

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ РНИМУ ИМ. Н. И. ПИРОГОВА

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

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

**РЕДАКТОРЫ** Валентина Гейдебрект, к. б. н.; Надежда Тихомирова

**ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР** Евгений Лукьянов

**ПЕРЕВОДЧИКИ** Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

**ДИЗАЙН И ВЕРСТКА** Марины Дорониной

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**А. В. Гудков**, PhD, DSc (Буффало, США)

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

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

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

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

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

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

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

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

**А. В. Козлов**, MD PhD (Вена, Австрия)

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

**М. А. Лебедев**, PhD (Дарем, США)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Журнал включен в Scopus. CiteScore 2022: 0,6

Журнал включен в WoS. JCR 2021: 0,5

Индекс Хирша (h<sup>2</sup>) журнала по оценке Google Scholar: 8

Scopus<sup>®</sup>

WEB OF SCIENCE™

Google  
scholar

ScImago Journal & Country Rank 2020: 0,14

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 507)

Здесь находится открытый архив журнала

SJR  
Scimago Journal & Country Rank



ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2024-02

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

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

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



Подписано в печать 30.04.2024

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula

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

# BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

## BIOMEDICAL JOURNAL OF PIROGOV RUSSIAN NATIONAL RESEARCH MEDICAL UNIVERSITY

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

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

**EDITORS** Valentina Geidebrekht, PhD; Nadezda Tikhomirova

**TECHNICAL EDITOR** Evgeny Lukyanov

**TRANSLATORS** Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

**DESIGN AND LAYOUT** Marina Doronina

### EDITORIAL BOARD

**Averin VI**, DSc, professor (Minsk, Belarus)

**Alipov NN**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Belousov VV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

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

**Bylova NA**, CSc, docent (Moscow, Russia)

**Gainetdinov RR**, CSc (Saint-Petersburg, Russia)

**Gendlin GYe**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

**Gorbacheva LR**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Gordeev IG**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Gudkov AV**, PhD, DSc (Buffalo, USA)

**Gulyaeva NV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

**Danilenko VN**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Zarubina TV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

**Kagan VE**, professor (Pittsburgh, USA)

**Kzyshkowska YuG**, DSc, professor (Heidelberg, Germany)

**Kobrinskii BA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Kozlov AV**, MD PhD, (Vienna, Austria)

**Kotelevtsev YuV**, CSc (Moscow, Russia)

**Lebedev MA**, PhD (Darem, USA)

**Manturova NE**, DSc (Moscow, Russia)

**Milushkina OYu**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Mitupov ZB**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Moshkovskii SA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

**Negrebetsky VV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Novikov AA**, DSc (Moscow, Russia)

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

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

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

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

**Rebrova OYu**, DSc (Moscow, Russia)

**Rudoy AS**, DSc, professor (Minsk, Belarus)

**Rylova AK**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

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

**Skoblina NA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Slavyanskaya TA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Smirnov VM**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Spallone A**, DSc, professor (Rome, Italy)

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

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

**Suchkov SV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Takhchidi KhP**, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

**Favorova OO**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

**Khazipov RN**, DSc (Marsel, France)

**Chundukova MA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

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

**Yakubovskaya RI**, DSc, professor (Moscow, Russia)

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

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

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

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

Indexed in Scopus. CiteScore 2022: 0.6



Indexed in WoS. JCR 2021: 0.5



Five-year h-index is 8



SCImago Journal & Country Rank 2020: 0.14



Listed in HAC 31.01.2020 (№ 507)



ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)

Open access to archive



Issue DOI: 10.24075/brsmu.2024-02

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

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

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



Approved for print 30.04.2024

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

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

4

Генотипическая характеристика штаммов *Bordetella pertussis* — кандидатов для получения коклюшного компонента вакцинных препаратов (сообщение I)

O. Ю. Борисова, И. Ю. Андриевская, А. С. Пименова, Н. Т. Гадуа, И. А. Чагина, А. Б. Борисова, А. В. Чаплин, И. А. Алексеева, Л. И. Кафарская

Genotypic characteristics of *Bordetella pertussis*, candidate strains for production of pertussis component of vaccines (Statement I)

Borisova OYu, Andrievskaya IYu, Pimenova AS, Gadua NT, Chagina IA, Borisova AB, Chaplin AV, Alekseeva IA, Kafarskaya LI

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

11

Определение оптимальных параметров предварительной обработки данных масс-спектрометрии с прямой ионизацией в нейрохирургии

Д. С. Заворотнюк, А. А. Сорокин, Д. С. Бормотов, В. А. Елиферов, К. В. Бочаров, С. И. Пеков, И. А. Попов

Determining optimal ambient ionization mass spectrometry data pre-processing parameters in neurosurgery

Zavorotnyuk DS, Sorokin AA, Bormotov DS, Eliferov VA, Bocharov KV, Pekov SI, Popov IA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

19

Пространственно-ориентационные параметры узнавания изображений лиц как предикторы симптомов печеночной недостаточности у подростков

В. Б. Никишина, Е. А. Петраш, Е. Я. Энгель, И. А. Симоненко, Е. Д. Шагина

Spatial orientation parameters of face image recognition as predictors of liver failure symptoms in adolescents

Nikishina VB, Petrash EA, Engel EYa, Simonenko IA, Shagina ED

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

29

Протокол междисциплинарного взаимодействия остеопата и стоматолога в процессе ортодонтического лечения

И. А. Аптекарь, Е. В. Абрамова, М. А. Постников, И. С. Колецкий, Д. А. Еремин, Е. М. Постникова, Э. Б. Полуянова, В. И. Аптекарь, И. О. Муравьев

Interdisciplinary approach to orthodontic treatment involving an osteopath and a dentist (protocol)

Aptekar IA, Abramova EV, Postnikov MA, Kopetsky IS, Eremin DA, Postnikova EM, Poluianova EB, Aptekar VI, Muravyov IO

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

36

Лечение гонартроза с применением аутологической обогащенной тромбоцитами плазмы

К. А. Егязарян, М. А. Данилов, Р. М. Абдусаламов

Treatment of gonarthrosis using autologous platelet-rich plasma

Egiazaryan KA, Danilov MA, Abdusalamov RM

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ**

43

Мультидисциплинарный подход к лечению нерезектабельного метастатического поражения печени при люминальном раке молочной железы

К. В. Коломиец, Э. Р. Афашагова, Д. Э. Эрендженова, А. С. Баширова, В. В. Фалчари, Н. Э. Бабаева, А. Д. Алиева, Р. Э. Курмалиева, Ю. Б. Федосеев

Multidisciplinary approach to treatment of unresectable liver metastases seeded by luminal breast carcinoma

Kolomiets KV, Afashagova ZR, Erendzhenova DE, Bashirova AS, Falchari VV, Babayeva NE, Aliyeva AD, Kurmalieva RZ, Fedoseyev YB

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

50

Потенциально неприемлемые назначения лекарственных препаратов у детей в критических состояниях: POPI-критерии в России

А. В. Власова, Т. В. Куличенко, Е. В. Смирнова

Potentially inappropriate prescribing among critically ill children: POPI-criteria in Russia

Vlasova AV, Kulichenko TV, Smirnova EV

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

56

Аминокислотный профиль при сниженном овариальном резерве

А. А. Гависова, М. А. Шевцова, П. О. Львова, Д. А. Бирюкова, М. Х. Ибрагимова, А. В. Новоселова, М. Н. Юшина, В. В. Чаговец, В. Е. Франкевич

Amino acid profile in diminished ovarian reserve

Gavisova AA, Shevtsova MA, Lvova PO, Biryukova DA, Ibragimova MH, Novoselova AV, Yushina MN, Chagovets VV, Frankevich VE

## ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *BORDETELLA PERTUSSIS* — КАНДИДАТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОКЛЮШНОГО КОМПОНЕНТА ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ (СООБЩЕНИЕ I)

О. Ю. Борисова<sup>1,3</sup>✉, И. Ю. Андриевская<sup>1</sup>, А. С. Пименова<sup>1</sup>, Н. Т. Гадуа<sup>1</sup>, И. А. Чагина<sup>1</sup>, А. Б. Борисова<sup>1</sup>, А. В. Чаплин<sup>1,3</sup>, И. А. Алексеева<sup>2</sup>, Л. И. Кафарская<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, Москва, Россия

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

Вакцинация является эффективным средством предупреждения заболевания коклюшной инфекцией. Целью работы было усовершенствование вакцинных препаратов в РФ, в том числе актуализация производственных вакцинных штаммов. Изучали штаммы *B. pertussis*, выделенные в г. Москве, Воронежской, Новосибирской, Ульяновской и Челябинской областях, и восемь производственных штаммов для адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной (АКДС) вакцины. Для генотипирования использовали мультилокусное антигенное сиквенс-типирование (MAST) и полногеномное мультилокусное сиквенс-типирование (wgMLST). Изучены культурально-морфологические, ферментативные, серологические и генотипические свойства штаммов *B. pertussis* — кандидатов в производственные вакцинные штаммы и проведен сравнительный анализ генотипических свойств этих штаммов и производственных вакцинных штаммов *B. pertussis* для вакцины АКДС. Кандидатные штаммы являются представителями четырех генотипов — *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm2*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm9*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-1/fim3-1/prm1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-1/prm2*. Производственные вакцинные штаммы принадлежали к другим шести генотипам: *ptxA2/ptxB1/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB1/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*. С помощью wgMLST установлена принадлежность всех кандидатных штаммов *B. pertussis* к ST2.

**Ключевые слова:** *Bordetella pertussis*, вакцинные препараты, генотипирование, мультилокусное антигенное сиквенс-типирование

**Вклад авторов:** О. Ю. Борисова — молекулярно-генетические исследования, анализ данных, анализ литературы, подготовка рукописи; И. Ю. Андриевская — молекулярно-генетические исследования, анализ данных, подготовка рукописи; А. С. Пименова, Н. Т. Гадуа, И. А. Чагина, И. А. Алексеева — микробиологические исследования, подготовка рукописи; А. Б. Борисова, Л. И. Кафарская — анализ литературы, анализ данных, подготовка рукописи; А. В. Чаплин — биоинформатический и филогенетический анализ, подготовка рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Ольга Юрьевна Борисова  
ул. Адмирала Макарова, д. 10, 125212, г. Москва, Россия; olgborisova@mail.ru

**Статья получена:** 09.04.2024 **Статья принята к печати:** 24.04.2024 **Опубликована онлайн:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.017

## GENOTYPIC CHARACTERISTICS OF *BORDETELLA PERTUSSIS*, CANDIDATE STRAINS FOR PRODUCTION OF PERTUSSIS COMPONENT OF VACCINES (STATEMENT I)

Borisova OYu<sup>1,3</sup>✉, Andrievskaya IYu<sup>1</sup>, Pimenova AS<sup>1</sup>, Gadua NT<sup>1</sup>, Chagina IA<sup>1</sup>, Borisova AB<sup>1</sup>, Chaplin AV<sup>1,3</sup>, Alekseeva IA<sup>2</sup>, Kafarskaya LI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

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

Vaccination is an effective means of preventing pertussis infection. The purpose of this work was to improve vaccines available in the Russian Federation in general and actualize vaccine strains used for the production thereof in particular. We studied *B. pertussis* strains isolated in Moscow, Voronezh, Novosibirsk, Ulyanovsk and Chelyabinsk regions, and eight production strains part of the adsorbed diphtheria-pertussis-tetanus (DPT) vaccine. Multilocus antigenic sequence typing (MAST) and whole genome multilocus sequence typing (wgMLST) were used for genotyping. We studied cultural morphological, enzymatic, serological, and genotypic properties of the candidate *B. pertussis* strains, and compared their genotypic properties to those of *B. pertussis* vaccine strains from the current composition of the DPT vaccine. Candidate strains belong to four genotypes: *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm2*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm9*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-1/fim3-1/prm1* and *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-1/prm2*. Current vaccine strains were from other six genotypes: *ptxA2/ptxB1/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB1/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1* and *ptxA1/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*. With the help of wgMLST, we established affiliation of all candidate strains of *B. pertussis* to ST2.

**Keywords:** *Bordetella pertussis*, vaccines, genotyping, multilocus antigenic sequence typing

**Author contribution:** Borisova OYu — molecular genetic research, data analysis, literature analysis, manuscript authoring; Andrievskaya IYu — molecular genetic research, data analysis, manuscript authoring; Pimenova AS, Gadua NT, Chagina IA, Alekseeva IA — microbiological research, manuscript authoring; Borisova AB, Kafarskaya LI — literature analysis, data analysis, manuscript authoring; Chaplin AV — bioinformatic and phylogenetic analysis, manuscript authoring.

✉ **Correspondence should be addressed:** Olga Yu. Borisova  
Admiral Makarova, 10, 125212, Moscow, Russia; olgborisova@mail.ru

**Received:** 09.04.2024 **Accepted:** 24.04.2024 **Published online:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.017

Коклюшная инфекция является опасным, иногда смертельным заболеванием — в первую очередь, для новорожденных и детей первых месяцев жизни [1–3]. Актуальность исследования коклюша обусловлена ростом случаев заболеваемости, протеканием инфекции в тяжелых клинических формах, особенно у детей до одного

года, а также наличием летальных исходов. В 2023 г. в РФ зарегистрировано 52 727 случаев коклюша (показатель заболеваемости — 36,2 на 100 тыс. населения), что в 16,4 раза выше уровня заболеваемости в 2022 г. (2,2 на 100 тыс. населения), и в 7,5 раз выше среднееголетнего показателя заболеваемости (4,8 на 100 тыс. населения).

Из них более 80% были дети до 14 лет (данные Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией в ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора по анализу формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях») [4–6].

Плановая вакцинация против коклюша, проводимая на первом году жизни ребенка, приводит к выработке у него поствакцинального иммунитета и невосприимчивости к инфекции [1, 3]. К 6–7 годам поствакцинальный иммунитет ослабевает. Поступление в школу связано с новыми контактами в детских коллективах, в которых возможно присутствие инфицированных детей. В таких коллективах наиболее высока вероятность заболевания непривитых, а также детей, утративших поствакцинальный иммунитет (последние, как правило, переносят коклюш в легкой форме с нетипичным кашлем) [7–9]. Показано, что 7–17% случаев продолжительного кашля у подростков связаны с инфекцией *B. pertussis*. По данным разных авторов, именно дети школьного возраста в 75% случаев становятся источниками инфекции *B. pertussis* для детей первого года жизни [9, 10]. Поэтому вакцинация является эффективным средством предупреждения заболевания коклюшной инфекцией у детей и особенно младенцев.

Рост заболеваемости коклюшем вызывает озабоченность специалистов относительно эффективности существующей стратегии профилактики [11, 12]. Наиболее вероятны следующие причины роста заболеваемости коклюшем: большое число случаев отказа родителей от вакцинации своих детей в возрасте до года и, следовательно, запаздывание начала прививок [2, 6]; накопление неиммунных лиц среди детей старших возрастных групп; утрата специфического иммунитета у взрослых [10, 13]; генотипическая изменчивость возбудителя под селективным давлением вакцинации [14–23]; распространение *B. pertussis* бессимптомными носителями [24]. Кроме того, внедрение в широкую практику ПЦР-исследований позволило значительно увеличить число выявленных случаев коклюша, в том числе у лиц с легкими, стертыми формами инфекции, а также при обследовании групповых случаев заболевания в очагах (неопубликованные данные Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией).

Уже более 60 лет для вакцинации используют цельноклеточный коклюшный компонент комбинированной вакцины АКДС. Однако при своей высокой эффективности цельноклеточная вакцина обладает реактогенностью, что в свою очередь предопределило разработку бесклеточных вакцин, введенных в мировую практику здравоохранения со второй половины 1990-х гг. Такие вакцины содержат от 1 до 5 очищенных коклюшных антигенов (коклюшный токсин (РТ), филаментозный геммаглоулин (FHA), пертактин (PRN), фимбрии 2-го и 3-го типа (*Fim2* и *Fim3*)). Тем не менее, вакцинация населения не предотвращает в полной мере распространение коклюша, которое отмечают сейчас во многих странах мира. С 2000-х гг. на фоне широкого применения бесклеточной коклюшной вакцины в странах Европы, Японии, США, Австралии заболеваемость коклюшем стала постепенно расти, отмечались эпидемические вспышки [[https://www.who.int/health-topics/pertussis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/pertussis#tab=tab_1)]. Как считает ряд авторов, существует корреляция между применением бесклеточных вакцин и ростом заболеваемости коклюшем, что поднимает целый ряд вопросов относительно эффективности данных вакцин и их способности контролировать заболеваемость [11, 12, 22, 23].

Многочисленные исследования, проводимые по мониторингу возникновения новых штаммов *B. pertussis*, показали, что появляются штаммы *B. pertussis* с генетическими мутациями, изменяющими структуру протективных антигенов, способные уклоняться от иммунной защиты [14–23]. Мультилокусное антигенное сиквенс-типирование (MAST) основано на изучении изменений в популяции *B. pertussis*. Схема генотипирования включает изучение последовательностей генов, кодирующих протективные антигены, в том числе входящих в состав современных бесклеточных вакцин: *ptxA* (кодирует S1-субъединицу коклюшного токсина), *ptxB* (кодирует S2-субъединицу коклюшного токсина), *ptxC* (кодирует S3-субъединицу коклюшного токсина), *prn* (кодирует адгезивный белок пертактин), *fim2* и *fim3* (кодируют фимбриальные белки *Fim2* и *Fim3* соответственно). Промотор коклюшного токсина *ptxP* также включен для типирования изолятов, поскольку установлено, что аллель *ptxP3* усиливает выработку токсина [25].

На территории РФ используют как цельноклеточную, так и бесклеточные коклюшные вакцины, входящие в состав комбинированных препаратов. Таким образом, целью данного исследования было изучение биологических и генотипических свойств штаммов *B. pertussis*, кандидатов в производственные вакцинные штаммы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках работы Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией в Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора поступают бактериальные штаммы бордетелл и клинические образцы, полученные от больных коклюшем, согласно нормативным документам РФ, для верификации и генотипирования *B. pertussis*. Среди верифицированных штаммов нами было отобрано восемь штаммов *B. pertussis* в I фазе роста (гладкая форма) с хорошими ростовыми свойствами, которые были изучены согласно нормативным документам РФ по морфологическим, культуральным, ферментативным, серологическим и генотипическим свойствам с целью подбора кандидатных штаммов в состав коклюшных вакцин. Одним из критериев отбора было также выделение штаммов *B. pertussis* из различных регионов РФ.

Штаммы *B. pertussis* были выделены от больных коклюшем разного возраста в период 2016–2020 гг. в г. Москве, Воронежской, Новосибирской, Ульяновской и Челябинской областях. Для сравнения использовали восемь вакцинных штаммов из коллекции ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (Москва), используемых в производстве коклюшного компонента АКДС-вакцины (табл. 1).

Культивирование штаммов *B. pertussis* проводили на плотной питательной среде Бордетелагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) в течение 72 ч при + (36–37) °С. Идентификацию микроорганизмов проводили по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам. Культурально-морфологические свойства выросших колоний оценивали с помощью стереоскопического микроскопа SteREO Discovery V12 (Carl Zeiss; Германия) (объектив PlanApo S 1,0 × FWD 60 мм; окуляр Pl 10 × 23 Vg foc). Тинкториальные свойства изучали путем окраски по Граму («ЭКОлаб»; Россия). Окрашенные мазки просматривали с помощью светового микроскопа

Таблица 1. Генотипическая характеристика производственных вакцинных штаммов *B. pertussis*

№	№ перв.	Год, место выделения	Год внедрения в производство	Серovar	<i>ptxA</i>	<i>ptxB</i>	<i>ptxC</i>	<i>ptxP</i>	<i>prn</i>	<i>fim2</i>	<i>fim3</i>
1	305	Россия, 1957	1958	1.2.0	2	1	1	1	1	1	1
2	312	Россия, 1959	1962	1.2.3	2	2	1	2	1	1	1
3	475	Россия, 1966	1967	1.2.3	4	1	1	2	1	1	1
4	267	Россия, 1967	1968	1.0.3	2	1	1	1	1	1	1
5	38	Россия, 1966	1967	1.2.0	2	2	1	1	1	1	1
6	39	Россия, 1970	1980	1.2.3	2	2	1	1	1	1	1
7	345	Россия, 1959	1962	1.2.3	4	2	1	2	1	1	1
8	703	Россия, 1970	1976	1.0.3	1	2	1	1	1	1	1

Axio Scope A1 (объектив EC Plan-NEOFLUAR 100 x 1,3; окуляр PI 10 x 23 Br foc (Carl Zeiss; Германия)).

Идентификацию штаммов *B. pertussis* по биохимическим свойствам проводили согласно нормативным документам [26].

Антигенную структуру (серотипы) штаммов оценивали в развернутой реакции агглютинации с использованием сывороток коклюшных к агглютиногенам 1,2,3, адсорбированных для реакции агглютинации (PA) сухих («НПО Микроген»; Россия).

Было проведено полногеномное секвенирование восьми производственных штаммов *B. pertussis*, используемых для производства коклюшного компонента АКДС-вакцины в настоящее время, и восьми штаммов *B. pertussis*, выбранных по микробиологическим и ростовым характеристикам как кандидатные. Генотипирование штаммов *B. pertussis* проводили по двум схемам: с использованием MAST путем анализа последовательности генов, кодирующих протективные антигены возбудителя — *ptxA*, *ptxB*, *ptxC*, *ptxP*, *prn*, *fim2* и *fim3*, согласно опубликованной рекомендацией [27] с использованием баз данных GenBank и BIGSdb, и полногеномного мультилокусного сиквенс-типирования (wgMLST).

Выделение геномной ДНК из бактериальной культуры проводили с использованием набора «ExtractDNA Blood&Cells» («Евроген»; Россия). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе GenoLab (GeneMind Biosciences; Китай) с использованием наборов «SG GM» (Raissol; Россия) согласно рекомендациям производителя. Сборку осуществляли с помощью SPAdes-3.15.4, проверку качества сборки — с использованием QUAST 5.2.0 (<https://github.com/ablab/quast>; Россия). Выявление аллелей интересующих генов проводили на сервере BIGSdb. В качестве сравнения полученных нуклеотидных последовательностей при MAST использовали следующие номера референсных генов: ген *ptxA* (*ptxA1* (AJ245366), *ptxA2* (AJ245367), *ptxA4* (AJ245368)); ген *ptxB* (HM185483.1) (*ptxB1*, *ptxB2*); ген *ptxC* (AJ420987) (*ptxC1* (M13223), *ptxC2* (AJ420987)); промотор коклюшного токсина *ptxP* (*ptxP1* (FN252323.1), *ptxP2* (FN252322.1), *ptxP3* (FN252324.1)); ген *fim2* (*fim2-1* (KT194049), *fim2-2* (AJ420988)); ген *fim3* (*fim3-1* (X51543.1) и *fim3-2* (AY464180.1)); ген *prn* (*prn1* (AJ011091.1), *prn2* (AJ011092.1), *prn9* (AJ315611.1)). Для построения дерева на основе полногеномного мультилокусного сиквенс-типирования (wgMLST) поиск аллелей осуществляли программным обеспечением ruMLST 2.1.65 (<https://github.com/bvalot/pyMLST/>; Франция). В качестве штаммов сравнения использовали все полные геномы штаммов сиквенс-типа ST2, доступные в публичной базе данных NCBI Refseq, а также штамм Tohama I,

относящийся к ST1, в качестве внешнего представителя. Для каждого штамма составляли аллельный профиль на основе последовательностей 2974 генов, после чего считали матрицу дистанций, отражающую количество несовпадающих аллелей между штаммами. На основе матрицы дистанций осуществляли построение дерева по алгоритму Neighbor-Joining в программном обеспечении rapidNJ 2.3.2 (<https://github.com/somme89/rapidNJ>; Дания).

Из описанного выше дерева были взяты две клады, одна из которых состояла целиком из штаммов-кандидатов, описанных в данной работе, а другая включала в себя штамм 3–20 и пять штаммов сравнения. Для этих штаммов (а также Tohama I в качестве внешнего представителя) были взяты последовательности всех 2974 исследуемых генов, конкатенированы и использованы для построения дерева по алгоритму Neighbor-Joining с использованием модели дистанций Кимуры. Данный подход был применен для оценки уровней поддержки bootstrap в описанных выше кладах предыдущего дерева.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При культивировании на Бордетелагаре через 72 ч роста все восемь исследуемых штаммов *B. pertussis* вырастали в виде выпуклых круглых блестящих гладких колоний серовато-белого цвета размером до 1,5 мм, имели маслянистую консистенцию и легко снимались петлей. При просмотре в стереоскопическом микроскопе SteREO Discovery V12c объективом PlanApo S 1,0 x FWD 60 мм; окуляром PI 10 x 23 Br foc (Carl Zeiss; Германия) отмечали узкий луч света («хвостик»), отходящий от центра колонии. При микроскопии идентифицировали мелкие хаотично расположенные грамотрицательные палочки. Все исследуемые штаммы *B. pertussis* обладали каталазной и оксидазной активностью, не росли на кровяном и мясо-пептонном агаре, не продуцировали ферменты тирозиназу и уреазу, не росли на цитратном агаре Симмонса, не редуцировали нитраты в нитриты, не обладали подвижностью. При изучении антигенной структуры все исследуемые штаммы *B. pertussis* характеризовались присутствием агглютиногена 1 (видовой признак) и агглютинировались адсорбированными типоспецифическими сыворотками к агглютиногенам 1,2,3 не ниже 1 : 280. Производственные вакцинные штаммы относились к трем разным серотипам — 1.2.0, 1.0.3 и 1.2.3, штаммы-кандидаты к двум серотипам — 1.0.3 и 1.2.0 (табл. 1, 2).

