation conditions of *Aspergillus fumigatus* on the collagenolytic proteases secretion. Technologies of Living Systems. 2023. V. 20. № 2. P. 53–62. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-06> (In Russian)

References

1. Bond J.S. Proteases: history, discovery, and roles in health and disease. J. Biol. Chem. 2019. V. 294 (5). P. 1643–1651.
2. Patel S., Homaei A., El-Seedide H.R., Akhtar N. Cathepsins: proteases that are vital for survival but can also be fatal. Biomed. Pharmacoth. 2018. V. 105. P. 526–553.
3. Danilova N.V. Ekspressiya markerov zheludochnoy i kishhechnoy differentsirovki v rake zheludka: obzor literatury. Tekhnologii zhivyykh sistem. 2023. T. 20 (1). S. 16–26. (in Russian).
4. Tigabu B.M., Agide F.D., Mohraz M., Nikfar S. Atazanavir/ritonavir versus Lopinavir/ritonavir-based combined antiretroviral therapy (cART) for HIV-1 infection: a systematic review and meta-analysis. Afr. Health. Sci. 2020. V. 20 (1). P. 91–101.
5. Savina A.D., Stanchuk A.E. Vliyaniye SARS-CoV-2 na immunnuyu sistemu i vozmozhnosti immunoterapii. Tekhnologii zhivyykh sistem. 2020. T. 17 (5). S. 35–53. (in Russian).
6. Kumar L., Jain S.K. Proteases: a beneficial degradative enzyme in therapeutic applications. Inter. J. Sci. Res. Biol. Sci. 2018. V. 5 (4). P. 114–118.
7. Agbowuro A.A., Huston W.M., Gamble A.B., Tyndall J.D.A. Proteases and protease inhibitors in infectious diseases. Med. Res. Rev. 2018. V. 38 (4). P. 1295–1331.
8. Waycaster C., Carter M.J., Gilligan A.M. et al. Comparative cost and clinical effectiveness of clostridial collagenase ointment for chronic dermal ulcers. J. Comp. Eff. Res. 2018. V. 7(2). P. 149–165.
9. Mayorova A.V., Sysuyev B.B., Ivankova Yu.O., Khanaliyeva I.A. Kollagenazy v meditsinskoj praktike: sovremennyye sredstva na osnovе kollagenazy i perspektivy ikh sovershenstvovaniya. Farmatsiya i farmakologiya. 2019. T. 7(5). S. 260–270. (in Russian).
10. Zhang D., Zhang Y., Wang Z., Zhang X. et al. Target radiofrequency combined with collagenase chemonucleolysis in the treatment of lumbar intervertebral disc herniation. Int. J. Clin. Exp. Med. 2015. V. 8(1). P. 526–532.
11. Salma S.S., Abdel-Halim M., Ali M.E. et al. Collagenase loaded chitosan nanoparticles for digestion of the collagenous scar in liver fibrosis: The effect of chitosan intrinsic collagen binding on the success of targeting. Europ. J. Pharmaceutics Biopharmaceutics. 2020. V. 148. P. 54–66.
12. Ziegelmann M.J., Heslop D., Houlihan M. et al. The Influence of Indentation Deformity on Outcomes With Intralesional Collagenase Clostridium Histolyticum Monotherapy for Peyronie's Disease. Urology. 2020. V. 139. P. 122–128.

13. Corder R.D., Gadi S.V., Vachieri R.B. et al. Using rheology to quantify the effects of localized collagenase treatments on uterine fibroid digestion. *Acta Biomater.* 2021. V. 134. P. 443–452.
14. Loganathan G., Balamurugan A.N., Venugopal S. Human pancreatic tissue dissociation enzymes for islet isolation: Advances and clinical perspectives. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.* 2020. V. 14. P. 159–166.
15. Wanderley M.C.A., Wanderley J.M., Neto D. et al. Collagenolytic enzymes produced by fungi: a systematic review. *Brasilian J. Microbiology.* 2017. V. 48 (1). P. 13–24.
16. Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S. Fibrinolytic and Collagenolytic Activity of Extracellular Proteinases of the Strains of Micromycetes *Aspergillus ochraceus* L-1 and *Aspergillus ustus* 1. *Moscow University Biological Sciences Bulletin.* 2016. V. 71 (1). P. 62–66.
17. Zhang Y.-Z., Ran L.-Y., Li C.-Y., Chen X.-L. Diversity, structures, and collagen-degrading mechanisms of bacterial collagenolytic proteases. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015. V. 81 (18). P. 6098–6107.
18. Pal G.K., Suresh P.V. Microbial collagenases: Challenges and prospect in production and potential applications in food and nutrition. *RSC Advances.* 2016. V. 6 (40). P. 40–56.
19. Daboor S.M., Budge S.M., Ghaly A.E. et al. Extraction and purification of collagenase enzymes: a critical review. *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 2010. V. 6(4). P. 239–263.
20. Konon A.D., Petrovskiy S.V., Shamburova M.Yu. i dr. Osobennosti biotekhnologiy klostridialnykh kollagenaz – perspektivnykh fermentov meditsinskogo naznacheniya. *Meditsina ekstremnykh situatsiy.* 2019. № 2 (56). S. 45–57. (in Russian).
21. Nikitina Z.K., Gordonova I.K., Nasibov E.M. Izucheniye proteoliticheskoy i kollagenoliticheskoy aktivnosti mitselialnykh gribov v protsesse glubinnogo kultivirovaniya. *Voprosy biologicheskoy. meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii.* 2022. T. 25(9). S. 16–21. (in Russian).
22. Lee Y.P., Takahashi T. An improved colorimetric determination of amino acids with the use of ninhydrin. *Analytical Biochemistry.* 1996. V. 14 (1). P. 71–77.
23. Solanki P., Putatunda C., Kumar A., Bhatia R., Walia A. Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses. *3 Biotech.* 2021. V. 11. P. 428–453.
24. Liu L., Meng Y., Dai X., Chen K. Isolation of A Novel Collagenase-producing Strain from Animal Bone Wastes and Optimization of Its Enzyme Production. *Chiang. Mai. J. Sci.* 2019. V. 46(2). P. 219–235.
25. da Silva R.R., de Freitas C.T.P., Rodrigues A., Cabral H. Production and partial characterization of serine and metallo peptidases secreted by *Aspergillus fumigatus* Fresenius in submerged and solid state fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2013. V. 44 (1). P. 235–243.
26. Ziganshin D.D., Egorshina A.A., Lukiantsev M.A., Sirotkin A.S. Glubinnoye kultivirovaniye mikromitseta *Trichoderma asperellum* VKPM F-1323 v opytno-promyshlennykh usloviyakh. *Izvestiya vuzov. Ser. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya.* 2020. T. 10 (1). S. 39–47. (in Russian).
27. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Ispolzovaniye otkhodov lekarstvennogo rastitelnogo syria dlya biotekhnologicheskogo polucheniya gidroliticheskikh fermentov. *Voprosy biologicheskoy. meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii.* 2019. T. 22 (9). S. 37–42. (in Russian).
28. Gordonova I.K., Nikitina Z.K. Ispolzovaniye mitselialnykh gribov dlya vtlichnoy pererabotki lekarstvennogo rastitelnogo syria. *Voprosy biologicheskoy. meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii.* 2020. T. 23 (6). S. 6–12. (in Russian).
29. Ida E.L., da Silva R.R., de Oliveira T.B., Souto T.B. et al. Biochemical properties and evaluation of washing performance in commercial detergent compatibility of two collagenolytic serine peptidases secreted by *Aspergillus fischeri* and *Penicillium citrinum*. *Preparative Biochemistry & Biotechnology.* 2017. V. 47 (3). P. 282–290.
30. Osmolovskiy A.A., Popova E.A., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S. Vermiculite as a new carrier for extracellular protease production by *Aspergillus* spp. under solid-state fermentation. *Biotechnology Reports.* 2021. V. 29. P. e00576.
31. Souza K.P.S., Cunha M.N.C., Batista J.M.S., Oliveira V.M. et al. A novel collagenolytic protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262: Comparative analysis of production and extraction in submerged and stated-solid fermentation. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 2022. V. 94 (4). P. 1–14.

Information about the authors

Zoya K. Nikitina – Dr.Sc. (Biol.), Professor, Chief Research Scientist

Elvin M. Nasibov – Post-graduate Student

Irina K. Gordonova – Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist

Pavel S. Savin – Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist

The article was submitted 16.01.2023

Approved after reviewing 20.02.2023

Accepted for publication 17.04.2023

Научная статья
УДК 616.728.3:616-036.8
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-07>

Оценка качества жизни пациентов в зависимости от пола и срока проведения реконструкции передней крестообразной связки

И.И. Радыш¹, С.В. Журавлёв², Е.И. Круглянская³, Н.В. Васильченко⁴

¹⁻⁴ ФГБУ «Клиническая больница №1» Управления делами Президента РФ (Москва, Россия)

⁴ Российский университет дружбы народов (Москва, Россия)

¹ dr-ivo@yandex.ru, ² volynka@volynka.ru, ³ katerina_i_k@mail.ru, ⁴ vasilchenkonikit@gmail.com

Аннотация

Постановка проблемы. В современной медицинской практике концепция исследования качества жизни динамично развивается, расширяются сферы ее применения, которые могут выступать как в качестве инструмента оценки тяжести заболевания, так и для оценки эффективности проводимой терапии и реабилитации.

Цель работы – гендерная оценка качества жизни пациентов в зависимости от сроков проведения артроскопической реконструкции передней крестообразной связки (ПКС) и комплексной индивидуальной реабилитации.

Результаты. Сравнительный анализ гендерной оценки качества жизни пациентов в зависимости от сроков проведения артроскопической реконструкции ПКС и комплексной индивидуальной реабилитации у 834 пациентов (первая группа, ранняя реконструкция – основная подгруппа А (84 мужчины и 69 женщин) и контрольная А (162 мужчины и 116 женщин); вторая группа, отсроченная реконструкция – основная Б (79 мужчин и 67 женщин) и контрольная Б (140 мужчин и 112 женщин); возраст – 18–55 лет), показал, что через 1 год после оперативного вмешательства у всех пациентов установлена достоверная положительная динамика относительно предоперационного периода по всем шкалам опросника MOS SF-36 ($p < 0,0001$, Т-критерий Вилкоксона). Установлено, что в подгруппах мужчин значения медиан показателей по всем шкалам опросника MOS SF-36 статистически значимо выше, чем у женщин, независимо от сроков выполнения реконструкции ПКС и проведения комплексной индивидуальной реабилитации ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни). Выявлено, что спустя 1 год после артроскопической реконструкции ПКС и реабилитации установлена преимущественная эффективность лечения пациентов по шкалам ФКЗ и ПКЗ у мужчин основной А подгруппы, по сравнению с другими подгруппами ($p < 0,001$, U-критерий Манна-Уитни).

Практическая значимость. Обсуждаются возможности использования параметров качества жизни по данным опросника MOS SF-36 в динамике, как индикатора оценки эффективности проведенного лечения и реабилитации у пациентов, перенесших артроскопическую реконструкцию изолированной ПКС.