По последовательности гена *ptxA*, кодирующего S1-субъединицу коклюшного токсина, большинство производственных вакцинных штаммов *B. pertussis* соответствуют двум аллелям гена *ptxA* — *ptxA4* и *ptxA2*, и

Таблица 2. Генотипическая характеристика штаммов *B. pertussis* — кандидатов в вакцинные препараты

№	№ шт	Год выделения	Серотип	<i>ptxA</i>	<i>ptxB</i>	<i>ptxC</i>	<i>ptxP</i>	<i>prn</i>	<i>fim2</i>	<i>fim3</i>
1	16–16	2016	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
2	31–2–17	2017	1.0.3	1	2	2	3	9	2	2
3	25–16	2016	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
4	37–18	2018	1.2.0	1	2	2	3	2	2	1
5	30–18	2018	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
6	1–20	2020	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
7	2–20	2020	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
8	3–20	2020	1.2.0	1	2	2	3	2	2	1

только один производственный штамм *B. pertussis*, как и все современные кандидатные штаммы *B. pertussis* имеет *ptxA1* аллель. Аллель *ptxA1* отличается от других аллелей значимыми мутационными изменениями с заменой на аминокислотном уровне в Т-эпитопе S1-субъединицы коклюшного токсина (положения 204, 586, 668 и 969 нуклеотидной последовательности), имеющем непрерывную иммунодоминантную структуру, распознаваемую моноклональными (МкАТ) протективными m-антителами (mАТ). Аллель *ptxA1* отличается от аллеля *ptxA4* в положениях D68E, I228M и I232V и отличается от аллеля *ptxA2* в положении I228M [12, 27].

По последовательности гена *ptxB*, кодирующего S2-субъединицу коклюшного токсина, три производственных вакцинных штамма *B. pertussis* соответствуют аллелю *ptxB1* гена, большинство производственных штаммов (пять штаммов) и все современные кандидатные штаммы *B. pertussis* имеют аллель *ptxB2*. Аллель *ptxB1* отличается от аллеля *ptxB2* изменением G18S в S2-субъединице коклюшного токсина.

При изучении фрагментов гена *ptxC*, кодирующего S3-субъединицу В-комплекса коклюшного токсина, выявлены штаммы двух вариантов последовательности нуклеотидов — *ptxC1* и *ptxC2*. Все производственные вакцинные штаммы *B. pertussis* несли аллель *ptxC1*, в то время как все современные штаммы — кандидаты *B. pertussis* несли аллель *ptxC2*, который отличается от аллеля *ptxC1* заменой нуклеотида в положении C681T без изменений на аминокислотном уровне.

Хотя промотор коклюшного токсина *ptxP* не входит в компоненты бесклеточной вакцины, его обычно используют при типировании штаммов в качестве маркера возникшей генетической линии, которая распространилась по всему миру [14–23, 27]. Изучение последовательности промоторной области *ptxP* коклюшного токсина показало, что у изученных штаммов присутствуют три аллеля *ptxP* — *ptxP1*, *ptxP2* и *ptxP3*. Пять производственных вакцинных штаммов *B. pertussis* несли аллель *ptxP1* и три производственных штамма — аллель *ptxP2*. Все кандидатные штаммы *B. pertussis* имели аллель *ptxP3*. Аллель *ptxP3* отличается от *ptxP1* и *ptxP2* мутацией в положении –65 нуклеотидной последовательности, что обеспечивает повышенную прочность связывания с димером BvgA, приводящую к увеличению продукции коклюшного токсина [25].

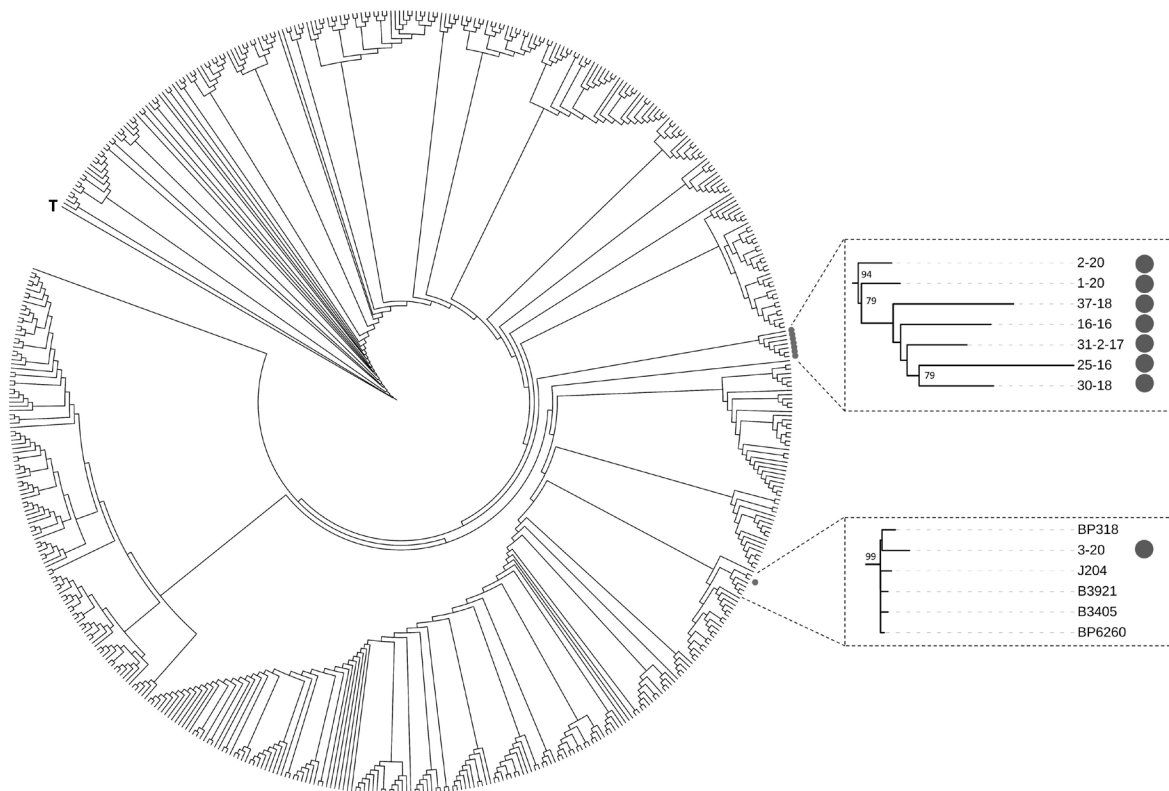
При секвенировании гена *fim3*, кодирующего фимбриальный белок *Fim3*, идентифицировано два варианта нуклеотидной последовательности — *fim3-1* и *fim3-2*. У всех производственных вакцинных штаммов идентифицирован одинаковый аллель *fim3-1*, среди кандидатных штаммов *B. pertussis* у большинства штаммов (шесть штаммов) выявлен аллель *fim3-2* и у двух штаммов —

*fim3-1*. Последовательность нуклеотидов аллеля *fim3-2* отличается от последовательности нуклеотидов аллеля *fim3-1* значимой мутацией, которая сопровождается изменениями на аминокислотном уровне A87E в молекуле белка *Fim3*.

При секвенировании гена *fim2*, кодирующего фимбриальный белок *Fim2*, идентифицировано два варианта нуклеотидной последовательности: *fim2-1* и *fim2-2*. У всех производственных вакцинных штаммов выявлен одинаковый аллель *fim2-1*, у всех кандидатных штаммов *B. pertussis* — *fim2-2*. Выявленные аллельные варианты *fim2-1* и *fim2-2* различались изменениями R174K в молекуле белка *Fim2*.

Ген *prn* содержит около 2800 оснований, которые кодируют крупный адгезивный белок предшественник — 5'-конец гена кодирует часть предшественника пертактина, которая экспортируется из клетки, в то время как 3'-конец кодирует интегральный белок внешней мембраны, необходимый для этого экспорта. При секвенировании гена пертактина (*prn*) у изученных штаммов *B. pertussis* выявлено три варианта аллелей гена *prn* — *prn1*, *prn2* и *prn9*. Среди производственных вакцинных штаммов идентифицирован аллель *prn1*. У кандидатных штаммов *B. pertussis* идентифицированы *prn2* (у семи штаммов) и *prn9* (у одного штамма). Последовательности нуклеотидов аллелей *prn2* и *prn9* отличаются от последовательности у аллеля *prn1* наличием значимых мутационных изменений в шести положениях (828, 831, 832, 833, 834 и 836) нуклеотидной последовательности гена *prn* с заменами на аминокислотном уровне — V279G и A278F. Последовательность нуклеотидов аллеля *prn2* имеет вставку дополнительного фрагмента в 15 п.н. — GGCGGCCTCGGTCCC в 1-й области гена в положениях 841–855, а *prn9* аллель гена — дополнительный фрагмент в 30 п.н. — GGCGGCCTCGGTCCCGCGGCCTCGGTCCC в 1-й области гена в положениях 841–871. Все изменения в *prn2* и *prn9* аллелях произошли в 1-й и 2-й областях *Prn* белка, которые иммуногенны и участвуют в формировании В-клеточного иммунного ответа.

В результате проведенного исследования выявлено, что все производственные вакцинные штаммы принадлежали к шести генотипам — *ptxA2/ptxB1/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA4/ptxB1/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA4/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prn1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prn1* (табл. 1). Кандидатные штаммы являются представителями четырех генотипов — *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prn2*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prn9*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-1/fim3-1/prn1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-1/prn2* (табл. 2).



**Рис.** Филогенетическое дерево бактерий сиквенса-типа ST2, построенное на основании полногеномного MLST. Штаммы — кандидаты в вакцинные препараты отмечены серыми точками. Участки дерева, содержащие данные штаммы, представлены рядом в увеличенном виде, в узлах отмечены уровни поддержки bootstrap (отображены только значения выше 70). На кольцевой диаграмме не отображены длины ветвей из-за наличия отдельных штаммов с аномально длинными ветвями. Буква Т обозначает штамм Tohama I, использованный в качестве внешнего представителя

На основании последовательностей полных геномов кандидатных штаммов было реконструировано филогенетическое дерево, отражающее эволюционное положение исследованных штаммов-кандидатов среди всех представителей сиквенса-типа ST2 (рисунок). Установлено, что все из них, кроме одного, формируют единый близкородственный кластер, по-видимому, характерный для территории РФ.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Все полученные в ходе исследования геномные последовательности штаммов *B. pertussis* включены в Национальный каталог на базе ФБУН ГНЦПМБ Роспотребнадзора в рамках федерального проекта «Санитарный щит страны — безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)».

При многолетнем мониторинге генотипических свойств *B. pertussis* установлено, что за период более чем 60-летней плановой иммунизации детского населения в популяции штаммов возбудителя коклюша распространяются штаммы с новыми генотипами (аллельными профилями) [14–16], что полностью соответствует общемировой тенденции изменения структуры генов протективных антигенов *B. pertussis* [18–23]. Исследования, проводимые в разных странах мира, также показали генотипические различия между штаммами, используемыми для производства вакцинных препаратов, и циркулирующей популяцией возбудителя коклюша [11, 18–23, 28, 29].

В нашем исследовании охарактеризованы и предложены в качестве кандидатных восемь штаммов *B. pertussis*, относящихся к четырем разным генотипам, отличающихся от генотипов производственных вакцинных штаммов,

используемых для получения АКДС-вакцины в настоящее время. Для включения штаммов-кандидатов *B. pertussis* в состав банка производственных вакцинных штаммов в дальнейшем будут изучены их иммунобиологические свойства с определением гемагглютинирующей, гемолитической и лейкоцитозстимулирующей активностей, вирулентности и токсичности на животных, а также проведено депонирование в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов («ГКПМ-Оболенск»).

В связи с тем что изменения циркулирующих штаммов *B. pertussis* идут непрерывно, мониторинг генетических свойств штаммов должен проходить постоянно, что дает возможность оценивать влияние бактериальных изменений на эффективность вакцины. Следует продолжить проведение исследований по изучению генотипа циркулирующих штаммов *B. pertussis* и особенностей формирования в современных условиях постинфекционного и поствакцинального иммунного ответа — для обоснованной оценки адекватности используемых цельноклеточных и бесклеточных коклюшных вакцин как средства профилактики коклюшной инфекции. Для оценки протективности производимых вакцин необходимы также модельные опыты на животных с использованием штаммов *B. pertussis* современных генотипов.

#### ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования подобраны штаммы *B. pertussis* в качестве кандидатов для производства коклюшных вакцин с оценкой ростовых, культурально-морфологических и генотипических свойств.



## Литература

- Петрова М. С., Попова О. П., Борисова О. Ю., Абрамова Е. Н., Вартамян Р. В., Келли Е. И. Коклюш у детей раннего возраста. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 6: 19–24. DOI: 10.17816/EID40704.
- Бабаченко И. В., Нестерова Ю. В., Чернышова Ю. Ю., Карасев В. В., Починяева Л. М., Калисникова Е. Л. Клинико-эпидемиологические аспекты коклюша у детей в условиях массовой вакцинопрофилактики. Журнал инфектологии. 2019; 11 (2): 88–96. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-2-88-96.
- Краснов В. В., Ильянчиков К. Ф., Павлович Л. Р., Кузмичева М. В. Коклюш у детей первого года жизни. Детские инфекции. 2018; 1 (1): 12–17. DOI: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-12-17.
- Об организации проведения внешнего контроля качества исследований по диагностике дифтерии и коклюша в 2024 году в Дальневосточном и Уральском федеральных округах. Информационное письмо № 02/1860-2024-27 от 06.02.2024. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).
- Басов А. А., Высочанская С. О., Цвиркун О. В., Белова Т. Р., Адугозелов С. Э., и др. Критерии оценки эпидемиологической ситуации по коклюшу в Российской Федерации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2024; 23 (2): 4–13. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13.
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022; 340 с.
- Нестерова Ю. В., Медкова А. Ю., Бабаченко И. В., Семин Е. Г., Калисникова Е. Л., Синяшина Л. Н. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. Журнал инфектологии. 2019; 11 (1): 17–24. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24.
- Philipson K, Goodyear-Smith F, Grant CC, Chong A, Turner N, Stewart J. When is acute persistent cough in school-age children and adults whooping cough? British Journal of General Practice. 2013; 63 (613): 573–9. DOI: 10.3399/bjgp13X670705.
- Пименова А. С., Борисова О. Ю., Цвиркун О. В., Басов А. А., Алешкин В. А., Афанасьев С. С., и др. Эффективность применения молекулярно-генетической диагностики при обследовании очагов коклюшной инфекции. Инфекция и иммунитет. 2017; 7 (2): 162–70. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-2-162-170.
- Скирда Т. А., Борисова О. Ю., Петрова М. С., Борисова А. Б. Серологическая диагностика коклюша у лиц старшего возраста. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (8): 492–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-8-492-495.
- Esposito S, Stefanelli P, Fry NK, Fedele G, He Q, Paterson P, et al. Pertussis prevention: reasons for resurgence, and differences in the current acellular pertussis vaccines. Frontiers in Immunology. 2019; 10: 1344. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01344.
- Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation — two sides of the same coin. Epidemiol Infect. 2014; 142 (4): 685–94. DOI: 10.1017/S0950268813000071.
- Скирда Т. А., Борисова О. Ю., Борисова А. Б., Комбарова С. Ю., Пименова А. С., Гадуа Н. Т., и др. Определение противокклюшных антител у школьников с длительным кашлем. Журнал инфектологии. 2023; 15 (1): 93–100. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-93-100.
- Борисова О. Ю., Гадуа Н. Т., Пименова А. С., Петрова М. С., Попова О. П., Алешкин В. А., и др. Структура популяции штаммов возбудителя коклюша на территории России. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 4: 22–28. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-22-28.
- Андреевская И. Ю., Борисова О. Ю., Пименова А. С., Борисова А. Б., Гадуа Н. Т., Чагина И. А. Генотипирование возбудителя коклюша из клинических образцов. Материалы XVI Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского к 300-летию Российской академии наук, Москва, 25–27 марта 2024 г. М.: Медицинское маркетинговое агентство, 2024; 250 с: 19–20. ISBN 978-5-6048391-2-6.
- Андреевская И. Ю., Пименова А. С., Гадуа Н. Т., Чагина И. А., Борисова О. Ю. Аллельное типирование *ptxP* *Bordetella pertussis* в клинических образцах. Материалы конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2024», Москва, 16 – 17 апреля 2024 г. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2024; 266 с.: 36. DOI: 10.36233/978-5-6048873-9-4.
- Kentaro K, ShuMan Y, Chuen-Sheue C, Phung TBT, Do TTN, et al. Genotyping and macrolide-resistant mutation of *Bordetella pertussis* in East and South-East Asia. J Glob Antimicrob Resist. 2022; 31: 263–9. DOI: 10.1016/j.jgar.2022.10.007.
- Barkoff AM, Mertsola J, Pierard D, Dalby T, Hoegh SV, Guillot S, et al. Surveillance of Circulating *Bordetella pertussis* Strains in Europe during 1998 to 2015. J Clin Microbiol. 2018; 56 (5): e01998-17. DOI: 10.1128/JCM.01998-17.
- Moosa F, du Plessis M, Weigand MR, Peng Y, Mogale D, de Gouveia L, et al. Genomic characterization of *Bordetella pertussis* in South Africa, 2015–2019. Microb Genom. 2023; 9 (12): 001162. DOI: 10.1099/mgen.0.001162.
- Fu P, Zhou J, Yang C, Nijati Y, Zhou L, Yan G, et al. Molecular Evolution and Increasing Macrolide Resistance of *Bordetella pertussis*, Shanghai, China, 2016–2022. Emerg Infect Dis. 2023; 30 (1): 29–38. DOI: 10.3201/eid3001.221588.
- Weigand MR, Williams MM, Peng Y, Kania D, Pawloski LC, Tondella ML. Genomic Survey of *Bordetella pertussis* Diversity, United States, 2000–2013. Emerg Infect Dis. 2019; 25 (4): 780–3. DOI: 10.3201/eid2504.180812.
- Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, et al. *Bordetella pertussis* population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. Microb Genom. 2018; 4 (5): 000180. DOI: 10.1099/mgen.0.000180.
- Mir-Cros A, Moreno-Mingorance A, Martín-Gómez MT, Codina G, Cornejo-Sánchez T, Rajadell M, et al. Population dynamics and antigenic drift of *Bordetella pertussis* following whole cell vaccine replacement, Barcelona, Spain, 1986–2015. Emerg Microbes Infect. 2019; 8 (1): 1711–20. DOI: 10.1080/22221751.2019.1694395.
- Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of *Bordetella pertussis*. BMC Med. 2015; 13: 146. DOI: 10.1186/s12916-015-0382-8.
- Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, He Q, Bart MJ, Heuvelman KJ, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (8): 1206–13. DOI: 10.3201/eid1508.081511.
- Методические указания «Лабораторная диагностика коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами». МУК 4.2.3701-21. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2021.
- Mooi FR, Hallander H, Wirsing von König CH, Hoet B, Guiso N. Epidemiological Typing of *Bordetella pertussis* Isolates: Recommendations for a Standard Methodology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000; 19: 174–81.
- Gordana D, Teemu K, Annika E, Pjesa T, Vignjevic-Krastavcevic M, He Q. *Bordetella pertussis* vaccine strains and circulating isolates in Serbia Vaccine. 2010; 28 (5): 1188–92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.036.
- Alai S, Ghattargi VC, Gautam M, Patel K, Pawar SP, Dhotre DP, et al. Comparative genomics of whole-cell pertussis vaccine strains from India. BMC Genomics. 2020; 21 (1): 345. DOI: 10.1186/s12864-020-6724-8.

## References

- Petrova MS, Popova OP, Borisova OYu, Abramova EN, Vartanjan RV, Kelli EI. Kokljush u detej rannego vozrasta. Jepidemiologija i infekcionnye bolezni. 2012; 6: 19–24. DOI: 10.17816/EID40704. Russian.
- Babachenko IV, Nesterova YuV, Chernyshova YuYu, Karasev VV, Pochinjaeva LM, Kalisnikova EL. Kliniko-jepidemiologicheskie aspekty kokljusha u detej v uslovijah massovoj vakcinoprofilaktiki. Zhurnal infektologii. 2019; 11 (2): 88–96. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-2-88-96. Russian.
- Krasnov VV, Iljanenkov KF, Pavlovich LR, Kuzmicheva MV. Kokljush u detej pervogo goda zhizni. Detskie infekcii. 2018; 1 (1): 12–17. DOI: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-12-17. Russian.
- Ob organizacii provedenija vneshnego kontrolja kachestva issledovanij po diagnostike differii i kokljusha v 2024 godu v Dal'nevostochnom i Ural'skom federal'nyh okrugah. Informacionnoe pis'mo # 02/1860-2024-27 ot 06.02.2024. Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka (Rospotrebnadzor). Russian.
- Basov AA, Vysochanskaja SO, Cvirkun OV, Belova TR, Adujuzelov SYe, i dr. Kriterii ocenki jepidemiologicheskoj situacii po kokljushu v Rossijskoj Federacii. Jepidemiologija i vakcinoprofilaktika. 2024; 23 (2): 4–13. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13. Russian.
- O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija v Rossijskoj Federacii v 2021 godu: Gosudarstvennyj doklad. M.: Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka, 2022; 340 s. Russian.
- Nesterova YuV, Medkova AYu, Babachenko IV, Semin EG, Kalisnikova EL, Sinjashina LN. Kliniko-diagnosticheskoe znachenie geniticheskih markerov Bordetella pertussis u kontaktnyh lic v semejnnyh ochagah. Zhurnal infektologii. 2019; 11 (1): 17–24. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24. Russian.
- Philipson K, Goodyear-Smith F, Grant CC, Chong A, Turner N, Stewart J. When is acute persistent cough in school-age children and adults whooping cough? British Journal of General Practice. 2013; 63 (613): 573–9. DOI: 10.3399/bjgp13X670705.
- Pimenova AS, Borisova OYu, Cvirkun OV, Basov AA, Aleshkin VA, Afanasev SS, i dr. Jeffektivnost' primenenija molekularno-geniticheskoj diagnostiki pri obsledovanii ochagov kokljushnoj infekcii. Infekcija i immunitet. 2017; 7 (2): 162–70. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-2-162-170. Russian.
- Skirda TA, Borisova OYu, Petrova MS, Borisova AB. Serologicheskaja diagnostika kokljusha u lic starshego vozrasta. Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. 2020; 65 (8): 492–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-8-492-495. Russian.
- Esposito S, Stefanelli P, Fry NK, Fedele G, He Q, Paterson P, et al. Pertussis prevention: reasons for resurgence, and differences in the current acellular pertussis vaccines. Frontiers in Immunology. 2019; 10: 1344. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01344.
- Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation — two sides of the same coin. Epidemiol Infect. 2014; 142 (4): 685–94. DOI: 10.1017/S0950268813000071.
- Skirda TA, Borisova OJu, Borisova AB, Kombarova SJu, Pimenova AS, Gadua NT, i dr. Opredelenie protivokokljushnyh antitel u shkol'nikov s dlitel'nym kashlem. Zhurnal infektologii. 2023; 15 (1): 93–100. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-93-100. Russian.
- Borisova OYu, Gadua NT, Pimenova AS, Petrova MS, Popova OP, Aleshkin VA, i dr. Struktura populjacii shtammov vzbuditelja kokljusha na territorii Rossii. Jepidemiologija i vakcinoprofilaktika. 2016; 4: 22–28. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-22-28. Russian.
- Andrievskaja IYu, Borisova OYu, Pimenova AS, Borisova AB, Gadua NT, Chagina IA. Genotipirovanie vzbuditelja kokljusha iz klinicheskikh obrazcov. Materialy XVI Ezhegodnogo Vserossijskogo kongressa po infekcionnym boleznyam imeni akademika V.I. Pokrovskogo k 300-letiju Rossijskoj akademii nauk, Moskva, 25–27 marta 2024 g. M.: Medicinskoje Marketingovoe agentstvo, 2024; 250 s.: 19–20. ISBN 978-5-6048391-2-6. Russian.
- Andrievskaja IYu, Pimenova AS, Gadua NT, Chagina IA, Borisova OYu. Allel'noe tipirovanie ptxP Bordetella pertussis v klinicheskikh obrazcah. Materialy kongressa s mezhdunarodnym uchastiem «Molekuljarnaja diagnostika i biobezopasnost' — 2024», Moskva, 16–17 aprelja 2024 g. M.: FBUN CNII Jepidemiologii Rospotrebnadzora, 2024; 266 s.: 36. DOI: 10.36233/978-5-6048873-9-4. Russian.
- Kentaro K, ShuMan Y, Chuen-Sheue C, Phung TBT, Do TTN, et al. Genotyping and macrolide-resistant mutation of Bordetella pertussis in East and South-East Asia. J Glob Antimicrob Resist. 2022; 31: 263–9. DOI: 10.1016/j.jgar.2022.10.007.
- Barkoff AM, Mertsola J, Pierard D, Dalby T, Hoegh SV, Guillot S, et al. Surveillance of Circulating Bordetella pertussis Strains in Europe during 1998 to 2015. J Clin Microbiol. 2018; 56 (5): e01998-17. DOI: 10.1128/JCM.01998-17.
- Moosa F, du Plessis M, Weigand MR, Peng Y, Mogale D, de Gouveia L, et al. Genomic characterization of Bordetella pertussis in South Africa, 2015–2019. Microb Genom. 2023; 9 (12): 001162. DOI: 10.1099/mgen.0.001162.
- Fu P, Zhou J, Yang C, Nijjati Y, Zhou L, Yan G, et al. Molecular Evolution and Increasing Macrolide Resistance of Bordetella pertussis, Shanghai, China, 2016–2022. Emerg Infect Dis. 2023; 30 (1): 29–38. DOI: 10.3201/eid3001.221588.
- Weigand MR, Williams MM, Peng Y, Kania D, Pawloski LC, Tondella ML. Genomic Survey of Bordetella pertussis Diversity, United States, 2000–2013. Emerg Infect Dis. 2019; 25 (4): 780–3. DOI: 10.3201/eid2504.180812.
- Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, et al. Bordetella pertussis population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. Microb Genom. 2018; 4 (5): 000180. DOI: 10.1099/mgen.0.000180.
- Mir-Cros A, Moreno-Mingorance A, Martín-Gómez MT, Codina G, Cornejo-Sánchez T, Rajadell M, et al. Population dynamics and antigenic drift of Bordetella pertussis following whole cell vaccine replacement, Barcelona, Spain, 1986–2015. Emerg Microbes Infect. 2019; 8 (1): 1711–20. DOI: 10.1080/22221751.2019.1694395.
- Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of Bordetella pertussis. BMC Med. 2015; 13: 146. DOI: 10.1186/s12916-015-0382-8.
- Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, He Q, Bart MJ, Heuvelman KJ, et al. Bordetella pertussis strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (8): 1206–13. DOI: 10.3201/eid1508.081511.
- Metodicheskie ukazanija «Laboratornaja diagnostika kokljusha i zabojevanij, obuslovlennyh drugimi bordetellami». MUK 4.2.3701-21. M.: Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka. 2021. Russian.
- Mooi FR, Hallander H, Wirsing von König CH, Hoet B, Guiso N. Epidemiological Typing of Bordetella pertussis Isolates: Recommendations for a Standard Methodology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000; 19: 174–81.
- Gordana D, Teemu K, Annika E, Pljesa T, Vignjevic-Krastavcevic M, He Q. Bordetella pertussis vaccine strains and circulating isolates in Serbia Vaccine. 2010; 28 (5): 1188–92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.036.
- Alai S, Ghattargi VC, Gautam M, Patel K, Pawar SP, Dhotre DP, et al. Comparative genomics of whole-cell pertussis vaccine strains from India. BMC Genomics. 2020; 21 (1): 345. DOI: 10.1186/s12864-020-6724-8.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ПРЯМОЙ ИОНИЗАЦИЕЙ В НЕЙРОХИРУРГИИ

Д. С. Заворотнюк<sup>1</sup>✉, А. А. Сорокин<sup>1</sup>, Д. С. Бормотов<sup>1</sup>, В. А. Елиферов<sup>1</sup>, К. В. Бочаров<sup>2</sup>, С. И. Пеков<sup>1,3,4</sup>, И. А. Попов<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Московский физико-технический институт, Москва, Россия

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н. Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>3</sup> Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

<sup>4</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Радикальное удаление опухоли до сих пор остается наиболее эффективным методом лечения онкологических заболеваний головного мозга. Задачи интраоперационного мониторинга на сегодняшний день решают с помощью позитронно-эмиссионной томографии, магнитно-резонансной томографии и гистохимического анализа, однако они требуют применения дорогостоящего оборудования высококвалифицированным персоналом, поэтому до сих пор не получили широкого распространения. В качестве альтернативы возможно применение методов масс-спектрометрии без пробоподготовки с последующим анализом масс-спектрометрических данных методами машинного обучения. Так как для масс-спектрометрии без пробоподготовки характерны более богатые и разнообразные по количеству пиков спектры, ее применение требует специальной предварительной обработки экспериментальных данных. Целью исследования было разработать методы определения оптимальных значений параметров предварительной обработки данных масс-спектрометрии без пробоподготовки. В работе представлены два таких метода, а также приведены конкретные значения параметров для данных, полученных с помощью масс-спектрометра Thermo LTQ XL Orbitrap ETD.

**Ключевые слова:** масс-спектрометрия, прямая ионизация, анализ данных, предварительная обработка данных

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования (соглашение № 075-03-2022-107, проект № 0714-2020-0006). Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП ФИЦ ХФ им. Н. Н. Семенова РАН.

**Вклад авторов:** Д. С. Заворотнюк — анализ и интерпретация данных, создание программного обеспечения, написание и редактирование рукописи; А. А. Сорокин — планирование исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи; Д. С. Бормотов — сбор и интерпретация данных, написание рукописи; В. А. Елиферов — финансовое обеспечение эксперимента; К. В. Бочаров — сбор данных; С. И. Пеков — планирование исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи. И. А. Попов — руководство проектом, обеспечение финансирования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом НМИЦН имени Н. Н. Бурденко (протоколы № 40 от 12 апреля 2016 г. и № 131 от 17 июля 2018 г.), проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации (2000 г.) и ее последующих пересмотров. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании и использование биоматериалов в исследовательских целях.

✉ **Для корреспонденции:** Денис Сергеевич Заворотнюк  
Институтский переулок, д. 9, 141701, г. Долгопрудный, Московская область; denis.zavorotnyuk@gmail.com

**Статья получена:** 19.12.2023 **Статья принята к печати:** 03.03.2024 **Опубликована онлайн:** 27.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.013

## DETERMINING OPTIMAL AMBIENT IONIZATION MASS SPECTROMETRY DATA PRE-PROCESSING PARAMETERS IN NEUROSURGERY

Zavorotnyuk DS<sup>1</sup>✉, Sorokin AA<sup>1</sup>, Bormotov DS<sup>1</sup>, Eliferov VA<sup>1</sup>, Bocharov KV<sup>2</sup>, Pekov SI<sup>1,3,4</sup>, Popov IA<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Semenov Federal Research Center for Chemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Radical tumor resection is still the most effective treatment method for brain tumors. The problems of intraoperative monitoring are currently solved using positron emission tomography, magnetic resonance imaging, and histochemical analysis, however, these require using expensive equipment by highly qualified personnel and are therefore still not widely available. As an alternative, it is possible to use mass spectrometry methods without sample preparation and then the analysis of mass spectrometry data involving the use of machine learning methods. The spectra that are more rich and diverse in terms of peak number are typical for mass spectrometry without sample preparation, therefore the use of this method requires specific pre-processing of experimental data. The study was aimed to develop the methods to determine the optimal parameter values for pre-processing of the data acquired by ambient ionization mass spectrometry. The paper presents two such methods and provides specific parameter values for the data acquired using the Thermo LTQ XL Orbitrap ETD mass spectrometer.

**Keywords:** mass spectrometry, ambient ionization, data analysis, data preprocessing

**Funding:** the study was performed within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement № 075-03-2022-107, project № 0714-2020-0006). The study involved the use of equipment of the Semenov Federal Research Center for Chemical Physics RAS.

**Author contribution:** Zavorotnyuk DS — data acquisition and interpretation, software development, manuscript writing and editing; Sorokin AA — study planning, data analysis and interpretation, manuscript editing; Bormotov DS — data acquisition and interpretation, manuscript writing; Eliferov VA — financial support of the experiment; Bocharov KV — data acquisition; Pekov SI — study planning, data analysis and interpretation, manuscript draft writing and manuscript text finalization; Popov IA — project management, financial support.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Burdenko Research Institute of Neurosurgery (protocols № 40 dated 12 April 2016 and № 131 dated 17 July 2018) and conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki (2000) and its subsequent revisions. All patients submitted the informed consent to study participation and the use of biomaterial for scientific purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Denis S. Zavorotnyuk  
Institutskiy per., 9, str. 7, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701; denis.zavorotnyuk@gmail.com

**Received:** 19.12.2023 **Accepted:** 03.03.2024 **Published online:** 27.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.013

Масс-спектрометрия с прямой ионизацией — один из перспективных методов повышения точности и полноты резекции глиальных опухолей, поскольку радикальное удаление опухоли в настоящий момент является наиболее эффективным лечением онкологических заболеваний головного мозга [1]. Однако при этом возникает задача определения границ опухоли для обеспечения полноты резекции с целью предотвращения рецидива, с одной стороны, и для недопущения избыточной резекции и возникновения нейрпатологических последствий — с другой [2]. Основными универсальными интраоперационными методами контроля границ удаляемой опухоли до сих пор остаются позитронно-эмиссионная томография с применением компьютерной томографии (ПЭТ-КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и гистохимический анализ, поскольку иные методы, например флуоресцентное окрашивание, могут оказаться неспецифичными для ряда диагнозов. Однако эти методы времязатратны, а томографические к тому же отличаются высокой стоимостью из-за необходимости оборудования специальных операционных блоков [3].

Масс-спектрометрия (МС) с прямой ионизацией позволяет за короткое время получить данные о молекулярном строении образца [4–6]. Однако на текущий момент подавляющее большинство вычислительных инструментов для работы с масс-спектрометрическими данными включают работу со спектрами, полученными с помощью МС в тандеме с газовой или жидкостной хроматографией. Эти данные отличаются тем, что количество пиков в каждом скане такого спектра намного меньше, чем в сканах, полученных МС с прямой ионизацией [7, 8]. Простота в подготовке образца и скорость анализа в случае МС с прямой ионизацией позволяют получить значительно более сложные масс-спектры, т. е. большее количество данных за срок, исчисляемый минутами. В то же время для анализа таких данных необходимо применять автоматизированные методы обработки и сложные алгоритмы анализа [9–11], поэтому большое внимание должно быть уделено контролю качества данных и их предварительной обработке [12].

Масс-спектрометрические данные представляют собой упорядоченные по времени наборы сканов. Каждый скан представляет собой упорядоченный по шкале отношения массы иона к его заряду ( $m/z$ ) профиль интенсивностей тока ионов, накопленных прибором за определенный интервал времени. На этапе предварительной обработки необходимо преобразовать этот скан в набор, состоящий из интенсивностей и значений  $m/z$  пиков, выделенных в скане. Обычно для этого выполняют такие действия, как нормализация значений интенсивностей, определение и удаление шума, определение и выравнивание положения пиков [13–15]. Большое разнообразие в подходах к предварительной обработке данных МС говорит о том, что в зависимости от природы образцов, использованных в исследовании, конструкции масс-спектрометра, режима сбора ионов и типа дальнейшего анализа перечисленные выше действия должны выполняться с различными параметрами.

В данной статье описана разработка методики определения параметров предварительной обработки масс-спектров с целью унификации масс-спектрометрических данных для дальнейшего автоматизированного анализа на примере экспериментальных данных масс-спектрометрии без пробоподготовки, полученных в ходе исследования образцов тканей опухолей головного мозга человека.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали масс-спектрометрические данные, полученные при обработке образцов тканей головного мозга человека с диагнозами глиобластома и астроцитомы IV степени злокачественности (согласно классификации ВОЗ 2021 г., [16]) и патологии неопухоловой природы, полученных в ходе хирургического лечения лекарственно-резистентной эпилепсии. Всего было исследовано 307 образцов тканей 74 пациентов. Данные были получены с помощью масс-спектрометра Thermo LTQ XL Orbitrap ETD (Thermo Fisher Scientific; США) с картриджной ионизацией [3, 17]. Каждый образец был разделен на две части, одну часть отправляли на стандартный гистохимический анализ для получения медицинского заключения по этому образцу, а из оставшейся части выделяли три фрагмента объемом примерно по 1 мм<sup>3</sup>, каждый из которых подвергали масс-спектрометрическому исследованию. Протокол масс-спектрометрического исследования включает анализ и детектирование ионов в восьми разных режимах, каждый из которых характеризуется полярностью ионов, разрешением детектора и шириной диапазона значений  $m/z$  регистрируемых ионов. Сбор ионов в каждом режиме выполняли по два раза.

Накопленные экспериментальные данные подвергали процедуре предварительной обработки с различными значениями параметров, описание которых дано в разделе «Результаты исследования». Процедура предварительной обработки заключалась в калибровке интенсивностей пиков, деформации пиков по отношению к скану с максимальным общим ионным током (TIC), взаимной деформации всех пиков среди сканов одного режима регистрации ионов и фильтрации редких и низкоинтенсивных пиков. Для каждого режима регистрации ионов были получены отдельные наборы сканов. Каждый набор сканов преобразовывался в матрицу интенсивностей пиков, которая использовалась для обучения классификационной модели. В качестве предикторов при обучении моделей выступали столбцы матрицы, содержащие распределения интенсивностей пиков среди всех сканов данного режима, а в качестве отклика были взяты гистологические диагнозы пациентов. Для обучения и проверки моделей были использованы масс-спектрометрические данные, полученные с образцов тканей головного мозга 33 пациентов с диагнозами глиобластома и семи пациентов с диагнозами патологий неопухоловой природы. Доступный для каждого режима набор данных подвергали разделению на тренировочную и проверочную группы в соотношении 3 : 1 соответственно, при этом разделение выполняли таким образом, чтобы разные сканы, полученные от одного образца, присутствовали в обеих группах для снижения степени переобучения моделей.

Анализ данных выполняли на компьютере под управлением ОС Ubuntu 16.04 с установленным пакетом R версии 3.4.4 и R-пакетами MALDIquant [18], caret [19], glmnet [20], ggplot2 [21], и для этого полученные от масс-спектрометра данные были преобразованы из исходного формата Thermo Finnigan в открытый NetCDF [22] формат с помощью разработанного в лаборатории программного обеспечения [23].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2012 г. было показано, что различия в масс-спектрах опухолевых и неопухоловых тканей головного мозга могут

быть использованы для построения классификаторов, автоматизированно определяющих присутствие злокачественной ткани в биопсийном материале [24]. На рис. 1 показаны пики двух масс-сканов, полученных с образцов тканей пациентов с диагнозами глиобластома и патология неопухолевой природы.

Процедура предварительной обработки масс-спектрометрических данных состоит из нескольких этапов. На первом этапе производят оценку шумового сигнала и определение отношения «сигнал/шум» для всех сканов:

$$SNR = \frac{I_s}{I_n},$$

где  $I_s$  — интенсивность сигнала,  $I_n$  — интенсивность шума. Существует несколько способов определения интенсивности шумового сигнала в цифровых данных, например, с помощью среднего абсолютного отклонения (MAD) или с помощью регрессии с адаптивной шириной полосы (SuperSmoother) [25]. На последующих этапах низкоинтенсивные пики, для которых отношение «сигнал/шум» меньше, чем заданное значение SNR, будут исключены из спектра. Под действием переменных факторов окружающей среды и случайных флуктуаций положения максимумов в скане могут слегка изменяться, и для того, чтобы компенсировать такие изменения, следующим шагом производят выравнивание профилей в разных сканах. В качестве референсного используют скан с максимальным TIC, так как предполагается, что этот

скан имеет наибольшее зарегистрированное количество ионов, его профиль содержит наибольшее количество различных ионных пиков. Здесь каждый профиль подвергается деформации вдоль оси  $m/z$ , так чтобы быть максимально похожим на референсный профиль. Максимально допустимая величина такой деформации задается с использованием предельного допуска на отклонение (TA). Затем производится детектирование пиков — преобразование профиля скана в набор отдельных пиков. Для этого весь профиль разбивают на несколько частей, размер каждой части определяют параметром «полуширина окна» (HWS) — это диапазон точек  $m/z$ , внутри которого производится поиск точки с максимальным значением интенсивности. Эта точка назначается пиком в данной части профиля. Затем производится выравнивание положения идентичных пиков среди всего набора сканов. Здесь идентичными считают пики, положения  $m/z$  которых различаются не больше, чем заданный допуск на отклонение при детектировании пиков (TBP). На заключительном этапе производят удаление редких пиков и объединение пиков из всех сканов в общую матрицу интенсивностей.

Таким образом, в результате предварительной обработки масс-спектрометрических данных образуется матрица [26], число строк в которой определено количеством сканов, полученных в ходе эксперимента, а число колонок — это объединенное количество пиков из всех сканов. Очевидно, что описанные выше параметры (SNR, TA, HWS

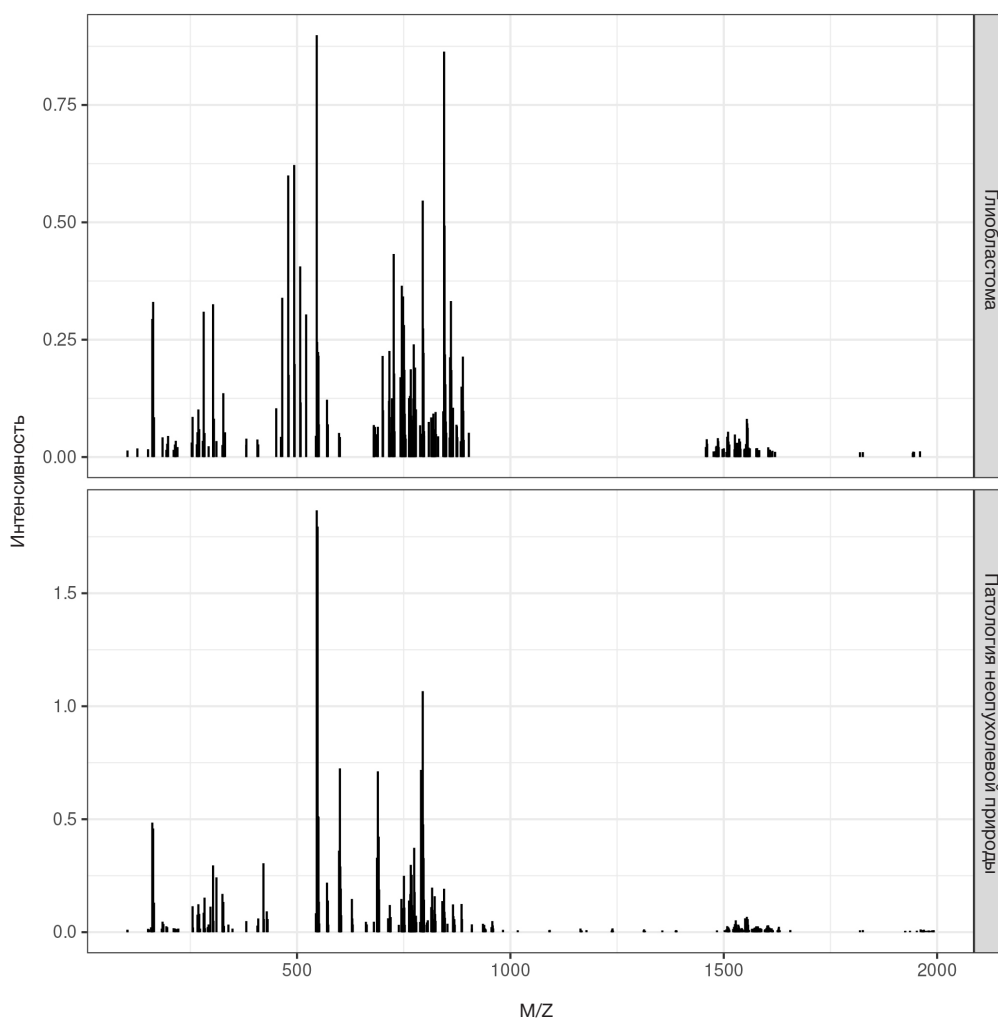


Рис. 1. Сравнение пиков масс-сканов опухолевых и неопухолевых образцов

Таблица 1. Оптимальные значения SNR, соответствующие LASSO-моделям с минимальным значением AIC

Режим сканирования	SNR	TA = TBP, ppm
Negative, High, 120–2000	1,5	20
Negative, High, 500–1000	2	2000
Negative, Low, 120–2000	1,5	20
Negative, Low, 500–1000	2	2000
Positive, High, 120–2000	1,5	2000
Positive, High, 500–1000	2	2000
Positive, Low, 120–2000	1,5	20
Positive, Low, 500–1000	2	2000

и TBP) существенным образом влияют на количество пиков в матрице интенсивностей и вопрос, какие именно значения они должны принимать в каждом конкретном режиме сбора ионов, не является тривиальным.

В классических задачах определения модели, которая наилучшим образом описывает экспериментальные данные [27, 28], с использованием метода регуляризации и набора критериев построения модели определяются информационные критерии [29], экстремальные значения которых соответствуют оптимальным значениям этих критериев. В нашей работе минимальное значение классического информационного критерия Акаике (AIC) [30] было использовано для определения оптимального значения SNR. Оптимальность остальных параметров, а именно HWS, TA и TBP, была определена по экспертной оценке качества обработки спектров.

## Параметр SNR

Определение оптимального значения параметра SNR выполняли с использованием критерия Акаике классификационных LASSO-моделей. Для этого составляли комбинацию значений параметров SNR, TA и TBP, выполняли предварительную обработку масс-спектров, строили матрицу интенсивностей, а затем тренировали LASSO-модель, где в качестве тренировочных данных использовали эту матрицу и диагноз пациента. Тренировку моделей производили с кросс-валидацией 5/10, выбор наилучшей модели осуществляли по метрике «Точность».

Комбинации параметров составляли из множеств значений:

$$\text{SNR} = \{1.5, 2\}$$

$$\text{TA} = \text{TBP} = \{20, 200, 2000\}$$

Оптимальной комбинацией параметров назначали ту, при которой полученная модель обладала наименьшим значением AIC. Оптимальные значения параметров представлены в табл. 1.

Для предотвращения появления отрицательных интенсивностей шумового сигнала в скане к набору точек (M/Z, Интенсивность) слева и справа были добавлены по 100 нулевых точек, в результате чего оценку шумового сигнала производили на расширенном диапазоне значений M/Z при неизменном количестве значимых пиков в спектре.

## Параметры HWS, TA, TBP

Оптимальность параметров HWS, TA и TBP определяли путем проведения экспертной оценки качества обработки спектров. Для этой цели было разработано интерактивное Shiny-приложение Mass-spectrum observer, которое позволяет исследовать, как изменяются форма спектра, положения пиков и характеристики матрицы интенсивностей определенного масс-скана при варьировании значений этих параметров. Исходный код приложения доступен в GitHub-репозитории [31], демонстрационная версия приложения доступна в библиотеке Shiny-приложений

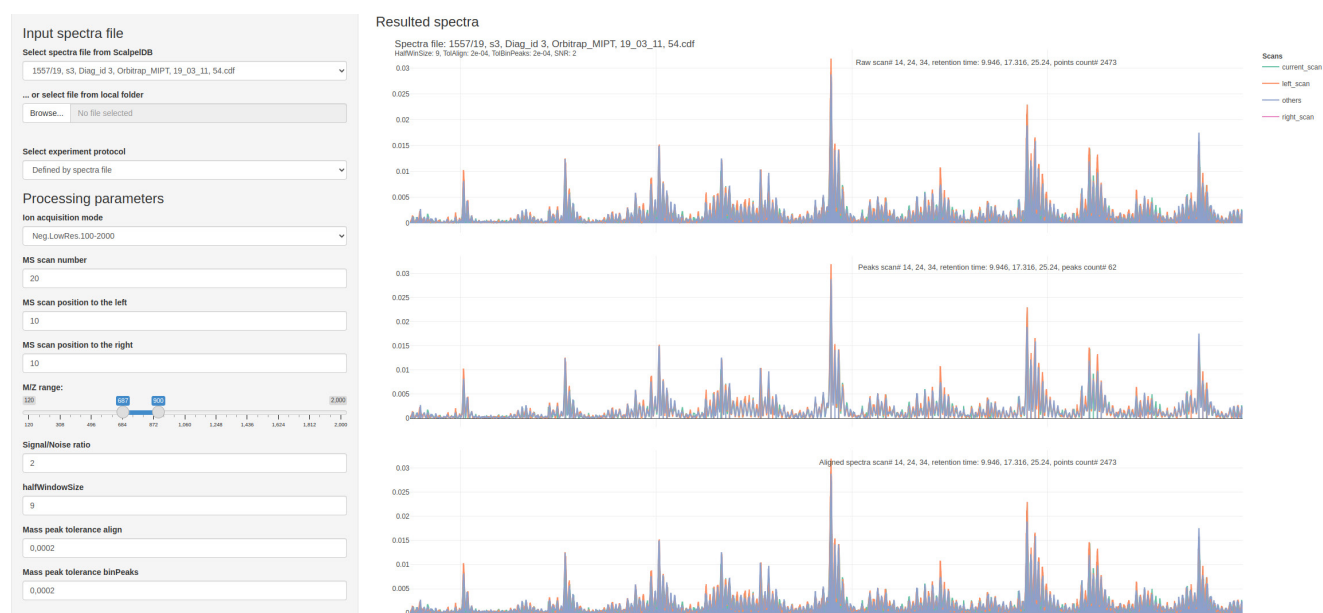


Рис. 2. Принт-скрин окна приложения Mass-spectrum observer с панелью управления параметрами предварительной обработки спектров

Таблица 2. Списки возможных значений параметров HWS, TA, TBP

Параметр	Значения для высокого разрешения	Значения для низкого разрешения
HWS	{3, 5, 7}	{7, 9, 11, 13, 15, 17, 19}
TA, ppm	{1, 20.8, 40.6, 60.4, 80.2, 100, 208, 406, 604, 802, 1·10 <sup>3</sup> }	{100, 325, 550, 775, 1·10 <sup>3</sup> }
TBP = m·TA	m := {0.1, 1, 10}	

со свободным доступом [32]. На рис. 2 и 3 представлены принт-скрины приложения.

Для параметров HWS, TA и TBP были определены списки возможных значений и для каждой комбинации этих значений проведены процедуры предварительной обработки масс-спектрометрических данных до получения матриц интенсивностей для каждого режима сбора ионов отдельно. Параметр TBP изменялся пропорционально параметру TA с тремя возможными значениями коэффициента пропорциональности. В табл. 2 приведены списки значений параметров.

Для каждой полученной матрицы интенсивностей было определено количество колонок, которое соответствует совокупному количеству пиков, полученных из профилей масс-сканов. Кроме того, в процессе построения матрицы интенсивностей производили определение количества близко расположенных друг к другу пиков в результирующих спектрах. Если расстояние между пиками оказывалось меньше, чем два разрешения прибора при детектировании ионов в данном режиме, то пики рассматривают как возможно дублирующиеся. Такие пики могут возникать в процессе преобразования профилей сканов в наборы отдельных пиков, например, в одном скане при слишком низких значениях параметра HWS, в результате чего относительно широкий по шкале m/z всплеск интенсивности будет представлен несколькими пиками спектра, или в сканах одного файла при низких значениях параметра TBP, из-за чего алгоритм не может составить список идентичных пиков в разных сканах. Дублирующиеся пики определяли внутри одного скана, во всех сканах одного фрагмента ткани, использованного в масс-спектрометрическом исследовании, и среди всех пиков матрицы интенсивностей. Дублирование пиков определяли в зависимости от разрешения масс-

спектрометра при данном режиме сбора ионов, для режима низкого разрешения было взято значение 800 при m/z = 400, для высокого разрешения — значение 30 000 при m/z = 400.