Ключевые слова

Качество жизни, реабилитация, передняя крестообразная связка, ранняя и отложенная артроскопическая реконструкция

Для цитирования

Радыш И.И., Журавлёв С.В., Круглянская Е.И., Васильченко Н.В. Оценка качества жизни пациентов в зависимости от пола и срока проведения реконструкции передней крестообразной связки // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 63–72. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-07>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

В мире постоянно увеличивается количество людей с повреждением передней крестообразной связки (ПКС), как одной из самых распространенных травм коленного сустава, особенно у лиц молодого трудоспособного возраста, ведущих активный образ жизни [1]. Уровень распространенности разрыва ПКС достигает по оценке национальных показателей от 8 до 52 случаев на 100 000 человек в год в развитых странах [2]. При этом относительно более высокий уровень распространенности травмы ПКС установлен у мужчин (в первую очередь из-за большей возможности заниматься контактными видами спорта), чем у женщин [3]. Сравнивая уровень травматизма в одних и тех же видах спорта, риск изолированного повреждения ПКС в зависимости от возраста в 3–8 раз выше у женщин, чем у мужчин [4, 5]. Повреждение ПКС имеет биологические, психологические и социальные значения, поскольку часто приводит к формированию посттравматической переднезадней и ротационной нестабильности, нарушению функции мышц и изменению модели движений, о чем свидетельствуют субъективные и объективные оценки функционального состояния коленного сустава, а также качества жизни [1, 6].

В настоящее время концепция определения оценки качества жизни динамично развивается, расширяются сферы ее применения, которые имеют большое значение при анализе клинических ситуаций в разных разделах медицины, в том числе артроскопии [6–10]. Это свидетельствует, что для самих пациентов очень важна эффективность проводимой терапии и реабилитации, а также сохранение их адаптации в обществе, возможности вести активную повседневную жизнь [11–13].

Согласно данным литературы, ранняя реконструкция ПКС в течение первых 2-х месяцев после получения травмы является эффективным способом снижения риска вторичных разрывов и повреждений менисков и суставного хряща, а также снижает риск развития посттравматического остеоартрита и повышает возможности вернуться к занятию спортом [14–16]. По мнению ряда авторов, задержка реконструкции ПКС более 3-х месяцев после перенесенной травмы может быть связана с повышенным риском последующего повреждения менисков, суставного хряща и внесуставных капсульно-связочных структур коленного сустава и развития остеоартрита [17, 18].

Для достижения полного восстановления функции коленного сустава после артроскопической реконструкции ПКС необходима соответствующая и тщательно разработанная стратегия послеоперационной физической реабилитации, позволяющая безопасно и эффективно вернуться к функциональной деятельности повседневной жизни и спортивной деятельности, предотвращая преждевременное развитие остеоартрита коленного сустава [16, 19–21]. Применение физических факторов без учета оценки их эффективности может привести к отсутствию клинически значимого эффекта. Поэтому восстановление функции коленного сустава и возвращение к соревновательному спорту без повторных травм, а также хорошее качество жизни являются ключевыми факторами, определяющими успех физической реабилитации пациентов [22–24].

Некоторые авторы утверждают, что по сравнению с мужчинами, после реконструкции ПКС, у женщин наблюдаются более низкий уровень функции коленного сустава, меньшая вероятность вернуться в спорт и значительно больший риск получения повторной травмы [4].

В связи с этим оценка качества жизни и эффективности проведения физической реабилитации у пациентов после ранней и отсроченной артроскопической реконструкции ПКС является актуальной проблемой, изучение которой поможет получить оптимальные клинические результаты, скоординировать реабилитационный процесс для снижения осложнений и более успешного и полноценного восстановления пациентов после травмы.

Ц е л ь р а б о т ы – гендерная оценка эффективности применения комплексной индивидуальной реабилитации на качество жизни пациентов в зависимости от сроков проведения артроскопической реконструкции ПКС.

Материалы и методы

В исследование включено 834 пациента (464 мужчины и 370 женщин) в возрасте 18–55 лет с изолированным разрывом ПКС коленного сустава, которым после выполнения артроскопической реконструкции ПКС проводилось восстановительное лечение и реабилитационные мероприятия. Все обследуемые ранее не имели повреждений коленного сустава. Артроскопическая пластика ПКС коленного сустава проведена с использованием свободного аутооттрансплантата из сухожилий полусухожильной и нежной мышц. У всех пациентов использовалась идентичная комбинация фиксаторов – «пуговица» для бедра (Endobutton Smith&Nephew, RigidLoop J&J) и интерферентный винт (BIORCI Smith&Nephew; Absolute, Milagro J&J) для большеберцовой кости.

Все пациенты были распределены на две группы в зависимости от сроков выполнения артроскопической реконструкции ПКС после травмы.

П е р в а я г р у п п а – 431 пациент, у которых пластика ПКС проводилась в ранние сроки после травмы со 2-й недели по 6-ю, включительно. Эта группа разделена на две подгруппы: основную А (84 мужчины и 69 женщин), в которой проводили восстановительное лечение и комплексную реабилитацию по индивидуальной программе, и контрольную А (162 мужчины и 116 женщин), в которой пациенты получали только восстановительное лечение после реконструкции ПКС.

В т о р а я г р у п п а – 403 пациента, которые были прооперированы в поздние сроки после травмы с 7-й недели до 1 года включительно. Группа была разделена на две подгруппы: основную Б (79 мужчин и 67 женщин), в которой проводили восстановительное лечение и комплексную реабилитацию

по индивидуальной программе, и контрольную Б (140 мужчин и 112 женщин), в которой пациенты получали только восстановительное лечение после реконструкции ПКС.

Пациенты основных А и Б подгрупп, помимо восстановительного лечения, получали комплексную индивидуальную программу реабилитации длительностью 6 недель, которая включала механотерапию и физиотерапию (высокочастотная магнитотерапия, импульсные токи, фонофорез), гидрокинезиотерапию, криотерапию и электромиостимуляцию.

Пациенты контрольной группы получили восстановительное лечение в соответствии со стандартной реабилитационной программой.

Антропометрические показатели определялись традиционным методом: рост (Р, см), масса тела (МТ, кг). Рассчитывался индекс массы тела (ИМТ) по формуле ($ИМТ = МТ/Р$, $кг/м^2$).

Оценку эффективности хирургического лечения пациентов с разрывом ПКС проводили с помощью субъективного опросника качества жизни SF-36 в ходе динамического наблюдения до операции и через год после артроскопической реконструкции и комплексной индивидуальной реабилитации.

Качество жизни оценивали с помощью международного стандартизированного опросника SF-36 (Medical Outcomes Study Short-Form 36) [25]. Этот опросник состоит из 36 вопросов, которые группируются в 8 шкал. Из них 4 шкалы характеризуют суммарный показатель физического компонента здоровья (ФКЗ): физическое функционирование (ФФ), ролевое физическое функционирование (РФФ), физическая боль (ФБ), общее здоровье (ОЗ), а другие 4 шкалы позволяют характеризовать суммарный показатель психического компонента здоровья (ПКЗ): жизненная активность (ЖА), социальное функционирование (СФ), ролевое эмоциональное функционирование (РЭФ), психологическое здоровье (ПЗ). Параметры каждой шкалы оценивались от 0 до 100 баллов. Наилучшее состояние организма составляет 100 баллов, а наихудшее – 0 баллов, которое соответствует максимальному ограничению жизнедеятельности по данному параметру. Результат оценки: чем выше балл по шкале, тем состояние респондента лучше по данному критерию.

Для расчета эффективности лечения использовали формулу

$$r(x_1, x_2) = \frac{x_2 - x_1}{\max\{x_1, x_2\}},$$

где x_1, x_2 – показатели шкалы до и после лечения, соответственно.

Эффективность лечения представляли в условных единицах, которые интерпретировали следующим образом: менее 0,2 – низкая; 0,2...0,4 – умеренная; 0,5...0,6 – средняя; 0,6...0,7 – высокая; 0,8...1,0 – очень высокая [26]. Более высокая оценка эффективности соответствует лучшему восстановлению пациента после реконструкции ПКС и проводимой реабилитации.

Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием программы STATISTICA 12.0, Stat Soft, Inc. Сравнение двух независимых выборок осуществлялось при помощи непараметрических критериев: U-критерия Манна-Уитни и T-критерия Вилкоксона. При проверке статистических гипотез критический уровень значимости (p) в работе принимался равным 0,05. Для описания выборочного распределения использовались следующие выборочные характеристики: медиана (Me), первый (Q_1) и третий (Q_3) квартили – для распределения, не подчиняющегося нормальному. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Гендерное распределение обследуемых характеризовалось преобладанием пациентов мужского пола ($n = 464, 55,6\%$) по сравнению с женским ($n = 370, 44,4\%$). Сравнительный анализ антропометрических характеристик показал, что группы не имели статистически достоверных различий ($p > 0,05$) по возрасту, медиана у мужчин первой группы составила 31 год (межквартильный размах от 26 до 39 лет) и у женщин – 30 лет (межквартильный размах от 25 до 37 лет), а во второй – у мужчин медиана равнялась 31 году (межквартильный размах от 26 до 36 лет) и у женщин – 32 года (межквартильный размах от 27 до 38 лет). По индексу массы тела медиана у мужчин первой группы составила $24,5 \text{ кг/м}^2$ (межквартильный размах от $22,8$ до $26,4 \text{ кг/м}^2$) и у женщин – $23,8 \text{ кг/м}^2$ (межквартильный размах от $22,2$ до $26,4 \text{ кг/м}^2$), а во второй – у мужчин медиана равнялась $24,5 \text{ кг/м}^2$ (межквартильный размах от $23,7$ до $26,5 \text{ кг/м}^2$) и у женщин – $24,3 \text{ кг/м}^2$ (межквартильный размах от $22,9$ до $26,3 \text{ кг/м}^2$). Это свидетельствует, что группы для проведения исследований сформированы корректно.

Результаты опроса пациентов по субъективному опроснику качества жизни MOS SF-36 у пациентов до реконструкции ПКС представлены в табл. 1. Сравнительный анализ медиан шкал опросника MOS SF-36, характеризующих качество жизни, обусловленное состоянием здоровья пациентов мужского и женского пола, показал, что при поступлении в отделение для проведения артроскопической реконструкции изолированной ПКС значения медиан оценки качества жизни по всем шкалам были снижены ($p < 0,001$) по сравнению с литературными данными популяционных исследований [27]. При этом у всех пациентов первой группы медианы показателей по всем шкалам статистически значимо ниже, чем во второй ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни).

Таблица 1. Результаты субъективного опросника качества жизни MOS SF-36 у пациентов до реконструкции ПКС, Me (Q1–Q3), баллы

Шкалы MOS SF-36	Основная А		Контрольная А	
	Мужчины (n=84)	Женщины (n=69)	Мужчины (n=162)	Женщины (n=116)
<i>Первая группа</i>				
ФФ	15 (10 - 20)	15 (10 - 20)	15 (10 - 20)	15 (10 - 15)
РФФ	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)
ФБ	32 (31 - 41)	31 (22 - 41)	32 (31 - 41)	31 (22 - 41)
ОЗ	57 (53,5 - 62)	57 (52 - 57)	55 (55 - 62)	55 (52 - 57)
ЖА	55 (50 - 60)	50 (45 - 55)	55 (50 - 60)	50 (50 - 55)
СФ	37,5 (31 - 37,5)	37,5 (25 - 37,5)	37,5 (31 - 37,5)	37,5 (25 - 37,5)
РЭФ	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 33,33)	0 (0 - 33,33)
ПЗ	56 (52 - 56)	56 (52 - 56)	56 (52 - 56)	56 (52 - 56)
ФКЗ	28,6 (27,1-31,6)	28,3 (26,1-29,4)	29,2 (27,2-31,6)	28,2 (27,2-30,9)
ПКЗ	40,3 (38,8-43,9)	41,4 (39,6-43,3)	40,5 (38,9-43,6)	41,2 (39,2-43,1)
<i>Вторая группа</i>				
	(n=78)	(n=73)	(n=140)	(n=112)
ФФ	45 (40 - 45) *	45 (40 - 45) *	45 (40 - 45) *	45 (40 - 45) *
РФФ	25 (25 - 25) *	25 (25 - 25) *	25 (25 - 25) *	25 (25 - 25) *
ФБ	51 (32 - 51) *	41 (41 - 42) *	51 (32 - 51) *	41 (32 - 42) *
ОЗ	62 (57 - 67) *	57 (57 - 62) *	62 (57 - 67) *	57 (57 - 62) *
ЖА	57 (55 - 65) *	55 (50 - 60) *	57 (50 - 65) *	55 (50 - 60) *
СФ	50 (37,5 - 50) *	37,5 (37,5 - 50) *	50 (37,5 - 50) *	37,5 (37,5 - 50) *
РЭФ	33,3 (33,3-33,3) *	33,3 (33,3-33,3) *	33,3 (33,3-33,3) *	33,3 (33,3-33,3) *
ПЗ	62 (60 - 64) *	60 (56 - 64) *	62 (60 - 64) *	60 (56 - 64) *
ФКЗ	36,6 (34,2-38,3)	35,8 (33,8-37,6)	36,2 (33,9-37,9)	35,8 (33,9-37,4)
ПКЗ	44,7 (41,9-47,3)	43,8 (41,9-46,9)	44,1 (42,2-47,8)	43,7 (41,2-46,1)

Примечание: установлены статистические различия: * – между первой и второй группами до операции ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни).