По изменениям этих четырех показателей в зависимости от параметров обработки были определены опорные значения параметров HWS, TA и TBP, которые затем проходили экспертную оценку с помощью Mass-spectrum observer. Результаты экспертной оценки представлены в табл. 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты показывают тесную взаимосвязь между параметрами обработки масс-спектрометрических данных прямой ионизации с качеством получаемых спектров. Параметр SNR позволяет сократить число пиков в результирующем спектре, однако следует обращать внимание на наличие отрицательной оценки значений шумового сигнала, которая может возникать как артефакт в граничных областях спектров. В процессе детектирования пиков в профиле оценку шума используют для определения интенсивности пика на данном участке профиля, поэтому отрицательный шум может привести к появлению избыточного количества пиков в спектре. Это может не иметь большого значения в случае детектирования ионов в широком диапазоне M/Z, например, 120–2000, но для узкого диапазона 500–1000 это обстоятельство может быть существенным. В некоторых случаях эти артефакты удается устранить с помощью тонкой настройки метода SuperSmoother, например, путем изменения степени сглаженности при аппроксимации или путем сужения участка профиля, для которого производится оценка шума. Но для каждого отдельного масс-скана эти методы

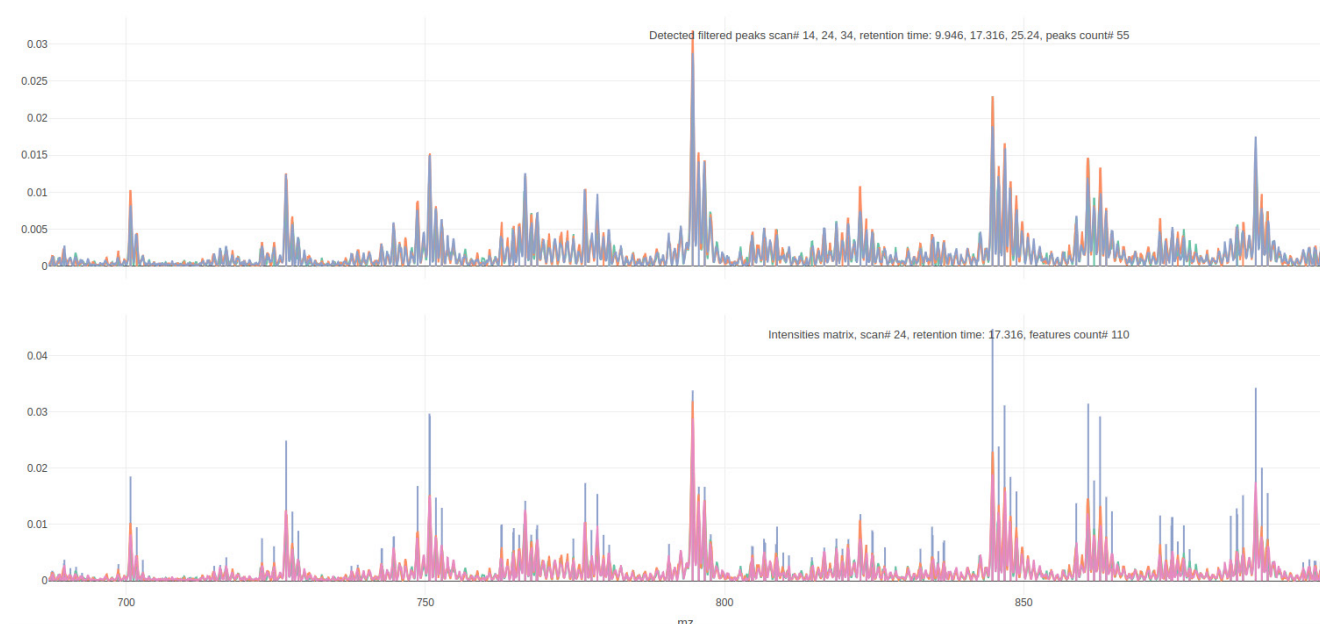


Рис. 3. Принт-скрин окна приложения Mass-spectrum observer с графиками, соответствующими спектрам после процедуры предварительной обработки

Таблица 3. Оптимальные параметры HWS, TA, TBP, полученные с помощью экспертной оценки

Режим накопления ионов	TA, ppm	TBP, ppm	HWS
Negative, High, 120–2000	40,6	40,6	3
Negative, High, 500–1000	60,4	60,4	3
Negative, Low, 120–2000	775	$7,75 \times 10^3$	13
Negative, Low, 500–1000	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	13
Positive, High, 120–2000	60,4	60,4	3
Positive, High, 500–1000	60,4	60,4	3
Positive, Low, 120–2000	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	13
Positive, Low, 500–1000	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	13

могут давать разные результаты, поэтому в качестве более устойчивого метода устранения отрицательных значений был выбран метод фиктивного расширения массива данных.

Выбор значений HWS, TA и TBP следует осуществлять, в первую очередь, с учетом разрешения прибора. Увеличение полуширины окна в процессе преобразования профиля в матрицу интенсивностей с одной стороны позволяет отсеивать артефактные и дублирующие пики (рис. 4), но с другой стороны слишком большие значения этого параметра приводят к исключению значимых пиков из последующего анализа (рис. 5). Значения допусков на отклонения в положениях пиков при выравнивании и детектировании также находятся в тесной связи с полушириной окна и, соответственно, с разрешением, а также с другими особенностями масс-спектрометра, которые обусловлены дрейфом масс и методами оцифровки сигнала. При этом значение TBP не должно быть меньше значения TA, поскольку такая конфигурация значений всегда приводит к увеличению среднего числа возможных дублирующих пиков. Это происходит из-за того, что алгоритму выравнивания пиков не хватает

допуска на сдвиг идентичных пиков в разных сканах даже после выравнивания всех сканов на скан с наибольшим ионным током, чтобы убрать дублирующие пики. Следует также отметить, что изменение ширины диапазона без изменения разрешения и полярности регистрируемых ионов не оказывает существенного влияния на значения параметров, что является ожидаемым результатом.

## ВЫВОДЫ

Разработан универсальный подход определения оптимальных значений параметров предварительной обработки данных, полученных с помощью МС с прямой ионизацией. Применение подхода продемонстрировано на данных, полученных с образцов тканей головного мозга человека с использованием масс-спектрометра Thermo LTQ XL Orbitrap ETD. Разработанный подход может быть использован для определения оптимальных значений параметров предварительной обработки данных, полученных при исследованиях других типов образцов и с применением другого масс-спектрометрического

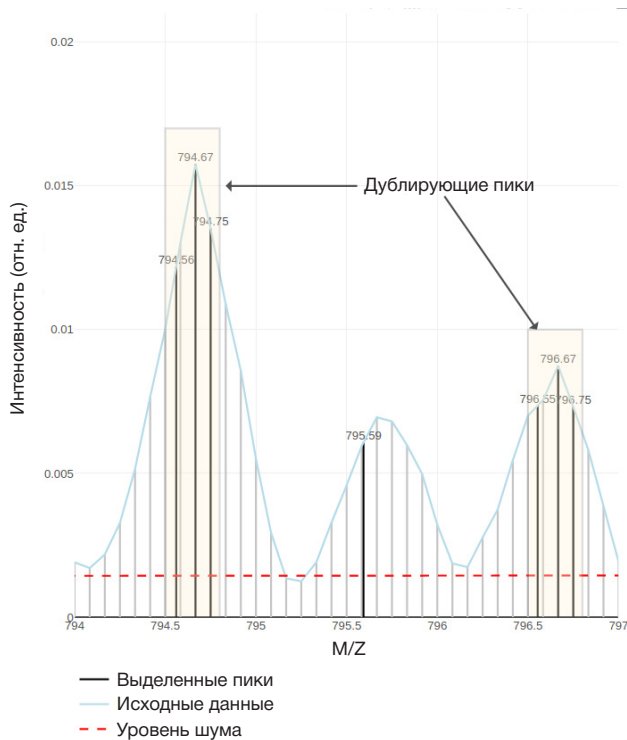


Рис. 4. Определение положения пиков. Появление пиков, расстояние между которыми меньше, чем два разрешения прибора при данном режиме регистрации ионов (дублирующие пики), в масс-скане отрицательных ионов широкого диапазона низкого разрешения при неоптимальных значениях параметров обработки

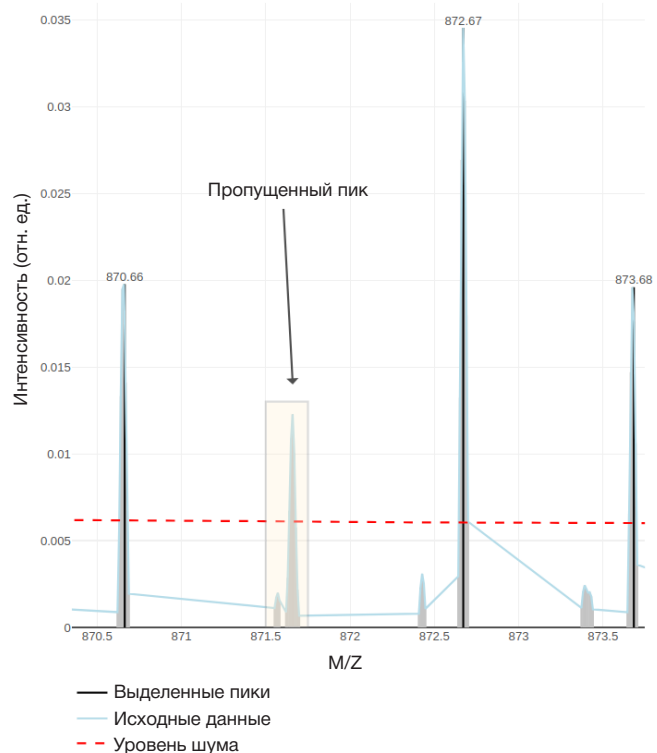


Рис. 5. Определение положения пиков. Пропуск значимого пика в масс-скане отрицательных ионов узкого диапазона высокого разрешения при неоптимальных значениях параметров обработки



оборудования. Результаты работы показывают, что при использовании МС с прямой ионизацией в клинике как быстрой и более доступной альтернативы традиционным методам интраоперационного мониторинга необходимо тщательно выработать настройку параметров обработки масс-спектрометрических данных. Параметры необходимо определять с учетом масс-спектрометра и условий проведения исследования. В частности, параметр SNR, определяющий число пиков в результирующих спектрах, следует выбирать, исходя из типа исследуемой ткани и способа ионизации, и значение в пределах 1,5–2 можно

принимать за нижнюю границу. При выравнивании профилей сканов и детектировании пиков значения полуширины окна (HWS) и допуска на модификацию скана (TA) следует выбирать в соответствии с разрешением используемого масс-спектрометра, а допуск на отклонение при выравнивании пиков спектров (TBP) не следует выбирать меньше, чем значение параметра TA. Для выбора оптимальных значений этих параметров среди нескольких возможных можно использовать как методы машинного обучения, так и экспертную оценку качества получаемых спектров.

## Литература

- Young RM, Jamshidi A, Davis G, Sherman JH. Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. *Ann Transl Med* 2015; 1–15. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.05.10>.
- Chanbour H, Chotai S. Review of intraoperative adjuncts for maximal safe resection of gliomas and its impact on outcomes. *Cancers*. 2022; 14: 5705. Available from: <https://doi.org/10.3390/cancers14225705>.
- Pekov SI, Bormotov DS, Nikitin PV, Sorokin AA, Shurkhay VA, Eliferov VA, et al. Rapid estimation of tumor cell percentage in brain tissue biopsy samples using inline cartridge extraction mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2021; 413: 2913–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03220-y>.
- Eberlin LS, Norton I, Orringer D, Dunn IF, Liu X, Ide JL, et al. Ambient mass spectrometry for the intraoperative molecular diagnosis of human brain tumors. *Proc Natl Acad Sci*. 2013; 110: 1611–6. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1215687110>.
- Hänel L, Kwiatkowski M, Heikaus L, Schlüter H. Mass spectrometry-based intraoperative tumor diagnostics. *Future Sci OA*. 2019; 5: FSO373. Available from: <https://doi.org/10.4155/fsoa-2018-0087>.
- Li L-H, Hsieh H-Y, Hsu C-C. Clinical application of ambient ionization mass spectrometry. *Mass Spectrom*. 2017; 6: S0060–S0060. Available from: <https://doi.org/10.5702/massspectrometry.S0060>.
- Huang M-Z, Yuan C-H, Cheng S-C, Cho Y-T, Shiea J. Ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Anal Chem*. 2010; 3: 43–65. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.anchem.111808.073702>.
- Shi L, Habib A, Bi L, Hong H, Begum R, Wen L. Ambient Ionization Mass Spectrometry: Application and Prospective. *Crit Rev Anal Chem*. 2022; 1–50. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2124840>.
- Boiko DA, Kozlov KS, Burykina JV, Ilyushenkova VV, Ananikov VP. Fully automated unconstrained analysis of high-resolution mass spectrometry data with machine learning. *J Am Chem Soc*. 2022; 144: 14590–606. Available from: <https://doi.org/10.1021/jacs.2c03631>.
- Liebal UW, Phan ANT, Sudhakar M, Raman K, Blank LM. Machine learning applications for mass spectrometry-based metabolomics. *Metabolites*. 2020; 10: 1–23. Available from: <https://doi.org/10.3390/metabo10060243>.
- Piras C, Hale OJ, Reynolds CK, Jones AK (Barney), Taylor N, Morris M, et al. LAP-MALDI MS coupled with machine learning: an ambient mass spectrometry approach for high-throughput diagnostics. *Chem Sci*. 2022; 13: 1746–58. Available from: <https://doi.org/10.1039/D1SC05171G>.
- Seddiki K, Saudemont P, Precioso F, Ogrinc N, Wisztorski M, Salzet M, et al. Cumulative learning enables convolutional neural network representations for small mass spectrometry data classification. *Nat Commun*. 2020; 11. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19354-z>.
- Huang YC, Chung HH, Dutkiewicz EP, Chen CL, Hsieh HY, Chen BR, et al. Predicting breast cancer by paper spray ion mobility spectrometry mass spectrometry and machine learning. *Anal Chem*. 2020; 92: 1653–7. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03966>.
- Iwano T, Yoshimura K, Inoue S, Odate T, Ogata K, Funatsu S, et al. Breast cancer diagnosis based on lipid profiling by probe electrospray ionization mass spectrometry. *Br J Surg*. 2020; 107: 632–5. Available from: <https://doi.org/10.1002/bjs.11613>.
- Zhou M, Guan W, Walker LDE, Mezencev R, Benigno BB, Gray A, et al. Rapid mass spectrometric metabolic profiling of blood sera detects ovarian cancer with high accuracy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19: 2262–71. Available from: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0126>.
- Torp SH, Solheim O, Skjulsvik AJ. The WHO 2021 Classification of central nervous system tumours: a practical update on what neurosurgeons need to know — a minireview. *Acta Neurochir (Wien)*. 2022; 164: 2453–64. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00701-022-05301-y>.
- Bormotov DS, Eliferov VA, Peregudova OV, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV, Pekov SI, et al. Incorporation of a disposable ESI emitter into inline cartridge extraction mass spectrometry improves throughput and spectra stability. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2023; 34: 119–22. Available from: <https://doi.org/10.1021/jasms.2c00207>.
- Gibb S, Strimmer K. Maldiquant: A versatile R package for the analysis of mass spectrometry data. *Bioinformatics*. 2012; 28. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts447>.
- Kuhn M. Building predictive models in R using the caret package. *J Stat Softw*. 2008; 28: 1–26. Available from: <https://doi.org/10.18637/jss.v028.i05>.
- Friedman JH, Hastie T, Tibshirani R. Regularization paths for generalized linear models via coordinate descent. *J Stat Softw*. 2010; 33: 1–22. Available from: <https://doi.org/10.18637/jss.v033.i01>.
- Wickham H. *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag, New York; 2016.
- Rew R, Davis G, Emmerson S, Cormack C, Caron J, Pincus R, et al. *Unidata NetCDF* 1989. Available from: <https://doi.org/10.5065/D6H70CW6>.
- Zavorotnyuk DS, Pekov SI, Sorokin AA, Bormotov DS, Levin N, Zhvansky E, et al. Lipid profiles of human brain tumors obtained by high-resolution negative mode ambient mass spectrometry. *Data*. 2021; 6: 1–7. Available from: <https://doi.org/10.3390/data6120132>.
- Eberlin LS, Norton I, Dill AL, Golby AJ, Ligon KL, Santagata S, et al. Classifying human brain tumors by lipid imaging with mass spectrometry. *Cancer Research*. 2012; 72 (3): 645–54. Available from: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-2465>.
- Friedman JH. *Smart user's guide*. Stanford Univ CA, Laboratory for Computational Statistics; 1984.
- Morris JS, Coombes KR, Koomen J, Baggerly KA, Kobayashi R. Feature extraction and quantification for mass spectrometry in biomedical applications using the mean spectrum. *Bioinformatics*. 2005; 21: 1764–75. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti254>.
- Burnham KP, Anderson DR, editors. *Model Selection and Multimodel Inference*. New York, NY: Springer New York, 2004. Available from: <https://doi.org/10.1007/b97636>.
- Gustafsson F, Hjalmarsen H. Twenty-one ML estimators for model selection. *Automatica*. 1995; 31: 1377–92. Available from: [https://doi.org/10.1016/0005-1098\(95\)00058-5](https://doi.org/10.1016/0005-1098(95)00058-5).
- Шитиков В. К., Мاستицкий С. Э. Классификация, регрессия и другие алгоритмы Data Mining с использованием R. 2017. Доступна по ссылке: <https://github.com/ranalytics/data-mining>.
- Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Autom Control*. 1974; 19: 716–23. Available from: <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- Zavorotnyuk DS. *MS Spectrum observer repository*. Available from: <https://github.com/zdens/MS-Spectrum-Observer/releases/tag/1.0>

(дата обращения: 29 февраля 2024 г.).

32. Zavorotnyuk DS. MS spectrum observer Demo. Available

from: <https://zdens.shinyapps.io/ms-spectrum-observer> (дата обращения: 29 февраля 2024 г.).

## References

- Young RM, Jamshidi A, Davis G, Sherman JH. Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. *Ann Transl Med* 2015; 1–15. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.05.10>.
- Chanbour H, Chotai S. Review of intraoperative adjuncts for maximal safe resection of gliomas and its impact on outcomes. *Cancers*. 2022; 14: 5705. Available from: <https://doi.org/10.3390/cancers14225705>.
- Pekov SI, Bormotov DS, Nikitin PV, Sorokin AA, Shurkhay VA, Eliferov VA, et al. Rapid estimation of tumor cell percentage in brain tissue biopsy samples using inline cartridge extraction mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2021; 413: 2913–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03220-y>.
- Eberlin LS, Norton I, Orringer D, Dunn IF, Liu X, Ide JL, et al. Ambient mass spectrometry for the intraoperative molecular diagnosis of human brain tumors. *Proc Natl Acad Sci*. 2013; 110: 1611–6. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1215687110>.
- Hänel L, Kwiatkowski M, Heikaus L, Schlüter H. Mass spectrometry-based intraoperative tumor diagnostics. *Future Sci OA*. 2019; 5: FSO373. Available from: <https://doi.org/10.4155/fsoa-2018-0087>.
- Li L-H, Hsieh H-Y, Hsu C-C. Clinical application of ambient ionization mass spectrometry. *Mass Spectrom*. 2017; 6: S0060–S0060. Available from: <https://doi.org/10.5702/massspectrometry.S0060>.
- Huang M-Z, Yuan C-H, Cheng S-C, Cho Y-T, Shiea J. Ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Anal Chem*. 2010; 3: 43–65. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.anchem.111808.073702>.
- Shi L, Habib A, Bi L, Hong H, Begum R, Wen L. Ambient Ionization Mass Spectrometry: Application and Prospective. *Crit Rev Anal Chem*. 2022; 1–50. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2124840>.
- Boiko DA, Kozlov KS, Burykina JV, Ilyushenkova VV, Ananikov VP. Fully automated unconstrained analysis of high-resolution mass spectrometry data with machine learning. *J Am Chem Soc*. 2022; 144: 14590–606. Available from: <https://doi.org/10.1021/jacs.2c03631>.
- Liebal UW, Phan ANT, Sudhakar M, Raman K, Blank LM. Machine learning applications for mass spectrometry-based metabolomics. *Metabolites*. 2020; 10: 1–23. Available from: <https://doi.org/10.3390/metabo10060243>.
- Piras C, Hale OJ, Reynolds CK, Jones AK (Barney), Taylor N, Morris M, et al. LAP-MALDI MS coupled with machine learning: an ambient mass spectrometry approach for high-throughput diagnostics. *Chem Sci*. 2022; 13: 1746–58. Available from: <https://doi.org/10.1039/D1SC05171G>.
- Seddiki K, Saudemont P, Precioso F, Ogrinc N, Wisztorski M, Salzet M, et al. Cumulative learning enables convolutional neural network representations for small mass spectrometry data classification. *Nat Commun*. 2020; 11. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19354-z>.
- Huang YC, Chung HH, Dutkiewicz EP, Chen CL, Hsieh HY, Chen BR, et al. Predicting breast cancer by paper spray ion mobility spectrometry mass spectrometry and machine learning. *Anal Chem*. 2020; 92: 1653–7. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03966>.
- Iwano T, Yoshimura K, Inoue S, Odate T, Ogata K, Funatsu S, et al. Breast cancer diagnosis based on lipid profiling by probe electrospray ionization mass spectrometry. *Br J Surg*. 2020; 107: 632–5. Available from: <https://doi.org/10.1002/bjs.11613>.
- Zhou M, Guan W, Walker LDE, Mezencev R, Benigno BB, Gray A, et al. Rapid mass spectrometric metabolic profiling of blood sera detects ovarian cancer with high accuracy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19: 2262–71. Available from: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0126>.
- Torp SH, Solheim O, Skjulsvik AJ. The WHO 2021 Classification of central nervous system tumours: a practical update on what neurosurgeons need to know — a minireview. *Acta Neurochir (Wien)*. 2022; 164: 2453–64. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00701-022-05301-y>.
- Bormotov DS, Eliferov VA, Peregudova OV, Zavorotnyuk DS, Bocharov KV, Pekov SI, et al. Incorporation of a disposable ESI emitter into inline cartridge extraction mass spectrometry improves throughput and spectra stability. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2023; 34: 119–22. Available from: <https://doi.org/10.1021/jasms.2c00207>.
- Gibb S, Strimmer K. Maldiquant: A versatile R package for the analysis of mass spectrometry data. *Bioinformatics*. 2012; 28. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts447>.
- Kuhn M. Building predictive models in R using the caret package. *J Stat Softw*. 2008; 28: 1–26. Available from: <https://doi.org/10.18637/jss.v028.i05>.
- Friedman JH, Hastie T, Tibshirani R. Regularization paths for generalized linear models via coordinate descent. *J Stat Softw*. 2010; 33: 1–22. Available from: <https://doi.org/10.18637/jss.v033.i01>.
- Wickham H. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag, New York; 2016.
- Rew R, Davis G, Emmerson S, Cormack C, Caron J, Pincus R, et al. Unidata NetCDF 1989. Available from: <https://doi.org/10.5065/D6H70CW6>.
- Zavorotnyuk DS, Pekov SI, Sorokin AA, Bormotov DS, Levin N, Zhvansky E, et al. Lipid profiles of human brain tumors obtained by high-resolution negative mode ambient mass spectrometry. *Data*. 2021; 6: 1–7. Available from: <https://doi.org/10.3390/data6120132>.
- Eberlin LS, Norton I, Dill AL, Golby AJ, Ligon KL, Santagata S, et al. Classifying human brain tumors by lipid imaging with mass spectrometry. *Cancer Research*. 2012; 72 (3): 645–54. Available from: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-2465>.
- Friedman JH. Smart user's guide. Stanford Univ CA, Laboratory for Computational Statistics; 1984.
- Morris JS, Coombes KR, Koomen J, Baggerly KA, Kobayashi R. Feature extraction and quantification for mass spectrometry in biomedical applications using the mean spectrum. *Bioinformatics*. 2005; 21: 1764–75. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti254>.
- Burnham KP, Anderson DR, editors. Model Selection and Multimodel Inference. New York, NY: Springer New York, 2004. Available from: <https://doi.org/10.1007/b97636>.
- Gustafsson F, Hjalmarsson H. Twenty-one ML estimators for model selection. *Automatica*. 1995; 31: 1377–92. Available from: [https://doi.org/10.1016/0005-1098\(95\)00058-5](https://doi.org/10.1016/0005-1098(95)00058-5).
- Shitikov VK, Mastitsky SE. Klassifikacija, regressija i drugie algoritmy Data Mining s ispol'zovaniem R. 2017. Dostupna po ssylke: <https://github.com/ranalytics/data-mining>. Russian.
- Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Autom Control*. 1974; 19: 716–23. Available from: <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- Zavorotnyuk DS. MS Spectrum observer repository. Available from: <https://github.com/zdens/MS-Spectrum-Observer/releases/tag/1.0> (data obrashhenija: 29 fevralja 2024 g.).
- Zavorotnyuk DS. MS spectrum observer Demo. Available from: <https://zdens.shinyapps.io/ms-spectrum-observer> (data obrashhenija: 29 fevralja 2024 g.).

## ПРОСТРАНСТВЕННО-ОРИЕНТАЦИОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ УЗНАВАНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ ЛИЦ КАК ПРЕДИКТОРЫ СИМПТОМОВ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПОДРОСТКОВ

В. Б. Никишина, Е. А. Петраш ✉, Е. Я. Энгель, И. А. Симоненко, Е. Д. Шагина

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

Функциональная оценка изменений высших психических функций при интоксикационном воздействии, а также в процессе лечения позволит выявить предикторы симптомов печеночной энцефалопатии при портальной гипертензии. Цель работы — определить диагностические предикторы выявления наиболее ранних симптомов печеночной энцефалопатии у подростков с портальной гипертензией. В исследовании участвовали 60 подростков 13–17 лет, 28 человек — мужского пола, 32 человека — женского пола. В экспериментальную группу вошли 30 подростков с диагнозом K76.6 «Портальная гипертензия» без уточнения формы. В контрольную группу вошли 30 подростков с нормативным соматическим статусом без психических, церебрально-травматических и тяжелых инфекционных заболеваний головного мозга (по результатам заключений ежегодной диспансеризации). Исследовательские группы уравнивали по полу, возрасту и социальному статусу. Использовали авторскую методику и программно-аппаратный комплекс Tobii EyeX (ПО «GazeControl»), а также Кембриджский тест запоминания лиц для детей (CFMT-C). Установлено, что узнавание единичных, множественных, множественных зашумленных изображений лиц подростками с портальной гипертензией сопровождается большими усилиями (проявляющимися в увеличении как числа фиксации взгляда, так и их продолжительности), чем подростками с нормативным соматическим статусом. Точность узнавания единичных, множественных и множественных зашумленных изображений лиц при токсическом влиянии при проявлении печеночной энцефалопатии у подростков с портальной гипертензией значительно снижается по сравнению с подростками с нормативным соматическим статусом. Полученные результаты можно рассматривать в качестве диагностических предикторов, позволяющих отслеживать изменение выраженности симптомов печеночной энцефалопатии на разных этапах лечения (в том числе после оперативного вмешательства).

**Ключевые слова:** узнавание изображений лиц, портальная гипертензия, печеночная энцефалопатия, глазодвигательные реакции, фиксации взгляда

**Вклад авторов:** все авторы внесли равнозначный вклад в работу и написание статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 229 от 15 мая 2023 г.), проведено в соответствии с требованиями Основ законодательства «Об охране здоровья граждан»; все участники подписали добровольное информированное согласие на обследование.

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

**Статья получена:** 11.03.2024 **Статья принята к печати:** 17.04.2024 **Опубликована онлайн:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.015

## SPATIAL ORIENTATION PARAMETERS OF FACE IMAGE RECOGNITION AS PREDICTORS OF LIVER FAILURE SYMPTOMS IN ADOLESCENTS

Nikishina VB, Petrash EA ✉, Engel EYa, Simonenko IA, Shagina ED

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Functional assessment of higher mental functions in case of intoxication or during treatment will make it possible to identify predictors of the symptoms of hepatic encephalopathy associated with portal hypertension. The study was aimed to determine the diagnostic predictors of the emergence of the earliest symptoms of hepatic encephalopathy in adolescents with portal hypertension. The study involved 60 adolescents aged 13–17 years: 28 males, 32 females. The experimental group included 30 adolescents with the diagnosis K76.6 Portal hypertension, unspecified form. The control group included 30 adolescents with normal somatic status, who had no mental disorders, traumatic brain injuries or severe infectious diseases of the brain (based on the records of the annual check-up). The studied groups were matched by sex, age, and social status. The proprietary method, Tobii EyeX hardware and software system (GazeControl software), and Cambridge Face Memory Test for Children (CFMT-C) were used. It has been found that recognition of single face images, multiple face images, and multiple face images camouflaged with noise by adolescents with portal hypertension is associated with the greater efforts (manifested in the increased number and duration of gaze fixations), than recognition of the above by adolescents with normal somatic status. The accuracy of recognition of single face images, multiple face images, and multiple face images camouflaged with noise shown by adolescents with portal hypertension experiencing the toxic effects associated with manifestations of hepatic encephalopathy is significantly reduced compared to that shown by adolescents with normal somatic status. The results obtained can be considered as the diagnostic predictors allowing one to trace the changes in the hepatic encephalopathy severity at various stages of treatment (including after surgical intervention).

**Keywords:** face image recognition, portal hypertension, hepatic encephalopathy, oculomotor reactions, gaze fixation

**Author contribution:** the authors contributed to the study and manuscript writing equally.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol № 229 dated 15 May 2023) and conducted in accordance with the requirements of the Fundamentals of the Legislation on the Protection of Citizens' Health; all participants submitted the informed consent to examination.

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

**Received:** 11.03.2024 **Accepted:** 17.04.2024 **Published online:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.015

Для поиска предикторов симптомов печеночной энцефалопатии при портальной гипертензии необходима функциональная оценка изменений высших психических функций как при условии интоксикационного воздействия,

так и в процессе лечения, на разных его этапах (в том числе после оперативного лечения).

Зрительное восприятие — это совокупность процессов построения зрительного образа окружающего

мира. Оно включает в себя различные структурные компоненты: произвольность, целенаправленность, зрительно-моторные координации, навыки зрительного обследования, аналитико-синтетическую деятельность зрительного анализатора, объем, константность восприятия. От развития зрительного восприятия зависит становление функций внимания, речи, интеллекта. При этом зрительный гнозис можно разделить на следующие подвиды: предметный, симультанный, цветовой и лицевой гнозис. Лицевой гнозис в свою очередь отражает процесс идентификации лиц.

Изменения, происходящие в этой системе под влиянием морфологических и иных факторов, являются существенным индикатором и одновременно задачей функционально-восстановительного обучения. При целом ряде соматических заболеваний, которые, казалось бы, не специфичны для мозговых нарушений, происходит выраженное нейротоксическое воздействие, влияющее на функционирование структур головного мозга.

Решая проблему спецификации гностических особенностей у подростков с печеночной энцефалопатией, мы проанализировали показатели распространенности печеночных заболеваний в России и обнаружили, что по данным на 2016 г. рассматриваемому классу болезней были подвержены 950 человек на 100 000 населения [1], при этом печеночная энцефалопатия разной степени выраженности развивается у 60–70% пациентов с хроническими заболеваниями печени [2]. Следует также отметить, что в России среди детей до 14 лет в сравнении со всем населением по данным, полученным с 2007 по 2016 г., наблюдается преобладание заболеваемости детей над взрослыми в 1,6 раз по ряду печеночных болезней [3]. При этом в ходе развития печеночной недостаточности демонстрируется интоксикационное воздействие в отношении нервной системы, имеющее генерализованный характер [4], который затрагивает заднюю ассоциативную область [5], отвечающую за реализацию функции лицевого гнозиса, один из периодов наиболее выраженного роста и дифференцировки которой приходится на возраст 15–16 лет [6].

В ходе оценки исследовательского интереса в рамках изучения узнавания лиц, а также влияющих на это пространственно-ориентационных факторов, был проведен библиометрический анализ по наукометрической базе eLibrary. Глубина анализа составила 10 лет (2013–2023 гг.). Полученные результаты свидетельствуют о недостаточной разработанности данной тематики: число публикаций за указанный период колеблется в границах 1–3 научные работы в год. Таким образом, очевидной становится необходимость изучения фактора пространственно-ориентационных характеристик изображений лиц при их узнавании.

Теоретико-методологическую основу данной работы составили современные отечественные концепции о закономерностях развития высших психических функций, специфике возрастного развития и онтогенеза психики [7, 8]; о закономерностях перцептивной обработки, динамике зрительного восприятия и зрительных феноменах, сопровождающих глазодвигательную активность человека [9, 10]; а также концептуальные положения и эмпирические исследования нарушений оптико-пространственного гнозиса при печеночной энцефалопатии [11, 12, 13–16].

Зрительный гнозис представляет собой процесс приема избранных внешних визуальных стимулов, которые проходят через перцептивные фильтры,

организованные в существующие структуры и шаблоны, а затем интерпретируются на основе предыдущего опыта. Изображение лица человека является сложным социальным объектом. Глазодвигательная активность при восприятии изображения лица обладает рядом специфических закономерностей, которая касается распределения фиксации взгляда в зависимости от цели восприятия фотографического изображения лица и лицевой экспрессии. Маршруты взгляда при восприятии изображений лиц обладают цикличностью и регулярностью [9, 10, 17, 18].

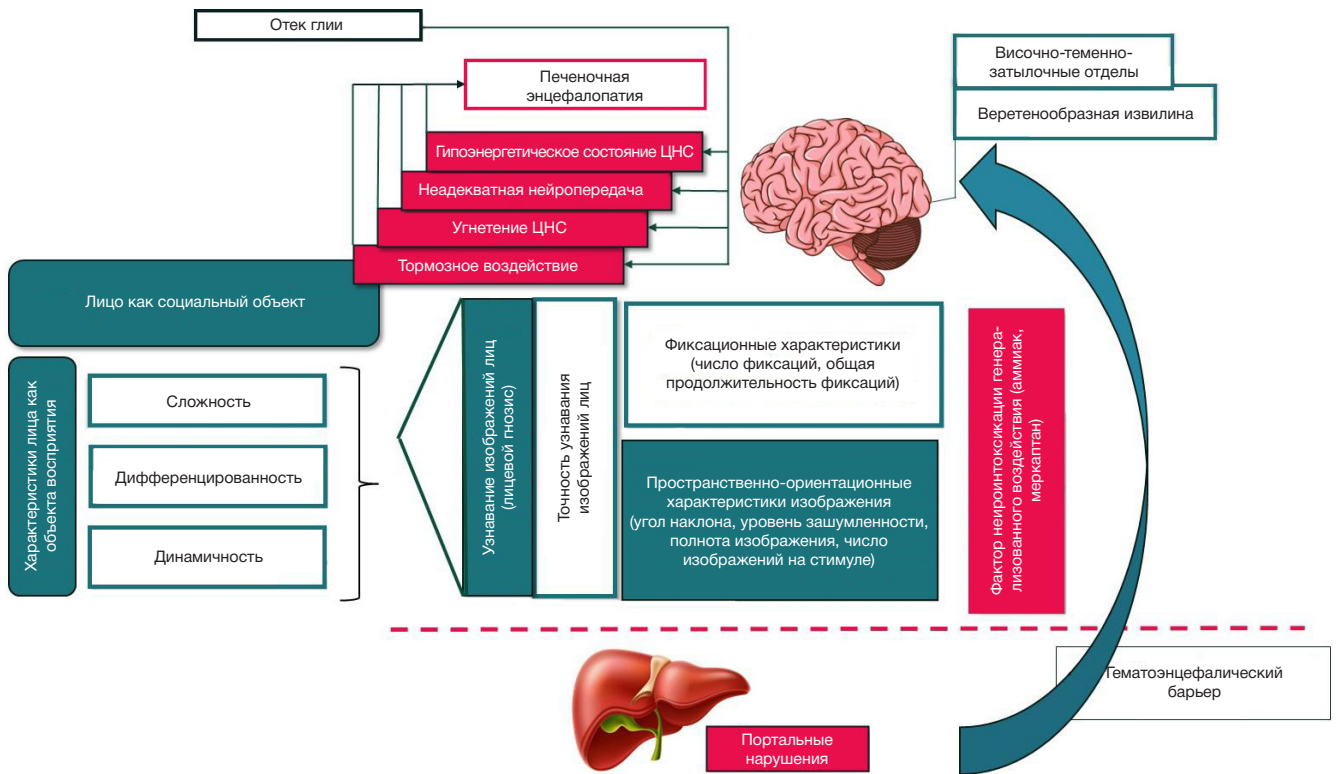
Портальная гипертензия (K76.6 по МКБ-10) представляет собой синдром повышенного давления в системе воротной вены, вызванного нарушением кровотока в портальных сосудах, печеночных венах и нижней полой вене, и наряду с другими проявлениями (спленомегалией, варикозным расширением вен пищевода и желудка, асцитом) сопровождается синдромом печеночной энцефалопатии. Нарушение функции печени приводит к токсическому воздействию на центральную нервную систему (ЦНС) (головной мозг) за счет интоксикации аммиаком и меркаптаном генерализованного характера. Интоксикационные воздействия приводят к отеку глии, что, в свою очередь, отражается на показателях нейродинамики (нарушение передачи нервных импульсов и угнетение функций ЦНС в целом) (рис. 1).

Соответственно, возникающие вследствие интоксикации функциональные нарушения приводят к затруднению реализации высших психических функций. Печеночная энцефалопатия как симптом печеночной недостаточности (острой или хронической) относится к нейропсихиатрическим синдромам и представляет собой, как правило, потенциально обратимое функциональное нарушение головного мозга, которое проявляется в психомоторных, интеллектуальных, эмоциональных и поведенческих нарушениях. Нарушение оптико-пространственных функций, а именно узнавания изображений лиц (лицевого гнозиса), является одним из наиболее ранних проявлений, когда другие симптомы еще мало заметны. Для его выявления требуется применение специальных психометрических методов.

Цель исследования — изучение пространственно-ориентационных факторов узнавания изображения лиц у подростков с портальной гипертензией.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Общий объем исследовательской выборки составил 60 подростков в возрасте 13–17 лет (по МКБ ВОЗ), средний возраст —  $14,7 \pm 1,54$  года; 28 человек из которой — мужского пола, 32 человека — женского пола. В экспериментальную группу (ЭГ) вошли 30 подростков (14 юношей, 16 девушек) с установленным врачом-гастроэнтерологом диагнозом K76.6 «Портальная гипертензия» (по МКБ-10), из которых 16,7% с внепеченочной формой печеночной энцефалопатии, 83,3% с внутripеченочной формой печеночной энцефалопатии. В преобладающем большинстве (90% пациентов) печеночная недостаточность возникла вследствие вирус-ассоциированного поражения печени. У остальных испытуемых (три человека) печеночная недостаточность носит врожденный характер. В контрольную группу (КГ) вошли 30 подростков (14 юношей, 16 девушек) с нормативным соматическим статусом без психических, церебрально-травматических и тяжелых инфекционных



**Рис. 1.** Схема концептуальной модели исследования пространственно-ориентационных факторов узнавания изображения лиц у подростков с портальной гипертензией

заболеваний головного мозга (по результатам заключений ежегодной диспансеризации на май 2023 г.). Исследовательские группы уравнивали по полу, возрасту и социальному статусу.

Методы исследования представлены в двух группах: эмпирические методы и методы количественной и качественной обработки данных.

Эмпирические методы включали в себя следующие: метод клинической структурированной беседы; архивный метод, предполагающий анализ анамнестических данных; метод функциональных нейропсихологических проб, представленный Кембриджским тестом на запоминание лиц [13]; пробы на исследование латеральной организации высших психических функций.

Оценивание показателя лицевого гнозиса осуществляли с использованием Кембриджского теста запоминания лиц для детей (CFMT-C) [19]. Данный тест является адаптацией первоначальной версии Кембриджского теста запоминания лиц, предназначенного для прохождения взрослыми. Лицевые стимулы были выбраны из тех, что использовали в версии CFMT для взрослых. Лица представляли собой фотографии в оттенках серого, на которых дети позировали с нейтральным выражением лица. Каждое лицо было сфотографировано в одних и тех же трех ракурсах и условиях освещения и обрезано, чтобы удалить линию роста волос и любые дефекты лица. Процедура предъявления включала в себя пять этапов.

#### Этап 1

Подросткам было предложено запомнить последовательно шесть лиц в трех ракурсах с лимитированным временем предъявления (3 с); далее каждое из трех изображений было представлено рядом с двумя лицами — отвлекающими факторами, и подростки должны были выбрать, какое лицо они только что видели.

За каждый правильный ответ испытуемому присваивался один балл (максимум 18).

#### Этап 2

На данном этапе подростки сначала просматривали один скриншот, показывающий шесть лиц-мишеней в анфас, в течение 20 с, затем выполняли 30 заданий, каждое из которых состояло из просмотра одного лица-мишени и двух лиц — отвлекающих факторов; подростки выбирали, какое из трех лиц, по их мнению, было одним из шести целевых, предложенных им для запоминания. За каждый правильный ответ испытуемому присваивали один балл (максимум 30).

#### Этап 3

На данном этапе подростки тоже сначала просматривали один скриншот, показывающий шесть лиц-мишеней в анфас, в течение 20 с и затем выполняли 24 задания, каждое из которых состояло из просмотра одного лица-мишени и двух лиц — отвлекающих факторов (важно отметить, что изображения как цели, так и отвлекающего фактора были замаскированы с заранее заданной степенью гауссовского шума, что делает вынесение решения более трудным, чем на этапе 2). За каждый правильный ответ испытуемому присваивали один балл (максимум 34).

#### Этап 4

Подросткам было необходимо по фрагменту фотоизображения идентифицировать соответствующее ему целое фотоизображение, которое в каждом предъявлении было представлено рядом с двумя лицами — отвлекающими факторами; по мере прохождения пробы площадь фрагмента увеличивали: от одного из 12 фрагментов до 12 из 12 фрагментов.

#### Этап 5

На заключительном этапе подросткам предлагалось запомнить последовательно 10 изображений лиц, расположенных под разным углом наклона, каждое из

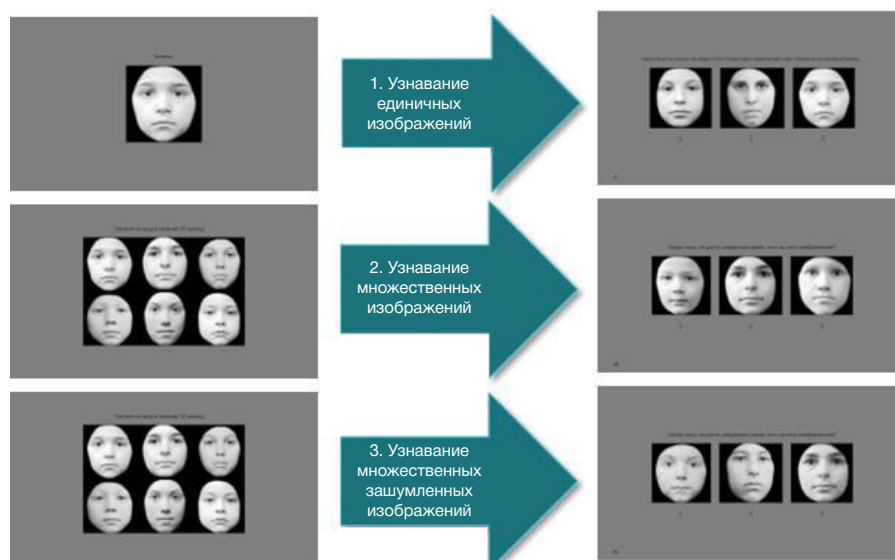


Рис. 2. Примеры стимульных изображений на этапах исследования лицевого гнозиса

которых в последующем было представлено рядом с двумя лицами — отвлекающими факторами, и подросткам нужно было выбрать то лицо, которое они только что видели. За каждый правильный ответ испытуемому присваивали один балл (максимум 10).

В результате оценку осуществляли по следующим параметрам: узнавание единичных фотоизображений лиц; узнавание шести фотоизображений лиц; узнавание шести зашумленных фотоизображений лиц; узнавание фрагментированных фотоизображений лиц; узнавание единичных перевернутых фотоизображений лиц (рис. 2).

Для анализа показателей глазодвигательных реакций испытуемых во время прохождения тестирования на узнавание изображений лиц использовали окулограф модель GP3 HD (Tobii Eye; Швеция). Данную модель аппарата используют для отслеживания движения глаз на основе сенсора машинного зрения и процессора обработки изображения. Она имеет следующие характеристики: точность регистрации — 0,5–1,0 градусов; рабочая частота — 150 Гц; калибровка — по 5–9 точкам; область свободного перемещения головы ограничена в пределах 35 см по горизонтали, 22 см — по вертикали, а также не менее 15 см в каждую сторону относительно откалиброванного положения. Анализировали следующие параметры: общее число фиксации на фотоизображении-стимуле; число фиксации в верхней половине фотоизображения-стимула; число фиксации в нижней половине фотоизображения-стимула; число фиксации в левой половине фотоизображения-стимула; число фиксации в правой половине фотоизображения-стимула; число фиксации в зоне «глаза–нос» фотоизображения-стимула; число фиксации в зоне «рот–нос» фотоизображения-стимула; число фиксации внутри овала лица фотоизображения-стимула; число фиксации за пределами овала лица фотоизображения-стимула; суммарное время фиксации на фотоизображении-стимуле.

Анализ профиля латеральной организации функций осуществляли с использованием следующих проб определения моторных и сенсорных предпочтений [3, 7]: кистевая проба («замок») — сверху будет расположен палец ведущей руки; поза Наполеона — сверху будет расположена кисть ведущей руки; проба «Телефонная трубка» — определение руки, которая потянется к телефонной трубке, и уха, к которому будет приложена

трубка; проба «Посмотри в подзорную трубу» — определение руки, которая потянется к подзорной трубе, и глаза, к которому будет прислонена труба.

Для количественной и качественной обработки данных использовали методы описательной, сравнительной и многомерной статистики. Математический анализ и интерпретацию данных проводили с помощью описательной статистики. С целью проведения сравнительного анализа способности к узнаванию статичных изображений лиц по фиксационным характеристикам глазодвигательных реакций и показателей узнавания изображения лиц в зависимости от пространственно-ориентационных характеристик (угла наклона, полноты изображения) в группе пациентов с портальной гипертензией и группе лиц с нормативным соматическим статусом использовали непараметрический критерий U Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ) для независимых выборок (так как распределение исследуемых признаков не соответствует критериям нормальности). Для определения факторной структуры узнавания статичных изображений лиц по фиксационным характеристикам глазодвигательных реакций и точности узнавания изображения лиц в зависимости от пространственно-ориентационных характеристик была проведена процедура факторного анализа с varimax-вращением для определения факторной структуры параметров глазодвигательных реакций при узнавании изображений лиц с учетом их пространственно-ориентационных характеристик. Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета прикладных программ Statistica 13.0 (StatSoft; США).

Дизайн исследования представлен на рис. 3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате исследования показателей лицевого гнозиса с помощью CFMT-C в группе подростков с портальной гипертензией и в группе подростков с нормативным соматическим статусом установлено, что точность узнавания при предъявлении единичных, множественных и множественных зашумленных изображений имеет значимую тенденцию снижения у подростков с портальной гипертензией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом (таблица).

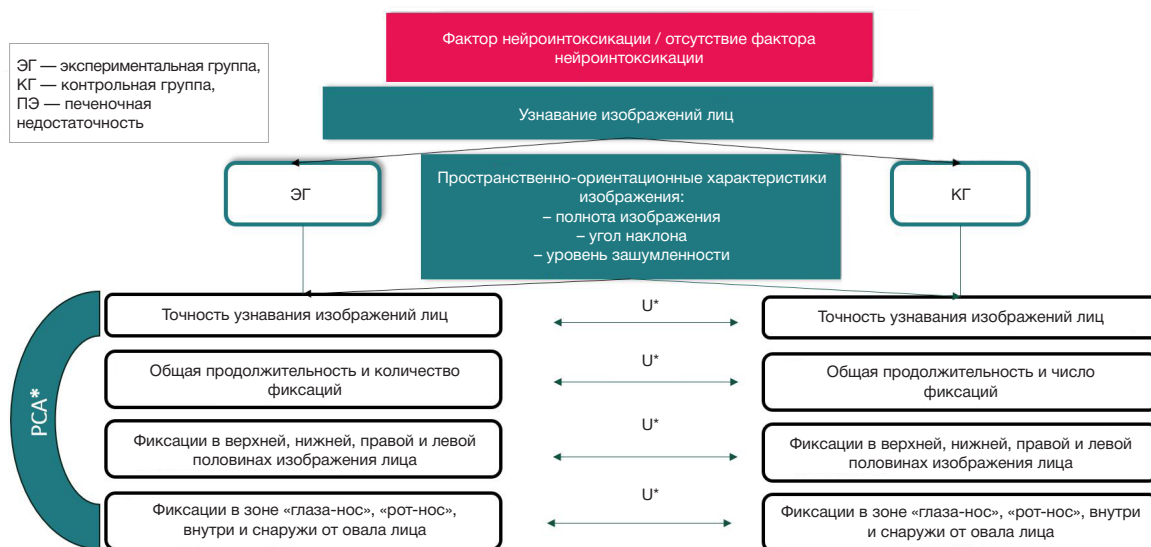


Рис. 3. Схема дизайна исследования пространственно-ориентационных факторов узнавания изображения лиц у подростков с портальной гипертензией

Выявлены статистически значимые различия между показателями лицевого гнозиса в пробе на узнавание единичных изображений лиц в группе пациентов с портальной гипертензией подросткового возраста и в группе лиц с нормативным соматическим статусом подросткового возраста (\* $p = 0,001$ ).

Также выявлены различия между показателями лицевого гнозиса в пробе на узнавание группы изображений лиц (\* $p = 0,012$ ) и в пробе на узнавание группы зашумленных изображений лиц (\* $p = 0,003$ ) в группе пациентов с портальной гипертензией подросткового возраста и в группе лиц с нормативным соматическим статусом подросткового возраста.

Показатели лицевого гнозиса при предъявлении единичного изображения (точность узнавания), группы изображений лиц (точность узнавания) и группы зашумленных изображений лиц (точность узнавания) имеют значимую тенденцию снижения у пациентов с портальной гипертензией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом.

Следующим этапом была оценка фиксационных характеристик (общее число фиксаций, суммарная продолжительность фиксации, число фиксаций в верхней и нижней половинах изображения лица, число фиксаций на правой и левой половинах изображения лица, число фиксаций в зонах «глаза–нос» и «нос–рот», число фиксаций внутри овала лица на фотоизображении и за

его пределами) на предъявляемых изображениях-стимулах в группе подростков с портальной гипертензией и в группе лиц с нормативным соматическим статусом того же возраста.

Выявлены статистические значимые различия между общим числом фиксаций на изображениях-стимулах в пробах на узнавание единичных изображений лиц (\* $p = 0,001$ ), группы изображений лиц (\* $p = 0,015$ ), группы зашумленных изображений лиц (\* $p = 0,009$ ) в группе пациентов с портальной гипертензией подросткового возраста и группе подростков с нормативным соматическим статусом. Выявлены также статистически значимые различия между параметром общей продолжительности фиксаций в пробах на узнавание единичных (\* $p = 0,035$ ), группы зашумленных (\* $p = 0,005$ ) и единичных перевернутых (\* $p = 0,049$ ) изображений лиц в группе пациентов с портальной гипертензией подросткового возраста и в группе подростков с нормативным соматическим статусом (рис. 4).

Показатели общего числа фиксаций на изображениях-стимулах при предъявлении единичного изображения, группы изображений лиц, группы зашумленных изображений лиц имеют значимую тенденцию повышения у пациентов-подростков с портальной гипертензией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом. Показатели общей продолжительности фиксаций на изображениях-

Таблица. Показатели средних значений точности узнавания лиц подростками с портальной гипертензией и нормативным соматическим статусом

Пробы	Мода (Мо)		Медиана (Ме)		Среднее значение ± стандартное отклонение (M ± σ)	
	ЭГ	КГ	ЭГ	КГ	ЭГ	КГ
1	0,83 0,89 0,94	0,94	0,89	0,94	0,87 ± 0,09	0,93 ± 0,09
2	0,53 0,57 0,73	0,67	0,73	0,83	0,71 ± 0,07	0,79 ± 0,07
3	0,79	0,92	0,75	0,83	0,72 ± 0,06	0,76 ± 0,07
4	0,42	0,33	0,33	0,33	0,28 ± 0,02	0,26 ± 0,02
5	0,8	0,80 0,90 1,0	0,8	0,8	0,75 ± 0,08	0,78 ± 0,07

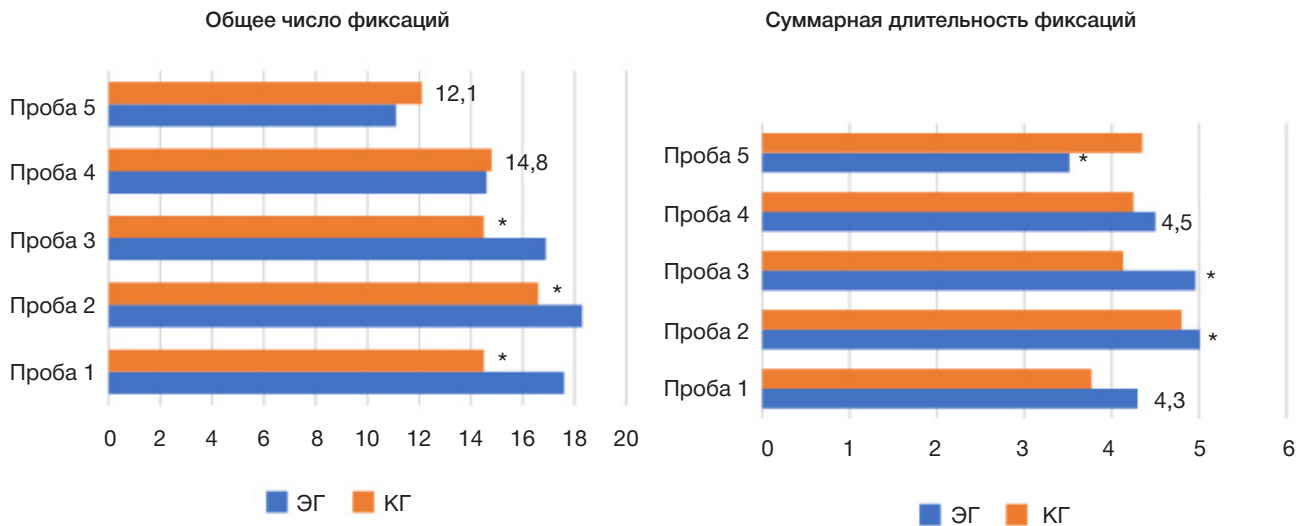


Рис. 4. Показатели средних значений общего числа и общей продолжительности фиксации взгляда при узнавании изображений лиц

стимулах при предъявлении единичных изображений лиц и группы зашумленных изображений лиц имеют значимую тенденцию повышения у пациентов-подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом. При предъявлении единичных перевернутых изображений, напротив, имеют значимую тенденцию к понижению у подростков с печеночной энцефалопатией при повышении у подростков с нормативным соматическим статусом.