Следует отметить, что у пациентов первой группы до реконструкции выявлены крайне низкие значения показателей по шкале РФФ, обусловленное физическим состоянием, и РФФ, обусловленное эмоциональным состоянием; медианы составили 0,00 баллов (Q1–Q3) у мужчин и у женщин. Это приводило к ограничению физической активности и вносило существенный вклад в снижение качества жизни пациентов. Вместе с тем у 50% мужчин и женщин величины шкалы РЭФ находились в диапазоне (0,00–33,33) баллов (Q1–Q1), интердецильный размах был шире в женской группе: (0,00–50,00) против (0,00–33,33) у мужчин (D1–D9).

Установлено, что у пациентов второй группы до реконструкции самые высокие значения среди шкал ФКЗ были у шкалы ОЗ: медиана 62 (57–67) у мужчин и у женщин. По этой шкале зафиксированы достаточно высокие максимальные значения – 77,00 баллов в обеих подгруппах; значения Q1 по шкале ОЗ превышали половину от максимальной оценки.

Сравнительный анализ результатов опроса пациентов по субъективному опроснику MOS SF-36 у пациентов после реконструкции ПКС и комплексной индивидуальной реабилитации представлен в табл. 2.

Таблица 2. Результаты субъективного опросника качества жизни MOS SF-36 у пациентов после реконструкции ПКС и комплексной индивидуальной реабилитации, Me (Q₁– Q₃), баллы

Шкалы MOS SF-36	Основная А		Контрольная А	
	Мужчины (n=84)	Женщины (n=69)	Мужчины (n=162)	Женщины (n=116)
<i>Первая группа</i>				
ФФ	95 (92 - 95) **	95 (90 - 95) **	90 (90 - 95) **	90 (85 - 90) **
РФФ	100 (100 - 100) **	100 (100 - 100) **	100 (75 - 100) **	75 (75 - 100) **
ФБ	100 (88 - 100) **	92 (88 - 100) **	84 (84 - 92) **	84 (84 - 92) **
ОЗ	92 (87 - 92) **	92 (87 - 92) **	87 (82 - 87) **	87 (82 - 87) **
ЖА	90 (85 - 95) **	90 (85 - 90) **	85 (85 - 90) **	85 (80 - 85) **
СФ	100 (87,5 - 100) **	100 (87,5 - 100) **	87,5 (87,5 - 100) **	87,5 (75 - 100) **
РЭФ	100 (100 - 100) **	100 (100 - 100) **	100 (100 - 100) **	100 (66,7 - 100) **
ПЗ	92 (88 - 92) **	92 (88 - 92) **	88 (84 - 92) **	88 (84 - 88) **
ФКЗ	57,2 (56,6-58,2) **	54,4 (53,1-56,4) **	56,1 (54,6-56,9) **	52,8 (51,3-53,8) **
ПКЗ	60,2 (59,4-61,6)	58,3 (56,5-59,1) **	58,7 (57,4-59,5)	56,8 (54,8-57,9) **
<i>Вторая группа</i>				
	(n=78)	(n=73)	(n=140)	(n=112)
ФФ	90 (90 - 95) #	90 (85 - 90) #	85 (85 - 90) #	85 (85 - 85) #
РФФ	100 (75 - 100) #	100 (75 - 100) #	75 (75 - 100) #	75 (75 - 100) #
ФБ	90 (84 - 94) #	84 (84 - 92) #	80 (80 - 84) #	80 (80 - 84) #
ОЗ	87 (82 - 92) #	87 (82 - 87) #	82 (82 - 87) #	82 (82 - 87) #
ЖА	85 (85 - 90) #	85 (80 - 85) #	85 (80 - 85) #	80 (80 - 80) #
СФ	87,5 (87,5-100) #	87,5 (87,5-100) #	87,5 (87,5–87,5) #	75 (75 – 87,5) #
РЭФ	100 (100 - 100) #	100 (66,7 - 100) #	100 (66,7 - 100) #	66,7 (66,7 - 100) #
ПЗ	88 (84 - 92) #	88 (84 - 88) #	84 (84 - 88) #	84 (80 - 84) #
ФКЗ	54,6 (53,2-56,3) #	52,7 (50,1-54,3) #	53,9 (50,1-54,3) #	50,6 (48,6-52,4) #
ПКЗ	58,2 (56,9–59,9) #	56,2 (53,1-58,9) #	56,9 (53,7-58,3) #	53,7 (53,7-54,8) #

Примечание. Установлены статистические различия: # – до и после операции и реабилитации ($p < 0,0001$, Т-критерий Вилкоксона); * – между группами после операции и реабилитации ($p < 0,001$, U-критерий Манна-Уитни).

Анализ медиан показал, что через 1 год после оперативного вмешательства и проведения комплексной индивидуальной реабилитации у всех пациентов установлена достоверная положительная динамика относительно предоперационного периода по всем шкалам опросника ($p < 0,0001$, Т-критерий Вилкоксона). Установлено, что в группах мужчин значения медиан по всем шкалам опросника MOS SF-36 статистически значимо выше, чем у женщин, независимо от сроков выполнения реконструкции ПКС и проведения комплексной индивидуальной реабилитации ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни). При этом у пациентов мужского и женского пола основной А подгруппы медианы показателей по всем шкалам статистически значимо выше по сравнению с остальными подгруппами ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни).

Таким образом, анализ медиан шкал субъективного опросника MOS SF-36 через 1 год после операции показал, что балльные значения медиан в подгруппах мужчин оказались достоверно выше, чем в подгруппах женщин, особенно в основной А подгруппе ($p < 0,001$, U-критерий Манна-Уитни). Это свидетельствует, что мужчины основной А подгруппы более высоко субъективно оценили функциональное состояние организма после реконструкции, т.е. оперативное лечение в ранние сроки после травмы и проведенная комплексная индивидуальная реабилитация в большей мере положительно влияют на субъективное благополучие мужчин, по сравнению с женщинами.

Сравнительный анализ медиан эффективности лечения по данным шкал ФКЗ и ПКЗ опросника MOS SF-36 у пациентов через 1 год после реконструкции ПКС и комплексной индивидуальной реабили-

тации представлен в табл. 3. Установлено, что в подгруппах мужчин значения медиан эффективности лечения по шкалам ФКЗ и ПКЗ статистически значимо выше, чем у женщин, независимо от сроков выполнения пластики ПКС и комплексной индивидуальной реабилитации ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни). При анализе отдаленных результатов у 38,1% мужчин основной А подгруппы были получены высокие результаты, у 60,7% – средние и у 1,2% – умеренные, а женщины из основной А подгруппы результаты оперативного вмешательства оценили 28,9%, 66,8% и 4,3%, соответственно. При этом у 4,3% пациентов мужского пола контрольной А подгруппы составили высокие результаты, 83,4% – средние и 12,3% – умеренные, а женщины из контрольной А подгруппы – 1,7%, 75,9% и 22,4%, соответственно. Выявлено, что у 21,8% мужчин основной Б подгруппы получены высокие результаты, у 65,4% – средние и у 12,8% – умеренные, а у женщин из основной Б подгруппы – 10,9%, 65,8% и 23,3%, соответственно. При этом у 0,7% мужчин контрольной Б подгруппы составили высокие результаты, 73,6% – средние и 25,7% – умеренные, а у женщин из контрольной Б подгруппы – 0%, 68,8% и 31,2%, соответственно. Низкие результаты отсутствовали во всех подгруппах пациентов.

Таблица 3. Показатели эффективности лечения пациентов по данным шкал ФКЗ и ПКЗ опросника MOS SF-36 у пациентов через 1 год после реконструкции ПКС и реабилитации (Me (Q1– Q3)), усл. ед.

Шкалы MOS SF-36	Основная А		Контрольная А	
	Мужчины (n=84)	Женщины (n=69)	Мужчины (n=162)	Женщины (n=116)
<i>Первая группа</i>				
ФКЗ	0,58 (0,53 - 0,61)*#	0,54 (0,51 - 0,59)*	0,49 (0,43 - 0,52)*#	0,46 (0,41 - 0,49)*
ПКЗ	0,46 (0,39 - 0,49)*#	0,42 (0,37 - 0,44)*	0,41 (0,35 - 0,43)*#	0,38 (0,33 - 0,41)*
<i>Вторая группа</i>				
	(n=78)	(n=73)	(n=140)	(n=112)
ФКЗ	0,51 (0,47 - 0,53)#	0,46 (0,41 - 0,49)	0,44 (0,36 - 0,45)#	0,39 (0,34 - 0,42)
ПКЗ	0,39 (0,35 - 0,43)#	0,36 (0,33 - 0,41)	0,34 (0,31 - 0,38)#	0,31 (0,29 - 0,35)

Примечания: * – статистически значимое изменение параметра между первой и второй группами ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни); # – статистически значимое изменение параметра между группами мужчин и женщин ($p < 0,001$, U-критерий Манна-Уитни).

Таким образом, полученные клинические результаты в подгруппах показали, что у мужчин значения медианы эффективности лечения по данным шкал ФКЗ и ПКЗ опросника MOS SF-36 статистически значимо выше, чем у женщин, и эффективность лечения зависит от сроков выполнения пластики и проведения комплексной индивидуальной реабилитации.

В настоящее время активно применяется субъективный опросник MOS SF-36 для объективизации ощущений пациента с различными травмами связочного аппарата коленного сустава, а также достоверных способов оценки эффективности лечения и проводимой физической реабилитации, результатом чего является улучшение качества жизни пациентов [29, 30].

Было установлено, что у пациентов первой группы до реконструкции ПКС выявлены крайне низкие значения показателей по шкалам ФФ, РФФ, ФБ и РЭФ, что приводит к ограничению повседневной физической активности и вносит существенный вклад в снижение качества жизни. Полученные данные согласуются с результатами работ других авторов [22, 31], где показано, что разрыв ПКС коленного сустава в большей мере негативно влияет на субъективное благополучие пациентов на ранних сроках полученной травмы.

В настоящем исследовании показано, что проведенная комплексная индивидуальная реабилитации достоверно улучшила качество жизни по шкалам MOS SF-36, которое свидетельствует о восстановлении стабильности и кинематики коленного сустава, а также о значительном повышении физической активности и улучшении психологического благополучия пациентов. Полученные данные согласуются с результатами работ других авторов [20–22].

В исследовании показано, что спустя 1 год после артроскопической реконструкции ПКС и комплексной индивидуальной реабилитации наибольшее количество респондентов показали максимальные результаты по шкалам ФКЗ и ПКЗ в основной А подгруппе, в которой реконструкция проводилась на ранних сроках после разрыва ПКС, что указывает на преимущественную эффективность лечения и про-

водимой реабилитации. Так, у 38,1% мужчин основной А подгруппы получены высокие результаты, у 60,7% – средние и у 1,2% – умеренные, а у женщин основной А подгруппы результаты составили 28,9%, 66,8% и 4,3%, соответственно. Это согласуется с результатами ряда других авторов [32].

Заключение

Полученные клинические результаты артроскопической реконструкции ПКС и комплексной индивидуальной реабилитации по данным шкал опросника MOS SF-36 свидетельствуют о более высокой эффективности лечения и проводимой реабилитации в первой группе пациентов, которым оперативное вмешательство выполнено на ранних сроках, по сравнению с пациентами второй группы, оперированными на более поздних сроках с момента получения травмы. Установлено, что в подгруппах мужчин значения медиан показателей по всем шкалам опросника MOS SF-36 статистически значимо выше, чем у женщин, независимо от сроков выполнения реконструкции ПКС и проведения комплексной индивидуальной реабилитации ($p < 0,0001$, U-критерий Манна-Уитни). Спустя 1 год после артроскопической реконструкции ПКС и реабилитации установлена преимущественная эффективность лечения пациентов по шкалам ФКЗ и ПКЗ у мужчин основной А подгруппы, по сравнению с другими подгруппами ($p < 0,001$, U-критерий Манна-Уитни).

Список источников

1. Spronk I., Geraerds A.J.L.M., Bonsel G.J., de Jongh M.A.C., Polinder S., Haagsma J.A. Correspondence of directly reported and recalled health-related quality of life in a large heterogeneous sample of trauma patients // *Quality of Life Research*. 2019. V. 28. № 11. P. 3005–3013. <https://DOI.org/10.1007/s11136-019-02256-z>
2. Zheng S., He A., Yu Y., Jiang L., Liang J., Wang P. Research trends and hotspots of health-related quality of life: a bibliometric analysis from 2000 to 2019 // *Health Qual Life Outcomes*. 2021. V. 19. № 2. P. 130–142. <https://DOI.org/10.1186/s12955-021-01767-z>
3. Silvers-Granelli H. Why Female Athletes Injure Their ACL's More Frequently? What can we do to mitigate their risk? // *IJSPT*. 2021. V. 16. № 4. P. 971–977. DOI: 10.26603/001c.25467
4. Parsons J.L., Coen S.E., Bekker S. Anterior cruciate ligament injury: towards a gendered environmental approach // *Br. J. Sports Med*. 2021. V. 55. № 17. P. 984–990. DOI: 10.1136/bjsports-2020-103173
5. Marmura H. *Infographic. Sex differences and ACL injuries* // *Br. J. Sports Med*. 2021. V. 21. P. 1041–1047. DOI: 10.1136/bjsports-2021-104134
6. Filbay S.R., Pandya T., Thomas B., McKay C., Adams J., Arden N. Quality of Life and Life Satisfaction in Former Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Sports Med*. 2019. V. 49. № 11. P. 1723–1738. <https://DOI.org/10.1007/s40279-019-01163-0>
7. Martinec R., Pinjatela R., Balen D. Quality of life in patients with rheumatoid arthritis – a preliminary study // *Acta Clin. Croat*. 2019. V. 58. № 1. P. 157–166. <https://DOI.org/10.20471/acc.2019.58.01.20>
8. Williams T., Burley D., Evans L., Robertson A., Hardy L., Roy S., Lewis D. The structural validity of the IKDC and its relationship with quality of life following ACL reconstruction // *Scandinavian J. of Medicine & Science in Sports*. 2020. V. 30. № 9. P. 1748–1757. <https://DOI.org/10.1111/sms.13738>
9. Федюлова Д.В., Берюгин К.А. Физическая реабилитация спортсменов после травмы передней крестообразной связки и мениска коленного сустава с применением баланс-тренинга (Под ред. Белокрылова Н.М.). Екатеринбург, 2022. 124 с.
10. Радьш И.И. Гендерные различия оценки качества жизни до и после артроскопической реконструкции передней крестообразной связки // *Технологии живых систем*. 2019. Т. 16. № 1. С. 44–49. <https://DOI.org/10.18127/j20700997-201901-02>
11. Plachel F., Jung T., Bartek B., Rüttershof K., Perka C., Gwinner C. The subjective knee value is a valid single-item survey to assess knee function in common knee disorders // *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*. 2022. V. 142. № 8. P. 1723–1730. <https://DOI.org/10.1007/s00402-021-03794-3>
12. Waldron K., Brown M., Calderon A., Feldman M. Anterior Cruciate Ligament Rehabilitation and Return to Sport: How Fast Is Too Fast? // *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*. 2022. V. 4. № 1. P. e175–e179. <https://DOI.org/10.1016/j.asmr.2021.10.027>
13. Gokeler A., Dingenen B., Hewett T.E. Rehabilitation and Return to Sport Testing After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: Where Are We in 2022? // *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*. 2022. V. 4. № 1. P. e77–e82. <https://DOI.org/10.1016/j.asmr.2021.10.025>
14. Filbay S.R. Early ACL reconstruction is required to prevent additional knee injury: a misconception not supported by high-quality evidence // *British J. Sports Med*. 2019. V. 53. № 8. P. 459–461. <https://DOI.org/10.1136/bjsports-2018-099842>
15. Sonesson S., Gauffin H., Kvist J. Early knee status affects self-reported knee function 1 year after non-surgically treated anterior cruciate ligament injury // *Physical Therapy in Sport*. 2021. V. 50. № 3. P. 173–183. <https://DOI.org/10.1016/j.ptsp.2021.05.007>
16. Monaco E., Iannotti F., Carozzo A., Annibaldi A., Marzilli F., Nurzia M., Indelli P.F., Ferretti A. Quick Recovery and No Arthrofibrosis in Acute Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: a Prospective Trial of Early versus Delayed Reconstruction // *Muscles, Ligaments and Tendons J*. 2021. V. 11. № 2. P. 324–332. <https://DOI.org/10.32098/mltj.02.2021.16>
17. Kim S.H., Han S., Park Y.-B., Kim D.-H., Lee H.-J., Pujol N. A systematic review comparing the results of early vs delayed ligament surgeries in single anterior cruciate ligament and multiligament knee injuries // *Knee Surgery & Related Research*. 2021. V. 33. № 1. P. 1–19. <https://DOI.org/10.1186/s43019-020-00086-9>

18. *Cristiani R., Janary P.-M., Engström B., Edman G., Forssblad M., Stålmán A.* Delayed Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Increases the Risk of Abnormal Preconstruction Laxity, Cartilage, and Medial Meniscus Injuries // *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*. 2021. V. 37. № 4. P. 1214–1220. <https://DOI.org/10.1016/j.arthro.2020.11.030>
19. *Feye A.P.* Effects of different protocols of strength training in postoperative rehabilitation of anterior cruciate ligament: a review // *MOJ Sports Med*. 2018. V. 2. № 2. P. 78–82. <https://DOI.org/10.15406/mojm.2018.02.00051>
20. *Badawy Ch.R., Jan K., Beck E.C., Fleet N., Taylor J., Ford K., Waterman B.R.* Contemporary Principles for Postoperative Rehabilitation and Return to Sport for Athletes Undergoing Anterior Cruciate Ligament Reconstruction // *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*. 2022. V. 4. № 1. P. e103–e113. <https://DOI.org/10.1016/j.asmr.2021.11.002>
21. *Nelson C., Rajan L., Day J., Hinton R., Bodendorfer B.M.* Postoperative Rehabilitation of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Systematic Review // *Sports Med. Arthrosc. Rev*. 2021. V. 29. № 2. P. 63–80. <https://DOI.org/10.1097/JSA.0000000000000314>
22. *Beard D.J., Davies L., Cook J.A., Stokes J., Leal J., Fletcher H., Abram S.* Rehabilitation versus surgical reconstruction for non-acute anterior cruciate ligament injury (ACL SNNAP): a pragmatic randomised controlled trial // *Lancet*. 2022. V. 400. № 10352. P. 605–615. [https://DOI.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01424-6](https://DOI.org/10.1016/S0140-6736(22)01424-6)
23. *Patra S.K., Nanda S.N., Patro B.P., Sahu N.K., Mohnaty Ch.R., Jain M.* Early Accelerated versus Delayed Conservative Rehabilitation Protocol after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Prospective Randomized Trial // *Rev. Bras. Ortop*. 2022. V. 57. № 3. P. 429–436. <https://DOI.org/10.1055/s-0042-1748969>
24. *Гурфинкель Ю.И., Мацкеллишвили С.Т., Ремизова Ю.А., Пигуренко А.А., Новиков Н.Д., Камиллов К.И., Тишин А.М.* Влияние слабых электромагнитных полей на эндотелиальную функцию молодых здоровых добровольцев // *Технологии живых систем*. 2021. Т. 18. № 2. С. 5–14. DOI: <https://DOI.org/10.18127/j20700997-202102-01>
25. *Ware J.E., Kosinski M., Grandek B.* SF-36 Health Survey: manual and interpretation guide. Lincoln, RI: Quality Metric. 2005. 316 p.
26. *Fayers P. M., Machin D.* Quality of life: The assessment, analysis and reporting of patient-reported outcomes (3rd ed.). Wiley. 2016. 237 p.
27. *Fernandes C.S.E., Lima M.G., Barros M.B.A.* Emotional problems and health-related quality of life: population-based study // *Quality of Life Research*. 2019. V. 28. №11. P. 3037–3046. <https://DOI.org/10.1007/s11136-019-02230-9>
28. *Holownia-Voloskova M., Tarbastaev A., Golicki D.* Population norms of health-related quality of life in Moscow, Russia: the EQ-5D-5L-based survey // *Quality of Life Research*. 2021. № 30. P. 831–840. <https://DOI.org/10.1007/s11136-020-02705-0>
29. *Filbay, S.R., Kvist J.* Fear of Reinjury Following Surgical and Nonsurgical Management of Anterior Cruciate Ligament Injury: An Exploratory Analysis of the NACOX Multicenter Longitudinal Cohort Study // *Phys Ther*. 2022. V. 102. №2. P. 273–279. DOI: 10.1093/ptj/pzab273
30. *Nambi, G. Abdelbasset W.K., Verma A. Elsayed S.H., Aldhafian O.R* Effects of Postoperative Rehabilitation on Gait Parameters and Electromyography Variables in Acute and Chronic Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Surgery in Football Players // *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021. № 3. P. 1–8. <https://DOI.org/10.1155/2021/9912795>
31. *Larose G., Leiter J., Peeler J., McRae Sh., Stranges G., Rollins M., Davidson M., MacDonald P.* Quality of life during the wait for ruptured anterior cruciate ligament reconstruction: a randomized controlled trial // *Can. J. Surg*. 2022. V. 12. № 2. P. E269–E274. <https://DOI.org/10.1503/cjs.007820>
32. *Joelson A., Nerelius F, Sigmundsson F.G., Karlsson J.* The minimal important change for the EQ VAS based on the SF-36 health transition item: observations from 25772 spine surgery procedures // *Quality of Life Research*. 2022. V. 31. № 8. P. 3459–3466 <https://DOI.org/10.1007/s11136-022-03182-3>

Информация об авторах

Иван Иванович Радыш – врач травматолог-ортопед,
зав. отделением травматологии, ортопедии и медицинской реабилитации
SPIN-код: не представлен

Сергей Викторович Журавлёв – к.м.н., гл. врач
SPIN-код: не представлен

Екатерина Игоревна Круглянская – врач травматолог-ортопед,
отделение травматологии, ортопедии и медицинской реабилитации
SPIN-код: не представлен

Никита Вадимович Васильченко – аспирант, кафедра нормальной физиологии;
врач травматолог-ортопед, отделение травматологии, ортопедии и медицинской реабилитации

Статья поступила в редакцию 27.03.2023
Одобрена после рецензирования 03.04.2023
Принята к публикации 17.04.2023

Original article

Assessment of the quality of life in patients depending on gender and timing of the anterior cruciate ligament reconstruction

I.I. Radysh¹, S.V. Zhuravlev², E.I. Kruglyanskaya³, N.V. Vasilchenko⁴

¹⁻⁴ Clinical hospital № 1 of Department of Presidential Affairs (Moscow, Russia)

⁴ Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

¹ dr-ivo@yandex.ru, ² volynka@volynka.ru, ³ katerina_i_k@mail.ru, ⁴ vasilchenkonikit@gmail.com

Abstract

The article presents data on gender differences in assessing the quality of life of patients depending on the timing of the anterior cruciate ligament (ACL) arthroscopic reconstruction and complex individual rehabilitation.