Следующим этапом осуществляли оценку показателей фиксации взгляда с учетом их расположения на предъявляемых стимульных изображениях по критерию их распределения по вертикальной оси (в верхней/нижней половине изображения), а также с учетом их распределения по горизонтальной оси (в правой/левой половине изображения).

В результате исследования выявлены статистически значимые различия между числом фиксации в верхней половине изображения-стимула в пробах на узнавание единичных изображений лиц ( $*p = 0,034$ ), группы изображений лиц ( $*p = 0,001$ ), группы зашумленных изображений лиц ( $*p = 0,011$ ) в группе подростков с печеночной энцефалопатией и в группе подростков с нормативным соматическим статусом. Выявлены также статистически значимые различия между числом фиксации в нижней половине изображения-стимула в пробе на узнавание группы зашумленных изображений лиц ( $*p = 0,006$ ) в группе пациентов с печеночной энцефалопатией и в группе лиц с нормативным соматическим статусом подросткового возраста. Выявлены статистически значимые различия между числом фиксации в правой половине изображения-стимула при узнавании единичных перевернутых изображений лиц ( $*p = 0,004$ ) в группе пациентов с печеночной энцефалопатией и в группе подростков с нормативным соматическим статусом (рис. 5).

Показатели числа фиксации на верхней половине изображений-стимулов при предъявлении единичного изображения, группы изображений лиц, группы зашумленных изображений лиц имеют значимую тенденцию повышения у пациентов-подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом. Число фиксации в нижней половине изображения при узнавании множественных зашумленных изображений

и число фиксации в верхней половине изображения при узнавании единичных, множественных и множественных зашумленных изображений имеет значимую тенденцию повышения у подростков с портальной гипертензией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом. Показатели числа фиксации в правой половине изображений-стимулов при предъявлении единичных перевернутых изображений лиц имеют значимую тенденцию понижения у пациентов-подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом (рис. 6).

При анализе числа фиксации в зоне «глаза–нос» и в зоне «рот–нос» стимульного изображения выявлены статистически значимые различия между числом фиксации в зоне «рот–нос» при узнавании единичных перевернутых изображений лиц ( $*p = 0,006$ ) в группе пациентов с печеночной энцефалопатией и в группе подростков с нормативным соматическим статусом. Таким образом, показатели числа фиксации в зоне «рот–нос» изображений-стимулов при предъявлении единичных перевернутых изображений лиц имеют значимую тенденцию понижения у пациентов-подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом.

В ходе процедуры факторного анализа структуры параметров глазодвигательных реакций при узнавании изображений лиц с учетом их пространственно-ориентационных характеристик у подростков с портальной гипертензией полная объясненная дисперсия показала наличие 12 факторов, объясняющих 87,3% дисперсии, однако после анализа графика нормализованного простого стресса нами было принято решение взять в анализ 1–5,7 факторов, объясняющих 73,6% дисперсии, как более значимые (рис. 7).

Параметры содержательного фактора имеют особую диагностическую ценность для анализа нейроинтоксикационного воздействия: точность узнавания определяется распределением фиксации внутри овала лица. Пространственно-ориентационный фактор свидетельствует о том, что узнавание перевернутых изображений обеспечивается оценкой пространственных сравнительных отношений за пределами овала лица. Снижение общей продолжительности фиксации взаимосвязано с увеличением точности узнавания, о чем свидетельствует содержание временного фактора.



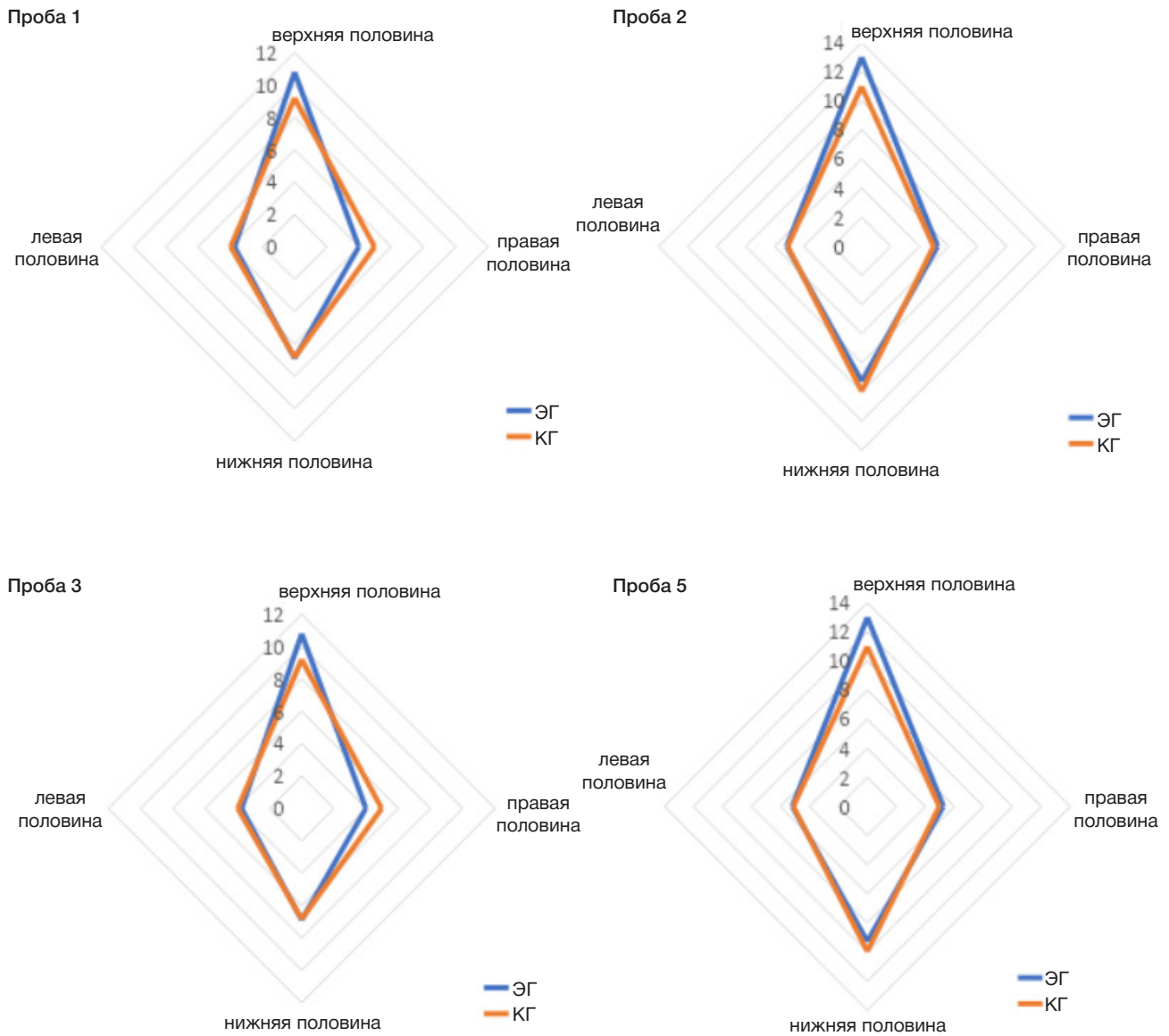


Рис. 5. Показатели средних значений распределения фиксаций взгляда в группах подростков по относительно вертикальной (в правой/левой половине изображения) и горизонтальной (в верхней/нижней половине изображения) осях

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате исследования установлено, что точность узнавания при предъявлении единичного изображения, группы изображений лиц, группы зашумленных изображений лиц имеет значимую тенденцию снижения у пациентов с проявлениями печеночной энцефалопатии в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом.

Опираясь на результаты эмпирического исследования общего числа фиксаций на изображениях-стимулах, мы можем констатировать тенденцию повышения показателя у подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с аналогичными показателями у подростков с нормативным соматическим статусом при предъявлении единичных изображений лиц, группы изображений лиц, группы зашумленных изображений лиц.

Основываясь на результатах анализа параметра суммарной продолжительности фиксаций, мы можем отметить тенденцию его повышения у пациентов-подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с аналогичным показателем у подростков с нормативным

соматическим статусом при предъявлении единичных изображений лиц и группы зашумленных изображений лиц. При предъявлении единичных перевернутых изображений демонстрируется обратная закономерность.

Эмпирическое исследование и сравнительный анализ числа фиксаций в верхней половине изображений-стимулов позволяют нам сделать вывод о наличии тенденции к увеличению данного параметра при предъявлении единичного изображения, группы изображений лиц, группы зашумленных изображений лиц у пациентов с печеночной энцефалопатией в подростковом возрасте по сравнению с тем же показателем у подростков с нормативным соматическим статусом.

Сравнительный анализ числа фиксаций в нижней половине изображений-стимулов позволяет утверждать, что имеется тенденция к увеличению рассматриваемого параметра у подростков с печеночной энцефалопатией по сравнению с аналогичным параметром у подростков с нормативным соматическим статусом при предъявлении группы зашумленных изображений лиц.

На основании эмпирического исследования числа фиксаций в правой половине изображений-стимулов

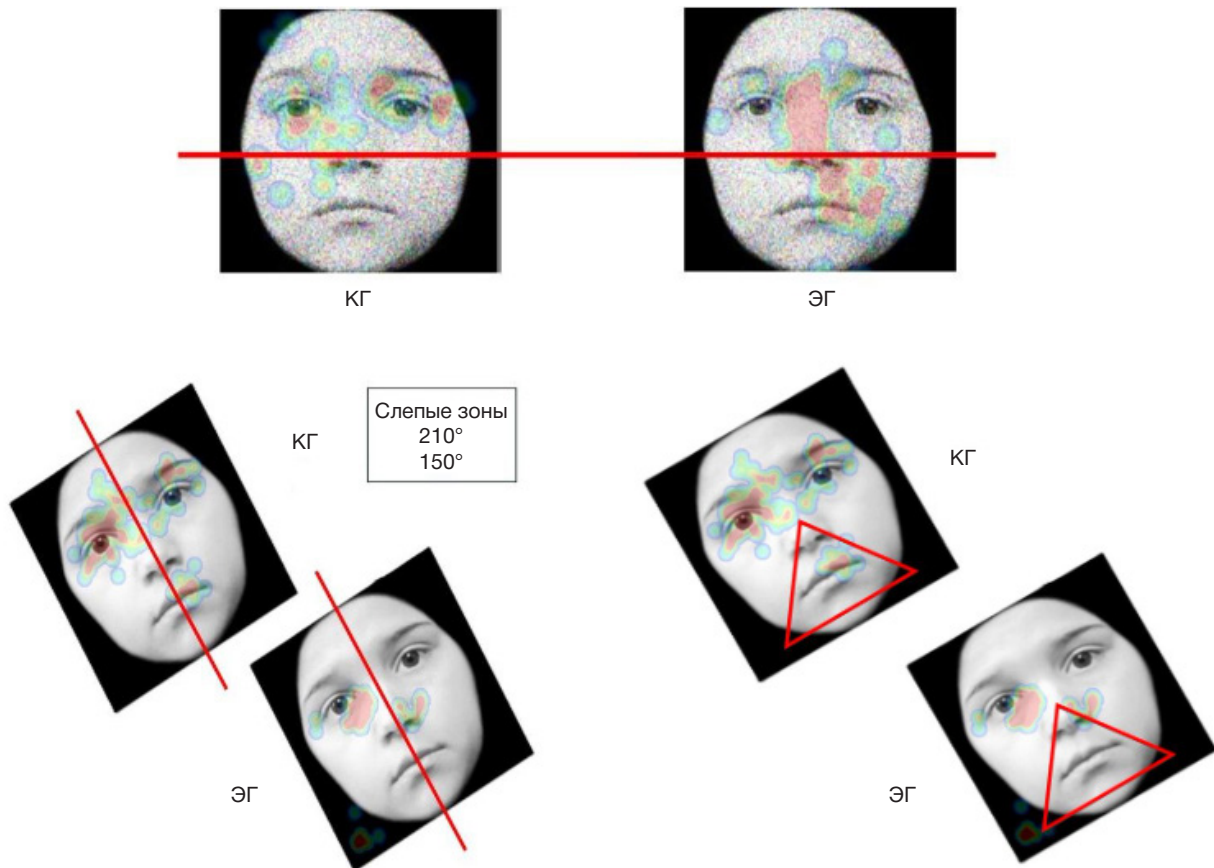


Рис. 6. Примеры тепловых карт распределения фиксаций взгляда в группах подростков по относительно вертикальной (в правой/левой половине изображения) и горизонтальной (в верхней/нижней половине изображения) осях

мы могли отследить тенденцию к понижению данного показателя при предъявлении пробы на узнавание единичных перевернутых изображений лиц у пациентов с печеночной энцефалопатией подросткового возраста по сравнению с аналогичным показателем у подростков с нормативным соматическим статусом.

Эмпирическое исследование числа фиксаций в зоне «рот–нос» позволяет констатировать наличие тенденции к понижению анализируемого параметра при предъявлении пробы на узнавание единичных перевернутых изображений лиц у пациентов-подростков с печеночной энцефалопатией в сравнении с соответствующим показателем у подростков с нормативным соматическим статусом.

Таким образом, результаты проведенного исследования согласуются с ранее полученными в рамках изучения параметров глазодвигательных реакций при восприятии изображений лиц — цикличностью и регулярностью глазодвигательной активности [9, 10]. Процессы идентификации и узнавания изображений лиц характеризуются распределением фиксаций преимущественно внутри овала лица в зоне «глаза–нос».

На основании проведенного факторного анализа в группе пациентов с печеночной энцефалопатией мы выделили шесть факторов. В первый фактор вошло общее число фиксаций, зарегистрированных на изображениях-стимулах, в пробах 1–4, число фиксаций в верхней половине изображения-стимула в пробах 1–3, число фиксаций в нижней половине изображения-стимула в пробах 1–2, в зоне «глаза–нос», внутри и снаружи от овала лица, в левой половине изображения-стимула в пробе 1, а также точность узнавания в пробе 4, данному фактору мы дали название «фактор фиксационных характеристик».

Во второй фактор вошли фиксации снаружи, внутри от овала лица, в правой половине на изображениях-стимулах в пробе 5 и точность узнавания в пробах 5 и 4; данный фактор мы назвали «фактор угла наклона и полноты изображения». В третий фактор были помещены общая продолжительность фиксаций в пробах 1–5 и фиксации снаружи от овала лица на изображениях-стимулах в пробе 1; данный фактор получил название «фактор общей продолжительности фиксаций». В четвертый фактор вошли фиксации в зоне «нос–рот», внутри овала лица, в левой половине изображения-стимула в пробе 1 и точность узнавания в пробе 3 данный фактор мы назвали «фактор фиксационных характеристик при узнавании единичных изображений лиц». В пятый фактор вошли фиксации в левой, нижней и правой половине, в зоне «нос–рот», внутри овала лица, общее число фиксаций, зарегистрированные на изображении-стимуле, в пробе 5; данный фактор мы назвали «фактор фиксационных характеристик при узнавании перевернутых изображений». В шестой фактор были помещены фиксации в верхней половине и в зоне «глаза–нос» на изображении-стимуле в пробе 5 и точность узнавания в пробе 5; данный фактор мы назвали «фактор угла наклона изображения лица».

## ВЫВОДЫ

На основании полученных результатов были сделаны следующие выводы: узнавание единичных, множественных, множественных зашумленных изображений лиц подростками с портальной гипертензией сопровождается большим числом усилий (проявляющихся в увеличении как числа фиксаций взгляда, так и их продолжительности),

1	2	3
<b>Содержательный фактор</b>	<b>Пространственно-ориентационный фактор</b>	<b>Временной фактор</b>
<p>общее число фиксации в пробе 3 — 0,936;  общее число фиксации в пробе 2 — 0,906;  общее число фиксации в пробе 1 — 0,886;  общее число фиксации в пробе 4 — 0,878;  фиксации в верхней половине в пробе 2 — 0,874;  фиксации в верхней половине в пробе 1 — 0,843;  фиксации в верхней половине в пробе 3 — 0,838;  фиксации в нижней половине в пробе 2 — 0,846;  фиксации в нижней половине в пробе 1 — 0,774;  фиксации в зоне "глаза-нос" в пробе 1 — 0,815;  фиксации внутри овала лица в пробе 1 — 0,692;  фиксации в левой половине в пробе 1 — -0,489;  точность узнавания в пробе 4 — 0,631</p>	<p>фиксации снаружи от овала лица в пробе 5 — 0,828;  фиксации внутри от овала лица в пробе 5 — 0,439;  фиксации в правой половине в пробе 5 — 0,429;  точность узнавания в пробе 4 — 0,426;  точность узнавания в пробе 5 — -0,465</p>	<p>общее время фиксации в пробах 1 — -0,807;  общее время фиксации в пробе 2 — -0,780;  общее время фиксации в пробе 3 — -0,672;  общее время фиксации в пробе 5 — -0,454;  общее время фиксации в пробе 4 — -0,449</p>

**Рис. 7.** Факторная структура параметров глазодвигательных реакций при узнавании изображений лиц с учетом их пространственно-ориентационных характеристик у подростков с портальной гипертензией

чем подростками с нормативным соматическим статусом. Точность узнавания единичных, множественных и множественных зашумленных изображений лиц при токсическом влиянии при проявлении печеночной энцефалопатии у подростков с портальной гипертензией значимо снижается в сравнении с подростками с нормативным соматическим статусом. На основании факторного анализа выделено три фактора с наибольшей нагрузкой (содержательный фактор, пространственно-ориентационный фактор и временной фактор), позволяющие сделать основной вывод о том, что точность узнавания изображений лиц определяется распределением фиксации внутри овала лица при необходимости оценки

пространственных сравнительных отношений за пределами овала лица в случае изменения его пространственно-ориентационных характеристик (при наклоне). Точность узнавания взаимосвязана с общей продолжительностью фиксации. Практическая значимость данной работы заключается в выявлении диагностических предикторов, с одной стороны, способствующих выявлению симптомов печеночной энцефалопатии у подростков с портальной гипертензией на наиболее ранних стадиях ее развития; с другой стороны — позволяющих отслеживать изменение выраженности симптомов печеночной энцефалопатии на разных этапах лечения (в том числе после оперативного вмешательства).

## Литература

- Pimpin L, Cortez-Pinto H, Negro F, Corbould E, Lazarus J, Webber L, Sheron N. Easl hepatealth Steering Committee. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *J Hepatol.* 2018; 69 (3): 718–35.
- Blachier M, Leleu H, Peck-Rado-savjevic M, et al. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013; 58 (3): 593–608.
- Покровский В. И., Тотолян А. А., редакторы. Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор. 11 выпуск. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2018; 112 с.
- Reis E, Coolen T, Loll V. MRI Findings in acute hyperammonemic encephalopathy: three cases of different etiologies. *Journal of the Belgian Society of Radiology.* 2020; 104 (1): 2–5.
- Визель Т. Г. Основы нейропсихологии. Теория и практика. 2-е изд. М.: АСТ, 2021; 544 с.
- Микадзе Ю. В. Нейропсихология детского возраста: теория и методы нейропсихологии детского возраста. Москва [и др.]: Питер, 2008; 284 с.
- Лурия А. Р. Основы нейропсихологии. М.: Академия, 2008; 380 с.
- Эльконин Д. Б. Детская психология. М.: Академия, 2011; 383 с.
- Барабанщиков В. А., Ананьева К. И., Харитонов В. Н. Организация движений глаз при восприятии изображений лица. *Экспериментальная психология.* 2009; 2: 31–60.
- Барабанщиков В. А., Жегалло А. В. Окуломоторная активность при восприятии динамических и статических выражений лица. *Экспериментальная психология.* 2018; 11 (1): 5–34.
- Дамулин И. В. Минимальная печеночная энцефалопатия: современные клинические и патогенетические аспекты. *Терапевтический архив.* 2018; 90 (2): 89–93.
- Романова С. В. Неврологические синдромы в ранней диагностике печеночной энцефалопатии при стеатогепатозе (диссертация). Саратов, 2010; 22 с.
- Greenberg DA, Aminoff MJ, Simon RP. *Clinical Neurology.* Fifth edition. Chapter 1: Disorders of Consciousness. New York etc.: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2022; p. 1–70.
- Häussinger D, Butz M, Schnitzler A, Görg B. Pathomechanisms in hepatic encephalopathy. *Biological Chemistry.* 2021; 402 (9): 1087–102.
- Montagnese S. Disruption of smooth pursuit eye movements in cirrhosis: Relationship to hepatic encephalopathy and its treatment. *Hepatology.* 2005; 42 (4): 81.
- Montemira-Orozco D, et al. Changes in early visual perception in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Ann Hepatol.* 2022; 27: 3.
- Прокопенко С. В., Можейко Е. Ю., Родиков М. В., Швецова И. Н. Исследование особенностей зрительно-пространственного гнозиса у здоровых лиц в разные возрастные периоды жизни с использованием авторского метода трехмерного узнавания предмета. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015; 8–5: 916–20.
- Ярбус А. Л. Роль движений глаз в процессе зрения. Ленинград: Наука, 1965; 173 с.
- Croydon A, Pimperton H, Ewing L, Duchaine BC, Pellicano E. The Cambridge Face Memory Test for Children (CFMT-C): a new tool for measuring face recognition skills in childhood. *Neuropsychologia.* 2014; 62: 7.

## References

- Pimpin L, Cortez-Pinto H, Negro F, Corbould E, Lazarus J, Webber L, Sheron N. Easl hepahealth Steering Committee. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *J Hepatol.* 2018; 69 (3): 718–35.
- Blachier M, Leleu H, Peck-Rado-savljevic M, et al. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013; 58 (3): 593–608.
- Pokrovskij VI, Totolyan AA, redaktory. *Virusnye gepatity v Rossijskoj Federacii. Analiticheskij obzor. 11 vypusk.* SPb.: FBUN NIIJeM imeni Pastera, 2018; 112 s. Russian.
- Reis E, Coolen T, Loll V. MRI Findings in acute hyperammonemic encephalopathy: three cases of different etiologies. *Journal of the Belgian Society of Radiology.* 2020; 104 (1): 2–5.
- Vizel TG. *Osnovy nejropsihologii. Teorija i praktika. 2-e izd.* M.: AST, 2021; 544 s. Russian.
- Mikadze YuV. *Nejropsihologija detskogo vozrasta: teorija i metody nejropsihologii detskogo vozrasta.* Moskva [i dr.]: Piter, 2008; 284 s. Russian.
- Lurija AR. *Osnovy nejropsihologii.* M.: Akademija, 2008; 380 s. Russian.
- Jelkonin DB. *Detskaja psihologija.* M.: Akademija, 2011; 383 s. Russian.
- Barabanshnikov VA, Ananeva KI, Haritonov VN. Organizacija dvizhenij glaz pri vosprijatii izobrazhenij lica. *Jeksperimental'naja psihologija.* 2009; 2: 31–60. Russian.
- Barabanshnikov VA, Zhegallo AV. Okulomotornaja aktivnost' pri vosprijatii dinamičeskikh i statičeskikh vyrazhenij lica. *Jeksperimental'naja psihologija.* 2018; 11 (1): 5–34. Russian.
- Damulin IV. Minimal'naja pechenochnaja jencefalopatija: sovremennye kliničeskie i patogeničeskie aspekty. *Terapevtičeskij arhiv.* 2018; 90 (2): 89–93. Russian.
- Romanova SV. Nevrologičeskie sindromy v rannej diagnostike pechenočnoj jencefalopatii pri steatogepatoze (discertacija). Saratov, 2010; 22 s. Russian.
- Greenberg DA, Aminoff MJ, Simon RP. *Clinical Neurology. Fifth edition.* Chapter 1: Disorders of Consciousness. New York etc.: Lange Medical Books/McGraw–Hill, 2022; p. 1–70.
- Häussinger D, Butz M, Schnitzler A, Görg B. Pathomechanisms in hepatic encephalopathy. *Biological Chemistry.* 2021; 402 (9): 1087–102.
- Montagnese S. Disruption of smooth pursuit eye movements in cirrhosis: Relationship to hepatic encephalopathy and its treatment. *Hepatology.* 2005; 42 (4): 81.
- Montemira-Orozco D, et al. Changes in early visual perception in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Ann Hepatol.* 2022; 27: 3.
- Prokopenko SV, Mozhejko EYu, Rodikov MV, Shvecova IN. Issledovanie osobennostej zritel'no-prostranstvennogo gnozisa u zdorovyh lic v raznye vozrastnye periody zhizni s ispol'zovaniem avtorskogo metoda trehmernogo uznnavanija predmeta. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij.* 2015; 8–5: 916–20. Russian.
- Jarbus AL. *Rol' dvizhenij glaz v processe zrenija.* Leningrad: Nauka, 1965; 173 s. Russian.
- Croydon A, Pimperton H, Ewing L, Duchaine BC, Pellicano E. The Cambridge Face Memory Test for Children (CFMT-C): a new tool for measuring face recognition skills in childhood. *Neuropsychologia.* 2014; 62: 7.