An analysis of the gender assessment of the quality of life was carried out in 834 patients (the first group, early reconstruction - the main subgroup A (84 men and 69 women) and control A (162 men and 116 women); the second group, delayed reconstruction - the main B (79 men and 67 women) and control B (140 men and 112 women); aged 18-55 years).

It was found that before ACL reconstruction, the median values on all scales of the MOS SF-36 questionnaire were reduced ($p < 0.001$) compared to the literature data of population studies.

One year after surgery, all patients showed significant positive dynamics relative to the preoperative period on all scales of the MOS SF-36 questionnaire ($p < 0.0001$, Wilcoxon T-test). It was found that in subgroups of men, the median values for all scales of the MOS SF-36 questionnaire were statistically significantly higher than in women, regardless of the timing of ACL reconstruction and complex individual rehabilitation ($p < 0.0001$, Mann-Whitney U-test).

It was found that 1 year after ACL arthroscopic reconstruction and rehabilitation, the primary efficacy of treatment of patients according to the PCS and MCS scales of the main A subgroup was established compared to other subgroups ($p < 0.001$, Mann-Whitney U-test). So, in 38.1% of men of the main A subgroup, high results were obtained, in 60.7% - average and in 1.2% - moderate, and women from the main A subgroup evaluated the results of surgical intervention 28.9%, 66.8 % and 4.3%, respectively. At the same time, 4.3% of male patients of the control A subgroup had high results, 83.4% - medium and 12.3% - moderate, and women from the control A subgroup - 1.7%, 75.9% and 22.4%, respectively.

It was found that 21.8% of men of the main B subgroup received high results, 65.4% - average and 12.8% - moderate, and women from the main B subgroup - 10.9%, 65.8% and 23.3%, respectively. At the same time, 0.7% of men in the control B subgroup had high results, 73.6% - average and 25.7% - moderate, and women from the control B subgroup - 0%, 68.3% and 31.7%, respectively. Low results were absent in all subgroups of patients.

Thus, the obtained clinical results of ACL arthroscopic reconstruction and complex individual rehabilitation according to the MOS SF-36 questionnaire data indicate the higher efficiency of treatment and rehabilitation in the 1-st group of patients who underwent surgery at the early period, compared with 2-th group, operated on at the delayed from the moment of injury.

Keywords

Quality of life, rehabilitation, anterior cruciate ligament, early and delayed arthroscopic reconstruction

For citation

Radysh I.I., Zhuravlev S.V., Kruglyanskaya E.I., Vasilchenko N.V. Assessment of the quality of life in patients depending on gender and timing of the anterior cruciate ligament reconstruction. *Technologies of Living Systems*. 2023. V. 20. № 2. P. 63–72. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-07> (In Russian)

References

1. Spronk I., Geraerds A.J.L.M., Bonsel G.J., de Jongh M.A.C., Polinder S., Haagsma J.A. Correspondence of directly reported and recalled health-related quality of life in a large heterogeneous sample of trauma patients. *Quality of Life Research*. 2019. V. 28. № 11. P. 3005–3013. <https://doi.org/10.1007/s11136-019-02256-z>
2. Zheng S., He A., Yu Y., Jiang L., Liang J., Wang P. Research trends and hotspots of health-related quality of life: a bibliometric analysis from 2000 to 2019. *Health Qual Life Outcomes*. 2021. V. 19. № 2. P. 130–142. <https://doi.org/10.1186/s12955-021-01767-z>
3. Silvers-Granelli H. Why Female Athletes Injure Their ACL's More Frequently? What can we do to mitigate their risk? *IJSPT*. 2021. V. 16. № 4. P. 971–977. DOI: 10.26603/001c.25467
4. Parsons J.L., Coen S.E., Bekker S. Anterior cruciate ligament injury: towards a gendered environmental approach. *Br. J. Sports Med*. 2021. V. 55. № 17. P. 984–990. DOI: 10.1136/bjsports-2020-103173
5. Marmura H. Infographic. Sex differences and ACL injuries. *Br. J. Sports Med*. 2021. V. 21. P. 1041–1047. DOI: 10.1136/bjsports-2021-104134
6. Filbay S.R., Pandya T., Thomas B., McKay C., Adams J., Arden N. Quality of Life and Life Satisfaction in Former Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2019. V. 49. № 11. P. 1723–1738. <https://doi.org/10.1007/s40279-019-01163-0>
7. Martinec R., Pinjatela R., Balen D. Quality of life in patients with rheumatoid arthritis – a preliminary study. *Acta Clin. Croat*. 2019. V. 58. № 1. P. 157–166. <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.01.20>
8. Williams T., Burley D., Evans L., Robertson A., Hardy L., Roy S., Lewis D. The structural validity of the IKDC and its relationship with quality of life following ACL reconstruction. *Scandinavian J. of Medicine & Science in Sports*. 2020. V. 30. № 9. P. 1748–1757. <https://doi.org/10.1111/sms.13738>
9. Fedulova D.V., Berdyugin K.A. Fizicheskaya reabilitatsiya sportstmenov posle travmy peredney krestobraznoy svyazki i meniska kolenogo sustava s primeneniyem balans-treninga (Pod red. Belokrylova N.M.). Ekaterinburg. 2022. 124 s. (in Russian).

10. Radysh I.I. Gendernyye razlichiya otsenki kachestva zhizni do i posle artroskopicheskoy rekonstruktsii peredney krestoobraznoy svyazki. *Tekhnologii zhivyykh sistem*. 2019. T. 16. № 1. S. 44–49. <https://DOI.org/10.18127/j20700997-201901-02> (in Russian).
11. Plachel F., Jung T., Bartek B., Rüttershof K., Perka C., Gwinner C. The subjective knee value is a valid single-item survey to assess knee function in common knee disorders. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*. 2022. V. 142. № 8. P. 1723–1730. <https://DOI.org/10.1007/s00402-021-03794-3>
12. Waldron K., Brown M., Calderon A., Feldman M. Anterior Cruciate Ligament Rehabilitation and Return to Sport: How Fast Is Too Fast? *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*. 2022. V. 4. № 1. P. e175–e179. <https://DOI.org/10.1016/j.asmr.2021.10.027>
13. Gokeler A., Dingenen B., Hewett T.E. Rehabilitation and Return to Sport Testing After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: Where Are We in 2022? *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*. 2022. V. 4. № 1. P. e77–e82. <https://doi.org/10.1016/j.asmr.2021.10.025>
14. Filbay S.R. Early ACL reconstruction is required to prevent additional knee injury: a misconception not supported by high-quality evidence. *British J. Sports Med*. 2019. V. 53. № 8. P. 459–461. <https://DOI.org/10.1136/bjsports-2018-099842>
15. Sonesson S., Gauffin H., Kvist J. Early knee status affects self-reported knee function 1 year after non-surgically treated anterior cruciate ligament injury. *Physical Therapy in Sport*. 2021. V. 50. № 3. P. 173–183. <https://DOI.org/10.1016/j.ptsp.2021.05.007>
16. Monaco E., Iannotti F., Carrozzo A., Annibaldi A., Marzilli F., Nurzia M., Indelli P.F., Ferretti A. Quick Recovery and No Arthrofibrosis in Acute Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: a Prospective Trial of Early versus Delayed Reconstruction. *Muscles, Ligaments and Tendons J*. 2021. V. 11. № 2. P. 324–332. <https://DOI.org/10.32098/mltj.02.2021.16>
17. Kim S.H., Han S., Park Y.-B., Kim D.-H., Lee H.-J., Pujol N. A systematic review comparing the results of early vs delayed ligament surgeries in single anterior cruciate ligament and multiligament knee injuries. *Knee Surgery & Related Research*. 2021. V. 33. № 1. P. 1–19. <https://DOI.org/10.1186/s43019-020-00086-9>
18. Cristiani R., Janarv P.-M., Engström B., Edman G., Forssblad M., Stålmán A. Delayed Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Increases the Risk of Abnormal Preconstruction Laxity, Cartilage, and Medial Meniscus Injuries. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*. 2021. V. 37. № 4. P. 1214–1220. <https://DOI.org/10.1016/j.arthro.2020.11.030>
19. Feye A.P. Effects of different protocols of strength training in postoperative rehabilitation of anterior cruciate ligament: a review. *MOJ Sports Med*. 2018. V. 2. № 2. P. 78–82. <https://DOI.org/10.15406/mojm.2018.02.00051>
20. Badawy Ch.R., Jan K., Beck E.C., Fleet N., Taylor J., Ford K., Waterman B.R. Contemporary Principles for Postoperative Rehabilitation and Return to Sport for Athletes Undergoing Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Arthroscopy, Sports Medicine, and Rehabilitation*. 2022. V. 4. № 1. P. e103–e113. <https://DOI.org/10.1016/j.asmr.2021.11.002>
21. Nelson C., Rajan L., Day J., Hinton R., Bodendorfer B.M. Postoperative Rehabilitation of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Systematic Review. *Sports Med. Arthrosc. Rev*. 2021. V. 29. № 2. P. 63–80. <https://DOI.org/10.1097/JSA.0000000000000314>
22. Beard D.J., Davies L., Cook J.A., Stokes J., Leal J., Fletcher H., Abram S. Rehabilitation versus surgical reconstruction for non-acute anterior cruciate ligament injury (ACL SNNAP): a pragmatic randomised controlled trial. *Lancet*. 2022. V. 400. № 10352. P. 605–615. [https://DOI.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01424-6](https://DOI.org/10.1016/S0140-6736(22)01424-6)
23. Patra S.K., Nanda S.N., Patro B.P., Sahu N.K., Mohnaty Ch.R., Jain M. Early Accelerated versus Delayed Conservative Rehabilitation Protocol after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Prospective Randomized Trial. *Rev. Bras. Ortop*. 2022. V. 57. № 3. P. 429–436. <https://DOI.org/10.1055/s-0042-1748969>
24. Gurfinkel Yu.I., Matskeplishvili S.T., Remizova Yu.A., Pigurenko A.A., Novikov N.D., Kamilov K.I., Tishin A.M. Vliyaniye slabyykh elektromagnitnykh poley na endotelialnuyu funktsiyu molodykh zdorovykh dobrovol'tsev. *Tekhnologii zhivyykh sistem*. 2021. T. 18. № 2. S. 5–14. DOI: <https://DOI.org/10.18127/j20700997-202102-01> (in Russian).
25. Ware J.E., Kosinski M., Grandek B. SF-36 Health Survey: manual and interpretation guide. Lincoln, RI: Quality Metric. 2005. 316 p.
26. Fayers P. M., Machin D. Quality of life: The assessment, analysis and reporting of patient-reported outcomes (3rd ed.). Wiley. 2016. 237 p.
27. Fernandes C.S.E., Lima M.G., Barros M.B.A. Emotional problems and health-related quality of life: population-based study. *Quality of Life Research*. 2019. V. 28. №11. P. 3037–3046. <https://DOI.org/10.1007/s11136-019-02230-9>
28. Hołownia-Voloskova M., Tarbastaev A., Golicki D. Population norms of health-related quality of life in Moscow, Russia: the EQ-5D-5L-based survey. *Quality of Life Research*. 2021. № 30. P. 831–840. <https://DOI.org/10.1007/s11136-020-02705-0>
29. Filbay, S.R., Kvist J. Fear of Reinjury Following Surgical and Nonsurgical Management of Anterior Cruciate Ligament Injury: An Exploratory Analysis of the NACOX Multicenter Longitudinal Cohort Study. *Phys Ther*. 2022. V. 102. №2. P. 273-279. DOI: 10.1093/ptj/pzab273
30. Nambi, G. Abdelbasset W.K., Verma A. Elsayed S.H., Aldhafian O.R. Effects of Postoperative Rehabilitation on Gait Parameters and Electromyography Variables in Acute and Chronic Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Surgery in Football Players. *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021. № 3. P. 1–8. <https://DOI.org/10.1155/2021/9912795>
31. Larose G., Leiter J., Peeler J., McRae Sh., Stranges G., Rollins M., Davidson M., MacDonald P. Quality of life during the wait for ruptured anterior cruciate ligament reconstruction: a randomized controlled trial. *Can. J. Surg*. 2022. V. 12. № 2. P. E269–E274. <https://DOI.org/10.1503/cjs.007820>
32. Joelson A., Nerelius F., Sigmundsson F.G., Karlsson J. The minimal important change for the EQ VAS based on the SF-36 health transition item: observations from 25772 spine surgery procedures. *Quality of Life Research*. 2022. V. 31. № 8. P. 3459–3466. <https://DOI.org/10.1007/s11136-022-03182-3>

Information about the authors

Ivan I. Radysh – Traumatologist-Orthopedist,

Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Medical Rehabilitation,

Sergey V. Zhuravlev – Ph.D. (Med.), Chief Doctor

Ekaterina I. Kruglyanskaya – Traumatologist-orthopedist

Nikita V. Vasilchenko – Post-graduate Student, Department of Normal Physiology of the Medical Institute;

Traumatologist-orthopedist, Department of Traumatology, Orthopedics and medical Rehabilitation

The article was submitted 27.03.2023

Approved after reviewing 03.04.2023

Accepted for publication 17.04.2023

Научная статья
УДК 577.15+612.8.04
DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-08>

Исследование влияния пептидов продуктов пчеловодства на активность пептидил-дипептидазы А в сыворотке крови и нервной ткани крыс в условиях хронического стресса

С.В. Клыченков¹, А.Д. Кручинина²

^{1,2} ФГБОУ ВО Пензенский государственный университет (г. Пенза, Россия)

¹ 79048510599@ya.ru, ² a.d.kruchinina@mail.ru

Аннотация

Постановка проблемы. Установлено, что внутримозговая ренин-ангиотензиновая система, компонентом которой является пептидил-дипептидаза А (ПДПА), играет важную роль в развитии тревожности и ответе организма на стресс. В научной литературе описано большое количество как синтетических, так пептидов природного происхождения, имеющих анксиолитическую активность, в том числе выделенных из продуктов пчеловодства, однако молекулярные механизмы действия многих из них остаются неизвестными.

Цель работы – изучение влияния фракции пептидов массой до 5 кДа, выделенных из маточного молочка, пчелиного мёда и трутневого расплода, на активность ПДПА в условиях хронического стресса, т. е. со сформированным состоянием тревожности.

Результаты. В ходе эксперимента самцы крыс линии Wistar массой 190...210 г опытных и контрольной групп в течение 16 сут. параллельно с моделированием стресса интраназально получали соответствующие водные растворы пептидов перечисленных продуктов пчеловодства в концентрации 300 мкг/кг массы тела, либо 0,9%-ный раствор NaCl соответственно. На 17-е сутки крысы были выведены из эксперимента, а сыворотка крови, гипофиз, гипоталамус, стриатум, гиппокамп, миндалина, четверохолмие и продолговатый мозг были использованы для изучения активности ПДПА. Было установлено, что под действием пептидов трутневого расплода и маточного молочка активность фермента понижается в гипофизе, гипоталамусе, стриатуме, миндалине, четверохолмии и продолговатом мозге и не изменяется в сыворотке крови и гиппокампе. Вероятно, известный до этого анксиолитический эффект пептидов продуктов пчеловодства реализуется за счёт влияния на активность ПДПА, которая вовлечена в регуляцию тревожного поведения.

Практическая значимость. Полученные результаты можно интерпретировать как первоначальные этапы доклинических исследований нового пептидного препарата, обладающего анксиолитической активностью.

Ключевые слова

Пептидил-дипептидаза А, пептиды, маточное молочко, пчелиный мёд, трутневый расплод, АПФ, тревожность, хронический стресс

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-9005.

Для цитирования

Клыченков С.В., Кручинина А.Д. Исследование влияния пептидов продуктов пчеловодства на активность пептидил-дипептидазы А в сыворотке крови и нервной ткани крыс в условиях хронического стресса // Технологии живых систем. 2023. Т. 20. № 2. С. 73–80. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-08>

A brief version in English is given at the end of the article

Введение

Тревожность, одной из причин возникновения которой является хронический стресс, по сегодняшним представлениям способна вызывать нейродегенеративные нарушения в работе различных отделов головного мозга [1], или депрессию, поэтому изучение механизмов развития тревожных заболеваний и путей предотвращения их развития — актуальная задача биохимии и наук о мозге. В развитии тревожности, как и в патогенезе депрессивных состояний, большое значение играет функционирование не только гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), но и многочисленные пептидергические системы [2]. Действие последних регулируется не только за счёт модуляции работы рецепторов нейропептидов, но также и через изменение активности ферментов их процессинга. Установлено, что в головном мозге функционирует обособленная ренин-ангиотензиновая система, которая регулирует не только тонус кровеносных сосудов, обеспечивающих снабжение нервной ткани кислородом, но также вовлечена в регуляцию сложных форм поведения, в том числе задействована в реализации ответа организма на стресс [3]. Экспериментально показано, что пептидил-дипептидаза А (ПДПА) — компонент данной си-

стемы – также участвует и в регуляции работы дофаминергической системы [4], а однонуклеотидные замены в гене этого фермента ассоциированы с развитием депрессии [5]. Это доказывает значимую роль указанного фермента в формировании тревожности, поскольку последняя является одной из причин возникновения депрессии и характеризуется изменениями в балансе нейромедиаторов и нейропептидов [6].

Одним из направлений современной биохимии является изучение биологической активности пептидов, выделенных из различных источников. В аспекте влияния пептидов на развитие тревожности было найдено, что не только классические нейропептиды, такие как окситоцин, нейропептид Y, галанин и другие влияют на степень развития тревожности, но также что гидролизаты пищевых белков растительного и животного происхождения обладают анксиолитическим действием [7]. Предыдущими исследованиями по изучению биологической активности пептидов, выделенных из различных продуктов пчеловодства, было показано, что при интраназальном введении в условиях хронического стресса пептиды маточного молочка снижают уровень тревожности в условиях хронического стресса [8].

Ц е л ь р а б о т ы – изучение анксиолитического действия пептидов продуктов пчеловодства, в частности их влияние на активность ПДПА — одного из ферментов обмена нейропептидов, вовлечённых в развитие тревожности.

Материалы и методы

Выделение и очистка пептидов. Исследование было проведено с использованием пептидов маточного молочка, пчелиного мёда и трутневого расплода, выделенных описанным ранее методом [9]. Если кратко, то водные растворы маточного молочка, пчелиного мёда и водный гомогенат личинок трутневого расплода фильтровали через ультрафильтрационную мембрану с порогом масс 5 кДа; пептиды из фильтра выделяли ионообменной хроматографией на DEAE-целлюлозе и очищали от солей буферных растворов гель-фильтрацией на сефадексе G-25. Полученные водные растворы пептидов в дальнейшем использовались для интраназального введения опытным животным в концентрации 300 мкг/кг массы тела в объёме 8 мкл.

Экспериментальные животные и формирование хронического стресса. Эксперимент был проведён на самцах крыс линии Wistar массой 190...210 г (3 опытных и 1 контрольная группы, $n = 8$). Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде с чередованием периодов дня и ночи по 12 ч каждый (если экспериментом не было предусмотрено иное). Для формирования состояния хронического стресса была использована широко применяемая методика хронического непредсказуемого умеренного стресса, заключающаяся в воздействии на животных случайными стрессовыми факторами в течение длительного периода времени [10]. В данном эксперименте хронический стресс создавался с применением таких факторов, как оставление без воды на 24 ч, нарушение режима день/ночь (свет – 24 ч), содержание в темноте в течение 5 ч в период дня, иммобилизация на 50 мин, помещение клетки на 1D-шейкер (300 rpm), содержание при 4 °С в течение 60 мин, плавание без возможности выбраться из сосуда с водой в течение 5 мин. Каждый день формирования стресса животным опытных групп утром вводился водный раствор соответствующих пептидов продуктов пчеловодства, животным контрольной группы – 0,9%-ный раствор NaCl.

Оценка динамики формирования состояния хронического стресса проводилась при помощи теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» [11]: животные контрольной группы на 1-, 5-, 10- и 15-е сутки формирования стресса помещались в крестообразную опытную установку на 8 мин, после чего проводился анализ их поведения путём замера времени нахождения в открытых и закрытых рукавах установки.

Измерение активности пептидил-дипептидазы А, концентрации белка и статистическая обработка данных. На 17-е сутки животные были выведены из эксперимента с изъятием головного мозга и сыворотки крови. Активность ПДПА в гомогенатах гипофиза, гипоталамуса, стриатума, гиппокампа, миндаля, четверохолмия, продолговатого мозга и сыворотке крови определяли по гидролизу гли-арг от карбоксибензоил-гли-гли-арг [12]. Для этого к 40 мкл гомогената ткани или сыворотки крови добавляли 20 мкл 100 мМ Трис-НСl (рН = 7,6) – опыт, и к 40 мкл пробы добавили 20 мкл 35 мкМ раствора каптоприла в 100 мМ Трис-НСl (рН = 7,6) – контроль. После 8 мин преинкубации при 37 °С к пробам добавляли 10 мкл 5 мМ раствора карбоксибензоил-гли-гли-арг, приготовленного на том же буферном растворе, и инкубировали при 37 °С в течение 120 мин. Реакцию останавливали прибавлением 30 мкл 10%-ного раствора ТХУ; пробы центрифугировали при 4000 об/мин в течение 30 мин, и в 50 мкл надосадоч-

ной жидкости определяли количество гли-арг нингидриновым методом. Концентрацию белка в пробах определяли методом Лоури. Активность фермента определяли как разность в накоплении продукта реакции между опытными и контрольными пробами и выражали в нмоль гли-арг, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мкг белка.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием ПО LibreOffice Calc: рассчитывали средние значения в повторностях, коэффициенты стандартного отклонения и *t*-критерий Стьюдента в качестве показателя достоверности различий между сравниваемыми параметрами.

Результаты и обсуждение

Оценка сформированности тревожности. Динамика изменения поведения крыс контрольной группы в условиях эксперимента представлена на рис. 1.

Данные мониторинга поведения крыс показывают, что за время воздействия стрессовыми факторами у животных статистически достоверно повысился уровень тревожности, так как наблюдаются тенденция к уменьшению времени нахождения крыс в открытых рукавах и соответствующее увеличение времени нахождения в закрытых.