## ПРОТОКОЛ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОСТЕОПАТА И СТОМАТОЛОГА В ПРОЦЕССЕ ОРТОДОНТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

И. А. Аптекар<sup>1</sup>✉, Е. В. Абрамова<sup>1,2</sup>, М. А. Постников<sup>5</sup>, И. С. Копецкий<sup>3</sup>, Д. А. Еремин<sup>3</sup>, Е. М. Постникова<sup>4</sup>, Э. Б. Полуянова<sup>5</sup>, В. И. Аптекар<sup>2</sup>, И. О. Муравьев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тюменский институт мануальной медицины, Тюмень, Россия

<sup>2</sup> Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень, Россия

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

<sup>4</sup> Первый московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>5</sup> Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Современное ортодонтическое лечение носит комплексный характер и включает не только использование съемных и несъемных ортодонтических конструкций, но и оперативное лечение (экстракцию постоянных зубов) в сложных случаях. Необходимы тщательное обследование и подготовка пациентов перед ортодонтическим этапом лечения для профилактики отрицательных результатов и осложнений коррекции зубочелюстных аномалий и деформаций, как у детей, так и у взрослых. Результаты многих исследований указывают на взаимосвязь между ортодонтическим лечением и формированием соматических дисфункций. Целью работы было разработать алгоритм коррекции остеопатических нарушений, который может быть внедрен в практику междисциплинарного взаимодействия врача-osteopата и стоматолога-ортодонта для повышения качества специализированной ортодонтической медицинской помощи.

**Ключевые слова:** ортодонтическое лечение, остеопатическая коррекция, соматическая дисфункция, междисциплинарное взаимодействие

**Благодарности:** авторы благодарят сотрудников кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России за помощь в подготовке материалов и дизайна рукописи.

**Вклад авторов:** И. А. Аптекар — дизайн и планирование исследования, анализ литературы, интерпретация данных, подготовка рукописи; Е. В. Абрамова — анализ литературы, сбор данных в сфере остеопатии, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи; М. А. Постников — редактирование; И. С. Копецкий, Е. М. Постникова, Э. Б. Полуянова — подготовка рукописи; Д. А. Еремин — анализ результатов; В. И. Аптекар, И. О. Муравьев — проведение клинических исследований, анализ литературы, интерпретация данных, подготовка рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ» (протокол № 4/2 от 19 апреля 2021 г.). Получено добровольное информированное согласие на участие пациентов в научном исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Игорь Александрович Аптекар  
ул. Попова, д. 7а, г. Тюмень, 625048, Россия; aptekar72@mail.ru

**Статья получена:** 15.01.2024 **Статья принята к печати:** 28.02.2024 **Опубликована онлайн:** 14.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.011

## INTERDISCIPLINARY APPROACH TO ORTHODONTIC TREATMENT INVOLVING AN OSTEOPATH AND A DENTIST (PROTOCOL)

Aptekar IA<sup>1</sup>✉, Abramova EV<sup>1,2</sup>, Postnikov MA<sup>5</sup>, Kopetskiy IS<sup>3</sup>, Eremin DA<sup>3</sup>, Postnikova EM<sup>4</sup>, Poluianova EB<sup>5</sup>, Aptekar VI<sup>2</sup>, Muravyov IO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Tyumen Institute of Manual Medicine, Tyumen, Russia

<sup>2</sup> Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

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

<sup>4</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>5</sup> Samara State Medical University, Samara, Russia

Contemporary approaches to orthodontic treatment are complex: in complicated cases, they combine removable/fixed orthodontic appliances and surgical treatment, i.e., extraction of permanent teeth. In order to prevent negative outcomes and complications that can follow correction of dentofacial abnormalities and deformities, children and adults alike need to be thoroughly examined and prepared to the orthodontic stage of treatment. Many studies point to the relationship between orthodontic treatment and development of somatic dysfunctions. The purpose of this work was to develop an osteopathic disorders correction algorithm that can be introduced to an interdisciplinary protocol uniting efforts by an osteopath and an orthodontist with the aim to improve the quality of specialized orthodontic medical care.

**Keywords:** orthodontic treatment, osteopathic correction, somatic dysfunction, interdisciplinary interaction

**Acknowledgements:** authors thank Department of Restorative Dentistry of the Samara State Medical University for assistance in preparation of the materials and design of the manuscript.

**Author contribution:** Aptekar IA — study design and planning, literature analysis, data interpretation, manuscript authoring; Abramova EV — literature analysis, osteopathic data collection, data analysis and interpretation, manuscript authoring; Postnikov MA — editing; Kopetskiy IS, Postnikova EM, Poluianova EB — manuscript authoring; Eremin DA — analysis of the results; Aptekar VI, Muravyov IO — clinical trials, literature analysis, data interpretation, manuscript authoring.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Research Centre for Medical Genetics (protocol № 4/2 dated 19 April 2021). The patients submitted the informed consent to participation in scientific research.

✉ **Correspondence should be addressed:** Igor A. Aptekar  
Popova, 7a, Tyumen, 625048, Russia; aptekar72@mail.ru

**Received:** 15.01.2024 **Accepted:** 28.02.2024 **Published online:** 14.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.011

Анализ литературы свидетельствует о большой вариабельности зубочелюстных аномалий у населения Российской Федерации. Большинство исследователей считают, что частота аномалий увеличивается с возрастом и колеблется от 30 до 80% [1–3]. Современное ортодонтическое лечение включает в себя не только изготовление и применение съемных и несъемных ортодонтических аппаратов, но и оперативное лечение в сложных случаях.

По данным литературы, экстракция отдельных зубов позволяет достигнуть множественных устойчивых контактов между зубными рядами и нормализовать функции зубочелюстной системы. При ортодонтическом лечении, в том числе при установке современных брекет-систем, первое место занимает удаление третьих моляров, второе — первых моляров [4–6]. При планировании комплексного лечения пациентов с аномалиями зубочелюстной системы обоснована совместная работы смежных специалистов врачей-стоматологов [7]. Целью в данном случае являются восстановление прикуса и функции зубочелюстной системы и реконструкция эстетических параметров.

С точки зрения остеопатической диагностики этиологическим фактором доминирующей соматической дисфункции в теле человека могут быть соматические дисфункции. Они имеют прямое отношение к анатомическим образованиям, формирующим окклюзию, — так называемые интраокклюзионные соматические дисфункции. Среди доминирующих соматических дисфункций, формирующихся в данном случае, необходимо указать функциональные изменения в виде нарушений венозного оттока из региона головы, вестибулопатий, нарушений функции височно-нижнечелюстного сустава. Это, в свою очередь, влияет на качество жизни пациента [3, 6–9]. Поэтому большое значение имеет профессиональное междисциплинарное взаимодействие ортодонта не только с врачами-стоматологами, но и с врачами других специальностей, в том числе с врачами-osteопатами [8–12].

Показано, что применение остеопатической коррекции в комбинации со стоматологическим и ортодонтическим лечением существенно снижает частоту и выраженность соматических дисфункций региона головы и шеи, статистически значимо повышая качество жизни пациентов [13–17]. Единый протокол междисциплинарного взаимодействия остеопата и стоматолога-ортодонта в литературе не представлен. Отсутствует также алгоритм устранения соматических дисфункций интраокклюзионного типа. Такой алгоритм может включать в себя, во-первых, устранение компрессии как этиологического фактора нарушений со стороны периферической нервной системы и гидродинамических нарушений сосудистого характера, во-вторых, устранение гиперкапнии — маркера нарушения венозного кровообращения и гипоксии, которая является маркером нарушения артериального кровообращения [18].

Цель работы — разработать алгоритм междисциплинарного взаимодействия между врачом-стоматологом и врачом-osteопатом в процессе подготовки пациента к специализированному стоматологическому лечению и комплексной реабилитации после него для уменьшения риска возникновения осложнений в виде головной боли напряжения.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании учитывали данные амбулаторных карт 340 пациентов, обратившихся в клинику за период с 2014

по 2023 г. Критерии включения в исследование: наличие установленного диагноза «головные боли напряжения» (МКБ G44.2). Среди клинических симптомов пациенты отмечали умеренную боль, генерализованного, чаще сдавливающего, сжимающего характера, эпизодическую или хроническую. Головная боль, как правило, начиналась с затылочной или лобной части головы, распространяясь в дальнейшем на все области. Всех пациентов разделили на две группы по 170 пациентов в каждой.

Критерии включения в основную группу: обращение в клинику в период ортодонтического лечения, начавшегося за 1–3 месяца до первичного обращения к врачу-osteопату; наличие жалоб на цефалгию, цервикалгию.

Критерии включения в контрольную группу: наличие жалоб на цефалгию, цервикалгию; отсутствие в анамнезе ортодонтического лечения. Пациентам обеих групп было проведено остеопатическое обследование по стандартизированному протоколу и остеопатическая коррекция выявленных соматических дисфункций.

Критерии исключения: наличие диагноза «головные боли напряжения, связанные с соматической патологией».

Инициация головной боли не связана с такими этиологическими факторами, как физическая активность, активные раздражители в виде света, запаха или звука. Как правило, в отличие от мигрени, головная боль напряжения не сопровождается тошнотой и рвотой. Этиологическими факторами, иницирующими головную боль напряжения, являются следующие: нарушение режима сна и отдыха, эмоциональные стрессы, соматические дисфункции височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) и дегенеративные заболевания позвоночника (в частности шейного отдела), избыточная нагрузка на глаза, особенно при работе с электронными устройствами с избыточно ярким светом экранов. По продолжительности приступы головной боли длятся от 30 мин до 2–3 дней. В клинической практике дифференцируют эпизодическое и хроническое течение головной боли напряжения. У 5% пациентов этой группы в анамнезе имела место экстракция третьего моляра за 1–3 месяца до появления цефалгии.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью методов параметрического и непараметрического анализа. Систематизацию данных и визуализацию результатов осуществляли в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2013. Для статистической обработки использовали программу «SPSS Statistics», версия 2. Критический уровень значимости ( $p$ ) был равен 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выявления доминирующей соматической дисфункции была проведена остеопатическая диагностика по стандартной методике с выявлением доминирующей соматической дисфункции и ведущего биомеханического, нейродинамического и гидродинамического компонента в структуре доминирующей соматической дисфункции [19, 20].

Сравнение показателей остеопатического статуса в основной и контрольной группах до остеопатической коррекции представлено на рис. 1. В остеопатическом статусе всех пациентов, имеющих в анамнезе ортодонтическое лечение, преобладали локальные соматические дисфункции региона головы (сфенобазиллярного синдроза, на локальном уровне — межшовные соматические дисфункции небно-верхнечелюстного шва, скуло-верхнечелюстного шва, межверхнечелюстного шва, лобно-верхнечелюстного шва, височно-нижнечелюстного сустава, внутрикостные

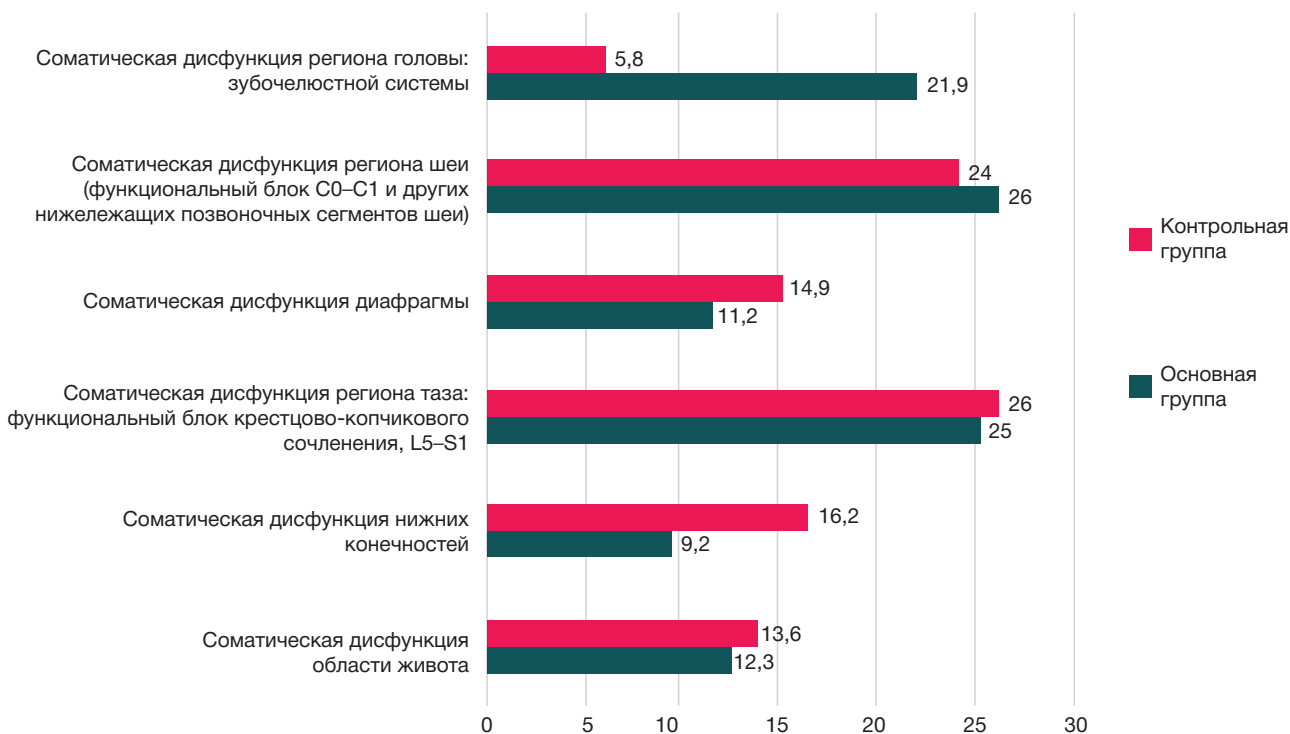


Рис. 1. Сравнение показателей остеопатического статуса в основной и контрольной группах до остеопатической коррекции (%). \* —  $p \leq 0,05$

соматические дисфункции верхней и нижней челюстей). Кроме того, было выявлено на региональном уровне преобладание соматических дисфункций региона шеи (локальная соматическая дисфункция C0–C1 и других нижележащих позвоночных сегментов шеи) и региона таза (локальная соматическая дисфункция L5–S1).

При проведении остеопатической коррекции мануальные техники выбирали персонафицировано для каждого пациента. В процессе оказания остеопатической помощи врач-остеопат соблюдал последовательность от целого к частному, т. е. вначале устраняли глобальные соматические дисфункции, затем наиболее выраженные региональные и только потом локальные. Остеопатическую коррекцию доминирующей соматической дисфункции производили в соответствии с клиническими рекомендациями «Соматическая дисфункция» [19].

У большинства пациентов проводили остеопатические техники в следующем порядке: декомпрессия лонного

сочленения, восстановление подвижности крестцово-копчикового сочленения, восстановление подвижности позвоночного сегмента L5–S1, уравнивание грудобрюшной диафрагмы, уравнивание верхней апертуры, восстановление подвижности позвоночного сегмента C0–C1, декомпрессия сфенобазиллярного синхондроза, коррекция выявленных межшовных соматических дисфункций.

Контрольное остеопатическое обследование пациентов по стандартизированному протоколу пациентам обеих групп было проведено после завершения остеопатической коррекции выявленных соматических дисфункций. Сравнение показателей остеопатического статуса в основной группе до и после остеопатической коррекции представлено на рис. 2.

В процессе повторного тестирования подтверждено статистически значимое снижение частоты выявленных соматических дисфункций, в том числе зубочелюстной



Рис. 2. Сравнение показателей остеопатического статуса в основной и контрольной группах после остеопатической коррекции (%). \* —  $p < 0,05$

системы и региона шеи, а также их клинических проявлений.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе рассматривали влияние удаления первого или третьего моляра как значимого этиологического фактора развития головной боли напряжения. В структуре данного этиологического фактора ведущую роль играет тракционно-компрессионный механизм, возникающий в процессе оказания стоматологической помощи.

Исследовали биомеханические, нейродинамические, гидродинамические функциональные, в ряде случаев — патогенетические цепи адаптации, приводящие к формированию региональных соматических дисфункций, с преобладанием формирования соматической дисфункции региона головы и шеи.

Наличие экстракции первого или третьего моляра в анамнезе и значимая доля соматических дисфункций региона головы, в том числе достоверно — зубочелюстной системы, у пациентов основной группы позволила выявить последовательность адаптационных реакций организма, приводящую к формированию у пациентов головных болей напряжения, инициированных этиологическими факторами интраокклюзионного характера.

Во время проведения экстракции зубов происходит сочетание тракционного и компрессионного влияния на верхнюю или нижнюю челюсти. Это сочетается с компрессионным внутрикостным воздействием на нижнюю или верхнюю челюсти и инициирует аллостатические адаптационные реакции на локальном уровне. В результате формируются соматические дисфункции с доминантной биомеханической составляющей. В первую очередь, со стороны затылочной кости и C1–C2 (двух верхних шейных позвонков).

Поскольку осуществляемое физическое усилие со стороны врача-стоматолога при экстракции моляра верхней челюсти направлено на весь регион головы и шеи, то кроме локальной реакции первоначально возникает дисфункция сфенобазиллярного синхондроза, преимущественно в виде компрессии и торсии разной степени выраженности. При этом возможна аггравация имеющегося паттерна взаимоотношения клиновидной и затылочной костей в сфенобазиллярном синхондрозе с последующим формированием адаптационных реакций, способствующих развитию цефалгий. Биомеханическое воздействие в процессе экстракции на небные кости оказывает влияние через систему межкостных шовных взаимодействий на клиновидную кость, а адаптируясь через соединения со скуловой костью — на височную. Диагностически, после экстракции моляра нижней челюсти, в первую очередь, были выявлены соматические дисфункции височной кости.

Анатомические биомеханические взаимосвязи в процессе адаптации к воздействию механических этиологических факторов формируют компрессию в швах между костями головы и мембранами мозга. По степени выраженности чаще всего диагностируются явления компрессии в скуловых верхнечелюстных, небно-верхнечелюстных, межверхнечелюстных и лобно-верхнечелюстных швах, что вызывает функциональную межшовную соматическую дисфункцию.

Последняя влечет за собой нарушение подвижности мембран мозга. Соматические дисфункции мембран головного мозга влияют на венозное кровообращение

региона головы и ликвородинамику. Это в свою очередь может привести к рефлекторному ответу со стороны центральной нервной системы и автономной нервной системы, повышению артериального и внутричерепного давления. Повышенное внутричерепное давление ведет к раздражению рецепторов нервных окончаний оболочек мозга и, соответственно, является причиной формирования болевых ощущений в регионе головы.

На основании полученных в ходе исследования данных следует предположить, что этиотропным пусковым механизмом формирования адаптационного пути, приводящего к головным болям напряжения после экстракции моляра, является формирование соматической дисфункции сфенобазиллярного синхондроза как адаптационной реакции для сохранения постоянства внутренней среды.

Адаптационная реакция в виде соматической дисфункции происходит на основе имеющегося паттерна взаиморасположения костей головы, сформировавшегося в результате реализации биомеханизма родов. Это приводит к появлению соматических дисфункций, в структуре которых преобладают нейродинамические и гидродинамические компоненты.

Помимо вышеперечисленного на формирование соматических дисфункций будет влиять способ/техника удаления, позиция расположения врача стоматолога по отношению к пациенту при проведении экстракции. Продолжительность экстракции зависит от сложности варианта и составляет не менее 40–60 мин.

Длительное положение пациента с широко открытым ртом и ротацией головы с латерофлекссией в противоположную сторону может способствовать возникновению дополнительных соматических дисфункций C0–C1, C1–C2, связок купола плевры, первого ребра, подъязычной кости, мышечно-связочного аппарата стоматогнатической системы.

Надо сказать, что подобное положение пациента характерно не только для экстракции моляров, но и для многих других процедур в рамках ортодонтического лечения.

В процессе остеопатической диагностики мы пришли к выводу, что первичная или ведущая соматическая дисфункция — это внутрикостная соматическая дисфункция верхней или нижней челюсти в проекции удаленного моляра. Это зона первичного повреждения. В таком случае остеопат осуществляет реабилитацию, проводя коррекцию соматических дисфункций, возникших после удаления первого или третьего моляра.

В процессе клинического исследования и оказания остеопатической помощи использовали алгоритм остеопатической коррекции, выполняемой для устранения соматических дисфункций, представленный ниже. Необходимо отметить, что алгоритм был разработан после проведенных исследований относительно изменения функциональной активности фибробластов в процессе моделирования компрессии, гиперкапнии и гипоксии. Было показано, что наибольшее дисфункциональное влияние на адаптационные характеристики соединительной ткани оказывает компрессия (локальное повышение давления при сжатии или растяжении тканей). На втором месте по этиологическому влиянию на формирование гидродинамического компонента соматической дисфункции на локальном уровне были выявлены реакции на повышение концентрации CO<sub>2</sub> (гиперкапнию). Гипоксия, как было выявлено, оказывала наименее значимое влияние



на формирование соматической дисфункции, а именно гидродинамического ее компонента [18].

Таким образом, выявленная последовательность доминирования этиологических факторов на характер формирования соматической дисфункции на локальном уровне может быть выражена следующим алгоритмом. Устранение компрессии на локальном и региональном уровне. Декомпрессия производилась остеопатическими техниками, по стандартной методике. При этом при диагностируемой компрессии сфенобазиллярного синхондроза первоначально устранялась компрессия крестца, L5–S1, грудобрюшной диафрагмы, C–C1, и компрессия сфенобазиллярного синхондроза, с выполнением ретестирования и техники ребаланса целостности биомеханической подвижности организма.

Коррекция грудобрюшной диафрагмы и тазовой диафрагмы первоначально и выполнение техники венозных синусов после коррекции сфенобазиллярного синхондроза позволяет в свою очередь улучшить и восстановить функцию венозного кровообращения и минимизировать последствия влияния гиперкапнии на локальном и региональном уровнях.

Однако необходимо отметить, что дополнительным поводом для междисциплинарного взаимодействия между остеопатом и стоматологом-ортодонтом применительно к экстракции моляра может быть еще два момента:

- обращение пациента после проведения экстренной экстракции любого зуба (при этом осуществляются реабилитация и коррекция возникших соматических дисфункций, зачастую еще до появления жалоб);

- обращение пациента до проведения плановой экстракции любого зуба (осуществляется стоматологическая и остеопатическая профилактика возможных осложнений после удаления зуба).

Задачей остеопата в этом случае является диагностика соматических дисфункций, которые могут усугубиться/усилиться после удаления зуба.

Многие стоматологи-ортодонты знают, что реабилитация после экстракции зубов, проводимая совместно с остеопатом, эффективнее и позволяет минимизировать риски и осложнения после данного вмешательства. Поэтому пациента направляют на консультацию к остеопату профилактически, до экстракции зуба, при его плановом удалении. И после экстренной экстракции — для реабилитации.

В зависимости от используемого алгоритма работа с пациентами состоит из нескольких этапов. План диагностики и лечения при обращении пациента после экстренной экстракции моляра аналогичен таковому при обращении с жалобами.

При плановом профилактическом обращении пациента осуществляют стоматологическую и остеопатическую подготовку к экстракции зуба:

- 1-й этап: консультация врача-стоматолога перед плановой экстракцией зуба, назначение УЗИ сосудов головы и шеи (артерии и вены) как метода диагностики нарушений венозного и артериального кровообращения в регионе головы и влияния этих факторов на адаптационные способности фибробластов, в том числе синтез коллагена, эластина и гликозаминогликанов;

- 2-й этап: первичный прием врача-osteopата, включающий диагностику первичной или ведущей соматической дисфункции, остеопатическую коррекцию доминирующей соматической дисфункции и устранение причины ее возникновения, повышение уровня адаптационных возможностей организма для поддержания гомеостатического постоянства внутренней среды;

- 3-й этап: при необходимости провести два-три повторных приема врача-osteopата, в течение двух недель. При необходимости уменьшения сроков подготовки к стоматологическому лечению терапевтическая часть остеопатической помощи должна быть произведена за 72 ч до стоматологического лечения. Указанный временной промежуток определен в результате исследований адаптационных возможностей основных клеток соединительной ткани — фибробластов после устранения этиологических факторов, инициирующих возникновение соматической дисфункции и возвращения к нормостеническим условиям функционирования тканей на локальном и региональном уровнях;

- 4-й этап: повторный прием врача-стоматолога перед экстракцией зуба, с последующим оказанием специализированной стоматологической помощи;

- 5-й этап: проведение восстановительных мероприятий, которые могут включать оказание остеопатической и физиотерапевтической помощи.

Разработанный нами на основании вышеизложенных результатов исследования алгоритм остеопатической помощи пациентам в период ортодонтического лечения внедрен в работу автономной некоммерческой организации «Тюменский институт мануальной медицины».

## ВЫВОДЫ

Алгоритм реализации протокола выражается в последовательном устранении при помощи остеопатических техник факторов компрессии как маркеров нейродинамических и гидродинамических нарушений, последующем устранении гиперкапнии как следствия нарушения венозного кровообращения и лимфодинамики, и дальнейшем восстановлении артериального кровообращения, и устранении явлений гипоксии и нарушений питания тканей. Внедрение в практику предлагаемого протокола междисциплинарного взаимодействия врача-osteopата и стоматолога-ортодонта, включающего совместное ведение пациентов и перекрестное консультирование, позволяет не только проводить раннюю диагностику и своевременную коррекцию выявленных соматических дисфункций зубочелюстной системы, но и предупреждать их формирование в период ортодонтического лечения. Остеопатическая помощь является неинвазивной составляющей комплексных программ лечения аномалий и дисфункций зубочелюстной системы, что позволяет активно использовать ее для оптимизации лечебного алгоритма, повышения качества оказания медицинской помощи и эффективности специализированной ортодонтической терапии.