Измерение активности пептидил-дипептидазы А. Уровни активности ПДПА в исследованных образцах представлены на рис. 2. Анализ полученных данных позволяет заключить, что пептиды трутневого расплода и маточного молочка в условиях данного эксперимента статистически достоверно снижают активность фермента в гипофизе, гипоталамусе, стриатуме, амигдале, четверохолмии и продолговатом мозге по сравнению с животными контрольной группы на 46%/54%, 37%/44%, 37%/40%, 53%/56%, 57%/54% и 40%/45% соответственно, однако не влияют на активность фермента в гиппокампе и сыворотке крови.

Снижение активности ПДПА в гипоталамусе и гипофизе, вероятно, уменьшает уровень тревоги экспериментальных животных за счёт модуляции работы ГГНО. Данные о роли ПДПА в функционировании стриатума менее основательны, но поскольку этот фермент участвует в метаболизме мет-энкефалина-арг-фен, а ингибирование ПДПА приводит к усилению активации μ -опиоидных рецепторов, можно заключить, что ПДПА также участвует в формировании баланса дофаминовой системы, изменения в котором наблюдаются при хроническом стрессе и тревоге [13]. Как известно, активация μ -опиоидных рецепторов приводит к анальгезии, эйфории, седации и другим физиологическим эффектам, т.е. эффектам, при слабом проявлении которых будет наблюдаться анксиолитический эффект. Снижение активности ПДПА в четверохолмии и продолговатом мозге может свидетельствовать о снижении напряжения в работе пептидергических систем, в функционирование которых вовлечён данный фермент, что также может говорить об анксиолитическом эффекте за счёт проявления физиологических эффектов.

Четверохолмие – эволюционно древний отдел мозга, выполняющий обработку аудиовизуальных рефлекторных стимулов. Вероятно, при снижении общего уровня стресса и тревоги под действием пептидов продуктов пчеловодства на другие отделы мозга происходит снижение активности четверохолмия, что выражается в снижении активности ПДПА. В продолговатом мозге, по данным научной литературы, этот фермент управляет процессингом ангиотензина II, который центрально влияет на тонус сердечно-сосудистой системы через снижение эфферентной активности блуждающего нерва и регуляцию барорецепторов [14]. Снижение активности ПДПА может уменьшать уровень ангиотензина II в продолговатом мозге, что снижает эффективность вазоконстрикции, опосредованной данными механизмами.

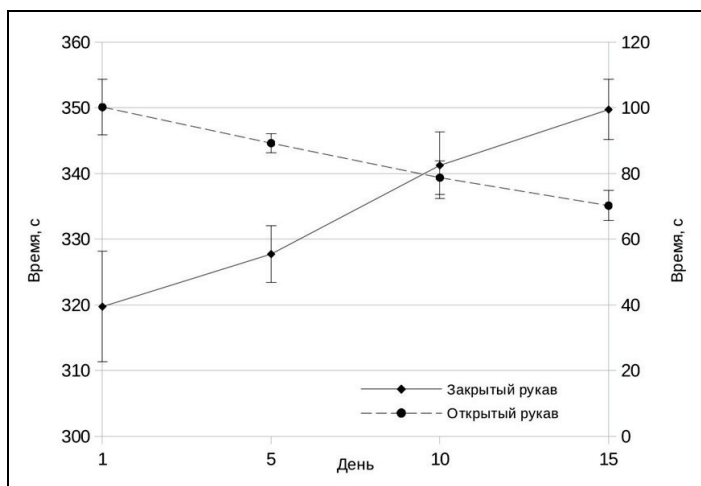


Рис. 1. Динамика изменения времени нахождения животных контрольной группы в течение формирования состояния хронического стресса

Fig. 1. Dynamics of change in the time spent by animals of the control group during chronic stress modeling

control group during chronic stress modeling

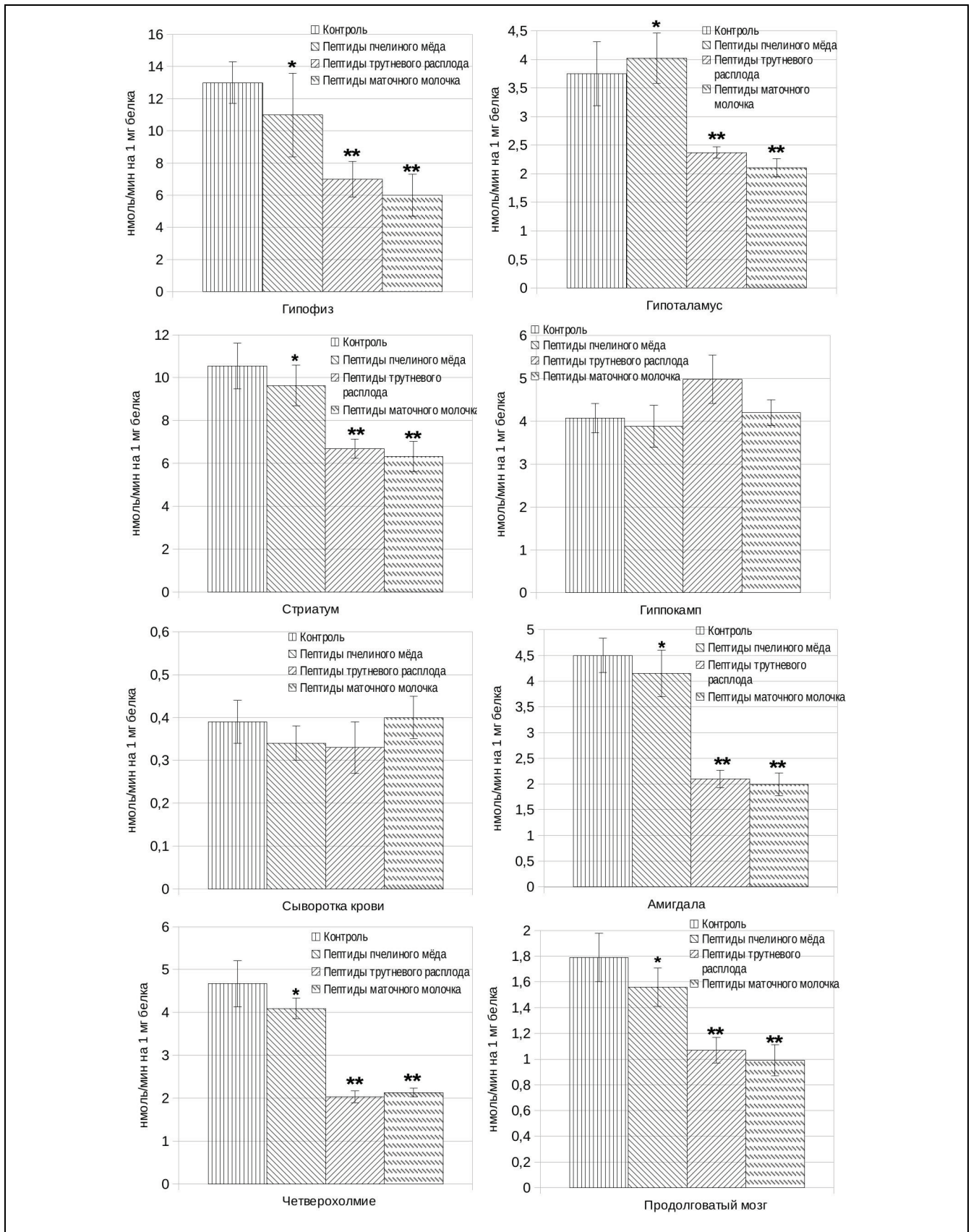


Рис. 2. Уровни активности ПДПА в отделах мозга и сыворотке крови (* или отсутствие символа – $p > 0,05$, ** – $p < 0,05$)
 Fig. 2. Peptidyl dipeptidase A activity levels in brain regions and blood serum (* or no symbol – $p > 0,05$, ** – $p < 0,05$)

Амигдала играет важную роль в формировании страха и тревожности. В базолатеральных ядрах амигдалы имеются ГАМК-ергические нейроны, содержащие холецистокинин, а в центральных ядрах – ГАМК-ергические нейроны с энкефалинами и динорфином. Все перечисленные пептиды являются субстратами для ПДПА, однако субстратное сродство для холецистокинина показано только *in vitro* для формы амидированного октапептида и лёгочной изоформы фермента. То же самое применимо и для энкефалина с динорфином [15], поэтому однозначно сказать о роли ПДПА амигдалы в развитии тревожности нельзя.

Характер изменения активности фермента также позволяет сделать некоторые выводы о фармакокинетики вводимых пептидов. Отсутствие изменения активности ПДПА в сыворотке крови, по всей видимости, свидетельствует, что пептиды не абсорбируются в системный кровоток через слизистые оболочки обонятельной системы крыс, но по системе обонятельных нейронов достигают тканей головного мозга, поскольку изменяют активность фермента там. Действительно, интраназальный ввод пептидных препаратов широко используется для изучения их биологической активности, так как исключает инвазивные воздействия. Вводимые пептиды не подвергаются действию протеаз желудочно-кишечного тракта и сыворотки крови и быстро абсорбируются через обонятельный эпителий [16].

Заключение

Наблюдаемые изменения в уровнях активности ПДПА в различных отделах головного мозга экспериментальных животных позволяют сделать вывод, что, вероятно, анксиолитический эффект пептидов маточного молочка, наблюдаемый ранее, и трутневого расплода реализуется за счёт изменения активности данного фермента. Полученные результаты согласуются с предположением, что повышение активности внутримозговой ренин-ангиотензиновой системы является одной из причин развития тревожности: прямое ингибирование ПДПА нервной ткани приводит к снижению стресса у модельных животных [17, 18], а ввод ангиотензина II повышает его [19].

Список источников

1. Radulovic J., Ivkovic S., Adzic M. From chronic stress and anxiety to neurodegeneration: Focus on neuromodulation of the axon initial segment // Handbook of Clinical Neurology. 2022. V. 184. P. 481–495.
2. Borrow A.P., Stranahan A.M., Suchecki D., Yunes R. Neuroendocrine Regulation of Anxiety: Beyond the Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis // Journal of Neuroendocrinology. 2016. V. 28. Iss. 7.
3. Бобков А.П., Французевич Л.Я., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М. Традиционные и малоизвестные функции ангиотензин-превращающего фермента // Технологии живых систем. 2019. Т. 16. №4. С. 22–34.
4. Buuse van den M., Zheng T.W., Walker L.L., Denton D.A. Angiotensin—converting enzyme (ACE) interacts with dopaminergic mechanisms in the brain to modulate prepulse inhibition in mice // Neuroscience Letters. 2005. V. 380. Iss. 1–2. P. 6–11.
5. Buttenschön H.N., Krogh J., Nielsen M.N., Kaerlev L., Nordentoft M., Mors O. Association analyses of depression and genes in the hypothalamus—pituitary—adrenal axis // Acta Neuropsychiatrica. 2017. V. 29. Iss. 1. P. 59–64.
6. Landgraf R. Neuropeptides and anxiety—related behavior // Endocrine Journal. 2001. V. 48. Iss. 5. P. 517–533.
7. Mizushige T. Neuromodulatory peptides: Orally active anxiolytic—like and antidepressant—like peptides derived from dietary plant proteins // Peptides. 2021. V. 142. P. 170569.
8. Клыченков С.В., Кручинина А.Д. Влияние пептидов продуктов пчеловодства на степень развития ангедонии у крыс в условиях хронического стресса // Научный аспект. 2022. Т. 5. № 5. С. 601–607.
9. Клыченков С.В., Кручинина А.Д. Способ выделения и очистки низкомолекулярных пептидов из продуктов пчеловодства с использованием хроматографических методов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23. № 1. С. 107–115.
10. Lages Y.V.M., Rossi A.D., Krahe T.E., Landeira–Fernandez J. Effect of chronic unpredictable mild stress on the expression profile of serotonin receptors in rats and mice: a meta–analysis // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2021. V. 124. P. 78–88.
11. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
12. Кручинина А.Д. Влияние флуоксетина на активность пептидил-дипептидазы А в сыворотке крови крыс // Современные тенденции развития науки и технологий. 2015. № 2–1. С. 62–64.
13. Trieu B.H., BRemmers B.C., Toddes C., Brandner D.D., Lefevre E.M., Kocharian A., Retzlaff C.L., Dick R.M., Mashal M.A., Gauthier E.A., Xie W., Zhang Y., More S.S., Rothwell P.E. Angiotensin-converting enzyme gates brain circuit-specific plasticity via an endogenous opioid // Science. 2022. V. 375. Iss. 6585. P. 1177–1182.
14. Allen A.M., Chai S.Y., Sexton P.M., Lewis S.J., Verberne A.J., Jarrott B., Louis W.J., Clevers J., McKinley M.J., Paxinos G. Angiotensin II receptors and angiotensin converting enzyme in the medulla oblongata // Hypertension. 1987. V. 9. № 6. P. 198–205.
15. Skidgel R.A., Erdös E.G. The broad substrate specificity of human angiotensin I converting enzyme // Clinical and Experimental Hypertension. Part A: Theory and Practice. 1987. V. 9. Iss. 2–3. P. 243–259.

16. Marwari S., Poulsen A., Shih N., Lakshminarayanan R., Kini R.M., Johannes C.W., Dymock B.W., Dawe G.S. Intranasal administration of a stapled relaxin-3 mimetic has anxiolytic- and antidepressant-like activity in rats // *British Journal of Pharmacology*. 2019. V. 176. P. 3899–3923.
17. Kumaran D., Udayabanu M., Kumar M., Aneja R., Katal A. Involvement of angiotensin converting enzyme in cerebral hypoperfusion induced anterograde memory impairment and cholinergic dysfunction in rats // *Neuroscience*. V. 155. Iss. 3. P. 626–239.
18. Yu Z., Zhao W., Ding L., Yu Y., Liu J. Anxiolytic effects of ACE inhibitory peptides on the behavior of rats in an elevated plus-maze // *Food & Function*. 2016. V. 7. Iss. 1. P. 491–497.

Информация об авторах

Сергей Викторович Клыченков – ст. преподаватель,
кафедра «Общая биология и биохимия»
SPIN-код: 4579-8658

Анастасия Дмитриевна Кручинина – к.б.н., доцент,
кафедра «Общая биология и биохимия»
SPIN-код 4098-3468

Статья поступила в редакцию 27.03.2023

Одобрена после рецензирования 01.04.2023

Принята к публикации 17.04.2023

В Н И М А Н И Е !

В Издательстве «Радиотехника» можно приобрести книгу
Жидкокристаллические дисперсии и наноконструкции ДНК

Под ред. Ю.М. Евдокимова

Обобщены результаты, демонстрирующие многообразие конденсированных форм нуклеиновых кислот (НК), включая их жидкокристаллические структуры. Показано прикладное значение жидкокристаллических дисперсий НК для различных направлений науки и техники, в частности нанотехнологии и биосенсорики.

Для широкого круга специалистов в области молекулярной биологии и биофизики, а также химиков и физиков, занимающихся исследованием биологических структур. Будет полезна преподавателям, аспирантам и студентам биологических и химических вузов.

**По вопросам заказа и приобретения книги обращаться в Издательство «Радиотехника» по адресу:
107031, Москва, К-31, Кузнецкий мост, д. 20/6,
тел./факс: (495) 625-78-72, 621-48-37, 625-92-41
<http://www.radiotec.ru>, e-mail: info@radiotec.ru**

Original article

Effect of bee products peptides on the activity of peptidyl-dipeptidase A in the blood serum and nervous tissue of rats under chronic stress

S.V. Klychenkov¹, A.D. Kruchinina²

^{1,2} Penza State University (Penza, Russia)

¹ 79048510599@ya.ru, ² a.d.kruchinina@mail.ru

Abstract

In the periodic literature, there is a large amount of data on the role of various neurotransmitters, neuropeptides and enzymes of their metabolism in the formation of anxiety and chronic stress. It has been established that the brain renin-angiotensin system, to which peptidyl dipeptidase A belongs, plays an important role in the development of anxiety and the body's response to stress. It is also known that pathological stress and anxiety conditions can lead to the development of depression and even damage to the nervous tissue, so the search for new anxiolytic molecules is a promising study field in biology, since it is often easier to prevent a disease than to eliminate it with the help of pharmacotherapy. Recently, a large number of peptides with anxiolytic activity have been isolated from various raw materials of plant and animal origin, including beekeeping products such as royal jelly and drone brood.

The aim of this study is to find the effect of a fraction of peptides weighing up to 5 kDa, obtained from royal jelly, bee honey and drone brood, on the activity of peptidyl dipeptidase A under chronic stress. Male Wistar rats ($n = 8$) participated in the experiment. Animals were subjected to chronic unpredictable mild stress for 16 days, while simultaneously receiving intranasal aqueous solutions of peptides of royal jelly, drone brood and bee honey at a concentration of 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight. Rats of the control group received 0.9% solution of NaCl. The degree of formation of a chronic anxiety state was determined with the "Elevated plus maze" test: the animals of the control group passed it on the 1st, 5th, 10th and 15th days. On the 17th day, the rats were withdrawn from the experiment, and blood serum, pituitary gland, hypothalamus, striatum, hippocampus, amygdala, quadrigemina, and medulla oblongata were used to study the activity of the enzyme.

It was found that under the influence of peptides of drone brood and royal jelly, the activity of the enzyme decreases in the pituitary gland, hypothalamus, striatum, amygdala, quadrigemina and medulla oblongata and does not change in the blood serum and hippocampus; bee honey peptides do not affect the activity of the enzyme in all parts of the brain and blood serum. Probably, the previously known anxiolytic effect of peptides of bee products is realized due to the influence on the activity of peptidyl dipeptidase A, which is involved in the regulation of anxious behavior.

The results obtained can be interpreted as the initial stages of preclinical studies of a new peptide drug with anxiolytic activity.

Keywords

Peptidyl dipeptidase A, peptides, royal jelly, bee honey, drone brood, ACE, anxiety, chronic stress

For citation

Klychenkov S.V., Kruchinina A.D. Effect of bee products peptides on the activity of peptidyl-dipeptidase A in the blood serum and nervous tissue of rats under chronic stress. *Technologies of Living Systems*. 2023. V. 20. № 2. P. 73–80. DOI: <https://doi.org/10.18127/j20700997-202302-08> (In Russian)

References

1. Radulovic J., Ivkovic S., Adzic M. From chronic stress and anxiety to neurodegeneration: Focus on neuromodulation of the axon initial segment. *Handbook of Clinical Neurology*. 2022. V. 184. P. 481–495.
2. Borrow A.P., Stranahan A.M., Suchecki D., Yunes R. Neuroendocrine Regulation of Anxiety: Beyond the Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis. *Journal of Neuroendocrinology*. 2016. V. 28. Iss. 7.
3. Bobkov A.P., Frantsuzovich L.Ya., Krasnova T.N., Samokhodskaya L.M. Traditsionnyye i maloizvestnyye funktsii angiotenzin-prevrashchayushchego fermenta. *Tekhnologii zhivyykh sistem*. 2019. T. 16. №4. S. 22–34. (in Russian).
4. Buuse van den M., Zheng T.W., Walker L.L., Denton D.A. Angiotensin—converting enzyme (ACE) interacts with dopaminergic mechanisms in the brain to modulate prepulse inhibition in mice. *Neuroscience Letters*. 2005. V. 380. Iss. 1–2. P. 6–11.
5. Buttenschøn H.N., Krogh J., Nielsen M.N., Kaerlev L., Nordentoft M., Mors O. Association analyses of depression and genes in the hypothalamus—pituitary—adrenal axis. *Acta Neuropsychiatrica*. 2017. V. 29. Iss. 1. P. 59–64.
6. Landgraf R. Neuropeptides and anxiety—related behavior. *Endocrine Journal*. 2001. V. 48. Iss. 5. P. 517–533.
7. Mizushige T. Neuromodulatory peptides: Orally active anxiolytic—like and antidepressant—like peptides derived from dietary plant proteins. *Peptides*. 2021. V. 142. P. 170569.
8. Klychenkov S.V., Kruchinina A.D. Vliyaniye peptidov produktov pchelovodstva na stepen razvitiya angedonii u krysa v usloviyakh khronicheskogo stressa. *Nauchnyy aspekt*. 2022. T. 5. № 5. S. 601–607. (in Russian).
9. Klychenkov S.V., Kruchinina A.D. Sposob vydeleniya i ochildki nizkomolekulyarnykh peptidov iz produktov pchelovodstva s ispolzovaniyem khromatograficheskikh metodov. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy*. 2023. T. 23. № 1. S. 107–115. (in Russian).
10. Lages Y.V.M., Rossi A.D., Krahe T.E., Landeira-Fernandez J. Effect of chronic unpredictable mild stress on the expression profile of serotonin receptors in rats and mice: a meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2021. V. 124. P. 78–88.
11. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch. 1. M.: Grif i K. 2012. 944 s. (in Russian).

12. Kruchinina A.D. Vliyaniye fluoksetina na aktivnost peptidil-dipeptidazy A v syvorotke krovi krys. Sovremennyye tendentsii razvitiya nauki i tekhnologiy. 2015. № 2–1. S. 62–64. (in Russian).
13. Trieu B.H., BRemmers B.C., Toddes C., Brandner D.D., Lefevre E.M., Kocharian A., Retzlaff C.L., Dick R.M., Mashal M.A., Gauthier E.A., Xie W., Zhang Y., More S.S., Rothwell P.E. Angiotensin-converting enzyme gates brain circuit-specific plasticity via an endogenous opioid. *Science*. 2022. V. 375. Iss. 6585. P. 1177–1182.
14. Allen A.M., Chai S.Y., Sexton P.M., Lewis S.J., Verberne A.J., Jarrott B., Louis W.J., Clevers J., McKinley M.J., Paxinos G. Angiotensin II receptors and angiotensin converting enzyme in the medulla oblongata. *Hypertension*. 1987. V. 9. № 6. P. 198–205.
15. Skidgel R.A., Erdös E.G. The broad substrate specificity of human angiotensin I converting enzyme. *Clinical and Experimental Hypertension. Part A: Theory and Practice*. 1987. V. 9. Iss. 2–3. P. 243–259.
16. Marwari S., Poulsen A., Shih N., Lakshminarayanan R., Kini R.M., Johannes C.W., Dymock B.W., Dawe G.S. Intranasal administration of a stapled relaxin-3 mimetic has anxiolytic- and antidepressant-like activity in rats. *British Journal of Pharmacology*. 2019. V. 176. P. 3899–3923.
17. Kumaran D., Udayabanu M., Kumar M., Aneja R., Katal A. Involvement of angiotensin converting enzyme in cerebral hypoperfusion induced anterograde memory impairment and cholinergic dysfunction in rats. *Neuroscience*. V. 155. Iss. 3. P. 626–239.
18. Yu Z., Zhao W., Ding L., Yu Y., Liu J. Anxiolytic effects of ACE inhibitory peptides on the behavior of rats in an elevated plus-maze. *Food & Function*. 2016. V. 7. Iss. 1. P. 491–497.

Information about the authors

Sergey V. Klychenkov – Senior Lecturer,

Department of General Biology and Biochemistry

Anastasia D. Kruchinina – Ph.D. (Biol.), Associate Professor,

Department of General Biology and Biochemistry

The article was submitted 27.03.2023

Approved after reviewing 01.04.2023

Accepted for publication 17.04.2023