## Литература

1. Персин Л. С. Ортодонтия. Национальное руководство. Лечение зубочелюстных аномалий. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020; 376 с.
2. Попова Н. В., Арсенина О. И., Гаврилова М. В., Глухова Н. В. Объективная и субъективная оценка качества и эффективности ортодонтического лечения. *Стоматология*. 2021; 100 (5): 82–87.
3. Зубарева А. В., Гараева К. Л., Исаева А. И. Распространенность зубочелюстных аномалий у детей и подростков (обзор литературы). *European Research*. 2015; 10 (11): 128–32.
4. Михалин А. Н., Никандров Р. А. Современные средства лечения зубочелюстных аномалий. *Juvenis scientia*. 2017; 12: 19–21.
5. Меграбян О. А., Конькова А. М. Особенности лечения пациентов с дистальной окклюзией зубных рядов в различные возрастные периоды (обзор литературы). *Acta medica Eurasica*. 2018; 4: 19–29.
6. Ибрагимова И. Ф., Тимербулатова Г. А., Маннанова Ф. Ф., Галиуллина М. В., Юнусов Р. Р. Клинические наблюдения некоторых отрицательных результатов и осложнений после протетической коррекции зубочелюстных аномалий и деформаций. *Проблемы стоматологии*. 2018; 14 (4): 117–20. DOI: 10.18481/2077-7566-2018-14-4-117-120.
7. Абрамова М. Я., Медведицкова А. И., Лукина Г. И. Персонализированный подход при лечении пациентов с аномалиями зубочелюстной системы с привлечением врачей-стоматологов смежных специальностей. *Российская стоматология*. 2022; 15 (1): 20–24. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.17116/rosstomat20221501120>.
8. Аптекарь И. А., Абрамова Е. В., Аптекарь В. И., Юдина, Алешина О. А. Оценка состояния ортодонтической помощи населению в аспекте междисциплинарного подхода лечения пациентов с зубочелюстными аномалиями. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2020; 6 (22): 31–34. Доступно по ссылке: <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-6-31-34>
9. Медведицкова А. И., Абрамова М. Я., Лукина Г. И. Проблемно-ориентированный анализ эффективности междисциплинарного подхода в комплексном лечении пациентов с зубочелюстными аномалиями и деформациями. *Российская стоматология*. 2021; 14 (4): 46–50. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.17116/rosstomat20211404146>.
10. Милутка Ю. А., Юшманов И. Г., Бадмаева А. Н. Возможность остеопатической коррекции в комплексной терапии дисфункции височно-нижнечелюстного сустава. *Российский остеопатический журнал*. 2019; (1–2): 43–50. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2019-1-2-43-50>.
11. Аптекарь И. А., Абрамова Е. В., Аптекарь В. И., Юдина А. А., Лебедев И. А., Борсуков А. П., Анатомо-физиологическое обоснование эффективности остеопатической коррекции в комплексной реабилитации пациентов после экстракции первого моляра. *Уральский медицинский журнал*. 2020; 09 (192): 133–137. DOI 10.25694/URMJ.2020.09.27.
12. Атякшев А. В., Текутьева Н. В. Оценка гемодинамических церебральных нарушений при экстракции третьих моляров и эффективность остеопатической реабилитации после экстракции зубов. *Российский остеопатический журнал*. 2016; (1–2): 60–66. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2016-1-2-60-66>.
13. Юшманов И. Г., Калимуллин М. Н., Зарипов И. Т., Златковская М. В. Влияние остеопатической коррекции на качество жизни пациента при съемном стоматологическом протезировании. *Российский остеопатический журнал*. 2018; (1–2): 14–18. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2018-1-2-14-18>.
14. Абрамова Е. В., Аптекарь И. А., Поздеев С. Ю. Остеопатическая помощь после экстракции третьего моляра как элемент коррекции головных болей напряжения. Сборник научных материалов IV Международного Конгресса «Физиотерапия. Лечебная физкультура. Реабилитация. Спортивная медицина». Москва, 2018; с. 14.
15. Постников М. А., Трунин Д. А., Малкина В. Д., Панкратова Н. В., Ключков Ф. Г., Poştaru С. Остеопатическая коррекция в комплексном лечении пациентов с зубочелюстно-лицевыми аномалиями. *Российский остеопатический журнал*. 2018; (1–2): 91–99. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2018-1-2-91-99>.
16. Басиева Э. В., Милутка Ю. А., Тарасов Н. А., Силян А. В., Мохов Д. Е. Эффективность ортодонтической и остеопатической коррекции у пациентов с зубочелюстными аномалиями и мышечно-суставными дисфункциями височно-нижнечелюстного сустава при наличии сопутствующих соматических дисфункций и без них. *Российский остеопатический журнал*. 2021; (4): 63–74. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2021-4-63-74>.
17. Байрамова Л. Н., Белоусова М. В. Междисциплинарное взаимодействие в организации помощи детям с речевыми и зубочелюстными нарушениями. *Российский остеопатический журнал*. 2017; (1–2): 31–36. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2017-1-2-31-36>.
18. Аптекарь И. А., Костоломова Е. Г., Суховой Ю. Г. Изменение функциональной активности фибробластов в процессе моделирования компрессии, гиперкапнии и гипоксии. *Российский остеопатический журнал*. 2019; (1–2): 72–84. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2019-1-2-72-84>.
19. Клинические рекомендации «Соматическая дисфункция» (одобрены Минздравом России). Москва, 2023; 121 с. Доступно по ссылке: <https://diseases.medelement.com/disease/%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F-%D0%B4%D0%B8%D1%81%D1%84%D1%83%D0%BD%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-%D0%BA%D0%BF-%D1%80%D1%84-2023/17537?ysclid=luqpgv6t9b900850830>.
20. Порядок оказания медицинской помощи населению по профилю «Остеопатия», утвержденный МЗ РФ в 2018 г. № 21н. Доступно по ссылке: <https://base.garant.ru/71872688/>.

## References

1. Persin LS. Ortodontija. Nacional'noe rukovodstvo. Lechenie zubocheľjustnyh anomalij. M.: GJeOTAR-Media; 2020; 2: 376. Russian.
2. Popova NV, Arsenina OI, Gavrilova MV, Gluhova NV. Ob'ektivnaja i sub'ektivnaja ocenka kachestva i jeffektivnosti ortodonticheskogo lechenija. *Stomatologija*. 2021; 100 (5): 82–87. Russian.
3. Zubareva A, Garaeva KL, Isaeva AI. Rasprostranennost' zubocheľjustnyh anomalij u detej i podrostkov (obzor literatury). *European Research*. 2015; 10 (11): 128–32. Russian.
4. Mihalin AN, Nikandrov RA. Sovremennye sredstva lechenija zubocheľjustnyh anomalij. *Juvenis scientia*. 2017; 12: 19–21. Russian.
5. Megrabjan OA, Konkova AM. Osobennosti lechenija pacientov s distal'noj okkluziej zubnyh rjadov v razlichnye vozrastnye periody (obzor literatury). *Acta medica Eurasica*. 2018; 4: 19–29. Russian.
6. Ibragimova IF, Timerbulatova GA, Mannanova FF, Galjullina MV, Junusov RR. Klinicheskie nabljudenija nekotoryh otricateľnyh rezul'tatov i oslozhenij posle proteticheskoi korekcii zubocheľjustnyh anomalij i deformacij. *Problemy stomatologii*. 2018; 14 (4): 117–20. DOI: 10.18481/2077-7566-2018-14-4-117-120. Russian.
7. Abramova MYa, Medvedickova AI, Lukina GI. Personificirovannyj podhod pri lechenii pacientov s anomalijami zubocheľjustnoj sistemy s privlečeniem vrachej-stomatologov smezhnyh special'nostej. *Rossijskaja stomatologija*. 2022; 15 (1): 20–24. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.17116/rosstomat20221501120>. Russian.
8. Aptekar IA, Abramova EV, Aptekar VI, Judina, Aleshina OA. Ocenka sostojanija ortodonticheskoi pomoshhi naseleniju v aspekte mezhdisciplinarnogo podhoda lechenija pacientov s zubocheľjustnymi anomalijami. *Mediko-farmaceutvicheskij zhurnal «Pul's»*. 2020; 6 (22): 31–34. Dostupno po ssylke: <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-6-31-34>. Russian.
9. Medvedickova AI, Abramova MYa, Lukina GI. Problemnno-orientirovannyj analiz jeffektivnosti mezhdisciplinarnogo podhoda v kompleksnom

- lechenii pacientov s zubocheľjustnymi anomalijami i deformacijami. Rossijskaja stomatologija. 2021; 14 (4): 46–50. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.17116/rosstomat20211404146>. Russian.
10. Milutka YuA, Yushmanov IG, Badmaeva AN. Vozmoŷnosti osteopatičeskoj korrekcii v kompleksnoj terapii disfunkcii visočno-niznečeljustnogo sustava. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2019; (1–2): 43–50. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2019-1-2-43-50>. Russian.
  11. Aptekar IA, Abramova EV, Aptekar VI, Yudina AA, Lebedev IA, Borsukov AP, Anatomico-fiziologičeskoe obosnovanie jeffektivnosti osteopatičeskoj korrekcii v kompleksnoj rehabilitacii pacientov posle jekstracii pervogo moljara. Ural'skij medicinskij zhurnal. 2020; 09 (192): 133–137. DOI 10.25694/URMJ.2020.09.27. Russian.
  12. Atjakshev AV, Tekuteva NV. Ocenka gemodinamičeskih cerebral'nyh narušenij pri jekstracii tret'ih moljarov i jeffektivnost' osteopatičeskoj rehabilitacii posle jekstracii zubov. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2016; (1–2): 60–66. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2016-1-2-60-66>. Russian.
  13. Yushmanov IG, Kalimullin MN, Zaripov IT, Zlatkovskaya MV. Vlijanie osteopatičeskoj korrekcii na kachestvo zhizni pacienta pri s'emnom stomatologičeskom protezirovanii. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2018; (1–2): 14–18. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2018-1-2-14-18>. Russian.
  14. Abramova EV, Aptekar IA, Pozdeev SYu. Osteopatičeskaja pomoshh' posle jekstracii tret'ego moljara kak jelement korrekcii golovnyh bolej naprjazhenija. Sbornik nauchnyh materialov IV Mezhdunarodnogo Kongressa «Fizioterapija. Lečebnaja fizkul'tura. Rehabilitacija. Sportivnaja medicina». Moskva, 2018; s. 14. Russian.
  15. Postnikov MA, Trunin DA, Malkina VD, Pankratova NV, Kločkov FG, Poštaru C. Osteopatičeskaja korrekcija v kompleksnom lechenii pacientov s zubocheľjustno-licevymi anomalijami. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2018; (1–2): 91–99. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2018-1-2-91-99>. Russian.
  16. Basieva YeV, Milutka YuA, Tarasov NA, Silin AV, Mohov DE. Jeffektivnost' ortodontičeskoj i osteopatičeskoj korrekcii u pacientov s zubocheľjustnymi anomalijami i myshečno-sustavnymi disfunkcijami visočno-niznečeljustnogo sustava pri nalichii soputstvujushhih somatičeskih disfunkcij i bez nih. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2021; (4): 63–74. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2021-4-63-74>. Russian.
  17. Bajramova LN, Belousova MV. Mezhdisciplinarnoe vzaimodejstvie v organizacii pomoshhi detjam s rečevymi i zubocheľjustnymi narušenijami. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2017; (1–2): 31–36. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2017-1-2-31-36>. Russian.
  18. Aptekar IA, Kostolomova EG, Suhovej YuG. Izmenenie funkcional'noj aktivnosti fibroblastov v processe modelirovanija kompressii, giperkapnii i gipoksii. Rossijskij osteopatičeskij zhurnal. 2019; (1–2): 72–84. Dostupno po sŷylke: <https://doi.org/10.32885/2220-0975-2019-1-2-72-84>. Russian.
  19. Kliničeskie rekomendacii «Somatičeskaja disfunkcija» (odobreny Minzdravom Rossii). Moskva, 2023; 121 s. Dostupno po sŷylke: <https://diseases.medelement.com/disease/%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F-%D0%B4%D0%B8%D1%81%D1%84%D1%83%D0%BD%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F-%D0%BA%D0%BF-%D1%80%D1%84-2023/17537?ysclid=luqpgv6t9b900850830>. Russian.
  20. Porjadok okazanija medicinskoj pomoshhi naseleniju po profilju «Osteopatija», utverzhdennyj MZ RF v 2018 g. # 21n. Dostupno po sŷylke: <https://base.garant.ru/71872688/>. Russian.

## ЛЕЧЕНИЕ ГОНАРТРОЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ АУТОЛОГИЧЕСКОЙ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ

К. А. Егизарян, М. А. Данилов ✉, Р. М. Абдусаламов

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

Инъекции плазмы с тромбоцитами рассматривают как перспективный метод лечения. Препараты, воздействующие на субхондральную кость, могут способствовать улучшению структуры ткани и замедлению разрушения суставного хряща. Целью работы было изучить результаты лечения пациентов с гонартрозом путем внутрисуставного и внутрикостного введения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП). В исследование включены 187 пациентов с 1–3-й стадией, разделенные на три группы. В группе 1 (основная) осуществляли внутрисуставное введение ОТП, в группе 2 (сравнения) — внутрикостные инъекции ОТП. Для оценки использовали визуально-аналоговую шкалу и опросник «SF-36». В группе 1 и 2 было зарегистрировано снижение показателя стартовой боли уже через 3 месяца после проведенного лечения. Снижение частоты синовитов отмечено у пациентов группы 1 через 3 месяца; в группе 2 — через 6 месяцев (21,9 и 31,3% соответственно;  $p < 0,05$ ). Частота регистрации отечности мягких тканей области сустава снижалась через 6 месяцев у пациентов группы 1 и группы 2 (8,2 и 8,3% соответственно). У пациентов группы 1 была выявлена положительная динамика через 3 месяца (70,40%), группы 2 — через 6 месяцев (69,80%) по физическому компоненту качества жизни; у пациентов группы 1 и группы 2 через 3 месяца (64,30 и 65,10% соответственно), через 6 месяцев (65,10 и 66,40% соответственно) — по психическому компоненту. Таким образом, использование ОТП при гонартрозе свидетельствует о снижении боли, улучшении параметров жизни. Внутрикостные инъекции ОТП значительно улучшают клинические симптомы и физическое качество жизни пациентов.

**Ключевые слова:** качество жизни, боль, внутрисуставное введение, внутрикостное введение

**Вклад авторов:** К. А. Егизарян, М. А. Данилов — разработка дизайна исследования, анализ результатов; М. А. Данилов, Р. М. Абдусаламов — сбор данных, обзор литературы, проведение процедур введения, оценка результатов.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова (протокол № 213 от 13 декабря 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Максим Александрович Данилов  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; md.danilov@gmail.com

**Статья получена:** 30.01.2024 **Статья принята к печати:** 02.03.2024 **Опубликована онлайн:** 19.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.012

## TREATMENT OF GONARTHROSIS USING AUTOLOGOUS PLATELET-RICH PLASMA

Egizaryan KA, Danilov MA ✉, Abdusalamov RM

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Injections of platelet-rich plasma are considered to be a promising treatment. Medicines acting on the subchondral bone can improve tissue's structure and slow down destruction of the articular cartilage. This study aimed to analyze the results of intraarticular and intraosseous administration of platelet-rich plasma (PRP) in gonarthrosis cases. One hundred and eighty-seven participants (gonarthrosis stages 1 through 3) were divided into three groups. Group 1 (treatment group) received intraarticular PRP injections, group 2 (comparison group) — intraosseous PRP injections. For assessment purposes, we used the SF-36 survey and visual analog scale. Three months after the treatment, initial pain level decreased in both groups 1 and 2. In group 1, the prevalence of synovitis went down after 3 months, in group 2 — after 6 months (21.9 and 31.3%, respectively;  $p < 0.05$ ). Six months after the treatment, soft tissue swelling around the joint was registered less often in groups 1 and 2 (8.2 and 8.3%, respectively). As for the physical component of the quality of life, it improved in group 1 after 3 months (70.40%), in group 2 — after 6 months (69.80%); as for the mental component, the dynamics was acknowledged positive 3 months after the treatment in groups 1 and 2 (64.30 and 65.10%, respectively), and 6 months after the treatment (65.10 and 66.40%, respectively). Thus, administration of PRP in gonarthrosis cases attenuate pain and improves the quality of life. In terms of alleviation of the clinical symptoms and improvement of the physical component of patients' lives, intraosseous PRP injections performed significantly better.

**Keywords:** quality of life, pain, intraarticular injection, intraosseous injection

**Author contribution:** Egizaryan KA, Danilov MA — study design development, analysis of results; Danilov MA, Abdusalamov RM — data collection, literature review, preparation administration, assessment of the results.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Minutes #213 of December 13, 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Maxim A. Danilov  
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997, Russia; md.danilov@gmail.com

**Received:** 30.01.2024 **Accepted:** 02.03.2024 **Published online:** 19.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.012

Остеоартроз (ОА) коленного сустава (гонартроз) — дегенеративное заболевание суставов, которое со временем прогрессирует вследствие потери суставного хряща [1].

Порядка 13% женщин и 10% мужчин в возрасте 60 лет и старше страдают симптоматическим ОА коленного сустава. Среди людей старше 70 лет распространенность патологии возрастает до 40%. Без учета возрастной характеристики частота симптоматического гонартроза составляет примерно 240 случаев на 100 000 человек в год [2].

Гонартроз имеет прогрессирующее течение, обусловленное особенностями патогенеза, которое, как правило, приводит к развитию инвалидности.

Причины поражения хряща при остеоартрозе не полностью понятны, но могут включать конституциональные и генетические факторы, травму, болезнь перегрузки и др. В последнее время значительно возрос интерес к патологическим изменениям субхондральной кости — ишемии и локальному некрозу — как патогенетическим

факторам болезни [3]. Важное значение уделяется наличию травм коленного сустава в анамнезе [4].

Ограничение физической активности, боли и дискомфорт при движении оказывают значительное негативное влияние на повседневную деятельность пациента и социальную активность, что приводит к снижению его качества жизни (КЖ) [5].

В связи с этим большое внимание уделяют методам лечения ОА коленного сустава. Применение методов консервативного лечения с различной степенью эффективности направлено на устранение клинических проявлений (болевого синдрома) и частичное улучшение функционального состояния сустава [6]. Однако такие терапевтические стратегии не оказывают влияния на патогенез ОА и не приводят к улучшению КЖ пациентов.

В настоящее время из известных направлений современной ортопедии перспективны разработка и внедрение новых методик для лечения ОА, которые позволят не только купировать клинические симптомы, но и предотвратить прогрессирование патологического процесса. Одна из них — применение инъекций плазмы, обогащенной тромбоцитами (ОТП) [7, 8]. Ее эффекты, в основном, обусловлены продуктами секреции тромбоцитов. Помимо органелл, в цитоплазме тромбоцитов имеется большое количество гранул, содержащих более 300 различных биологически активных веществ. Выделяют три типа секреторных гранул тромбоцитов: плотные гранулы (или  $\gamma$ -гранулы),  $\alpha$ -гранулы и лизосомы. Содержимое лизосом, в основном, представлено различными ферментами (кислыми гидролазами). Плотные гранулы тромбоцитов содержат катехоламины, серотонин, АДФ, АТФ и кальций, участвующие в активации каскада тромбообразования. Под действием факторов роста в область травмы мигрируют и размножаются там фибробласты, клетки эндотелия и эпителиальные клетки. В результате происходят образование внеклеточного матрикса, рост новых сосудов, созревание и ремоделирование соединительной ткани. Противовоспалительный эффект оказывают такие медиаторы  $\alpha$ -гранул тромбоцитов, как HGF, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ 1, VEGF и EGF. Модуляция воспаления в сторону его уменьшения оказывает также и обезболивающий эффект [9–12].

Цель работы — изучить результаты лечения пациентов с ОА коленных суставов путем внутрисуставного и внутрикостного введения ОТП.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

На базе ГКБ № 1 имени Н. И. Пирогова г. Москва, Республиканской клинической больницы г. Махачкала (Республика Дагестан) в период с 2018 по 2022 г. было проведено обследование и лечение 187 пациентов (в возрасте 40–70 лет) с 1–3-й стадиями остеоартроза (ОА) коленных суставов с последующей оценкой динамики симптомов и признаков заболевания.

Верификацию диагноза ОА коленного сустава проводили согласно нормативным документам [13–15].

Критерии включения пациентов в исследование: возраст пациента 40–70 лет; наличие подтвержденного данными рентгенографического исследования диагноза ОА коленного сустава; соответствие поражения сустава I–III стадии по шкале Kellgren; интенсивность болевого синдрома при ходьбе  $\geq$  40 мм по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) на протяжении последних 2 недель; отказ от приема любых системных хондропротекторов

и/или препаратов, стимулирующих регенерацию хряща, в течение 2 месяцев до начала исследования; отказ от приема нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в течение 2 недель до начала настоящей работы; добровольное согласие пациента к участию в исследовании и адекватному сотрудничеству в ходе его проведения.

Критерии исключения: возраст младше 40 лет и старше 70 лет; отказ от участия в исследовании и/или в подписании формы информированного согласия; уровень оценки боли при ходьбе  $<$ 40 мм по ВАШ; рентгенологическое поражение коленного сустава соответствует IV стадии (по Келлгрену); хирургическое лечение гонартроза в течение предшествующих 6 месяцев; наличие выраженной деформации коленного сустава; длительность обострения больше месяца; беременность и/или лактация; наличие серьезных или нестабильных соматических заболеваний (тяжелых заболеваний печени, сердечно-сосудистой системы, легких или почек, онкологических, психических заболеваний), декомпенсированного сахарного диабета; использование лекарственных средств для регенерации тканей, системных хондропротекторов в течение 2 месяцев до включения в исследование; прием НПВП в течение 2 недель до включения в исследование.

Пациенты в зависимости от метода лечения были распределены на три группы. Основную группу (группа 1) составили 73 пациента (21 мужчин и 52 женщины), средний возраст —  $57,4 \pm 2,87$  года, в комплексе лечения которых были использованы внутрисуставные инъекции ОТП. В группу сравнения (группа 2) было включено 48 больных (15 мужчин и 33 женщины), средний возраст —  $56,9 \pm 2,85$  года, лечение которым проводили с помощью внутрикостных инъекций ОТП. Группа контроля (группа 3) состояла из 66 человек (21 мужчина и 45 женщин), средний возраст —  $57,1 \pm 2,86$  года, лечебные мероприятия у которых состояли из приема нестероидных противовоспалительных средств, курса хондропротекторов и курса внутрисуставного введения глюкокортикоидов. У пациентов группы 1 внутрисуставные инъекции аутологичной ОТП выполняли одним курсом введения (три инъекции раз в неделю) раз в год; у пациентов группы 2 — внутрикостные инъекции ОТП, курсом введения (две инъекции раз в две недели) раз в год.

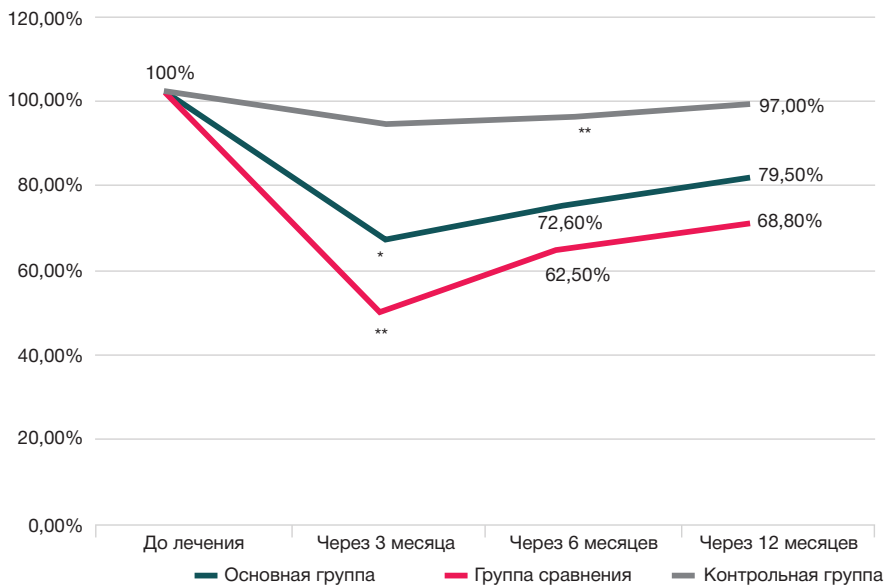
Среди пациентов всех групп наиболее часто регистрировали вторую стадию заболевания: у 37 (50,7%) пациентов группы 1, в 22 случаях (45,8%) — в группе 2 и у 27 (40,9%) пациентов — в группе контроля. Статистически значимых межгрупповых различий по частоте диагностики различных стадий ОА у обследованных пациентов выявлено не было.

Всем пациентам проводили комплексное обследование, которое включало сбор жалоб, изучение анамнеза жизни и заболевания, физикальное обследование с анализом объективных признаков патологии суставов, оценкой выраженности поражения.

В рамках комплексного первичного обследования также выполняли рентгенографическое исследование, ультразвуковое исследование (УЗИ), магнитно-резонансную томографию (МРТ).

Для оценки выраженности болевого синдрома использовали визуально-аналоговую шкалу (ВАШ); для оценки показателей качества жизни — неспецифический опросник SF-36 (до лечения, через три и шесть месяцев после терапии).

Для статистического анализа данных применяли пакеты программ Statsoft. STATISTICA 10 и Microsoft Excel 2016 (США).



**Рис. 1.** Динамика стартовой боли после отдыха более 30 мин у пациентов трех групп (в процентном соотношении). \* — значимость различий ( $p < 0,05$ ) показателей группы контроля относительно группы 1 и группы 2; \*\* — значимость различий ( $p < 0,001$ ) показателей группы контроля относительно группы 2

При нормальном распределении показателей для проведения межгруппового сравнения применяли критерий Стьюдента, при непараметрическом распределении — критерий Манна–Уитни. Нормальность распределения оценивали с применением критерия Шапиро–Уилка. Пороговое значение для уровня статистической значимости нулевой гипотезы ( $\alpha$ ) было принято равным 0,05 для всех межгрупповых сравнений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Динамика стартовой боли после отдыха более 30 мин у пациентов трех групп представлена на рис. 1.

Представленные данные свидетельствуют о том, что до начала лечения все пациенты (100%) испытывали стартовую боль после отдыха более 30 мин.

У пациентов основной группы и группы сравнения было зарегистрировано достоверное снижение показателя стартовой боли после отдыха более 30 мин уже через три

месяца после проведенного лечения со 100% до 64,4 и 47,90% соответственно.

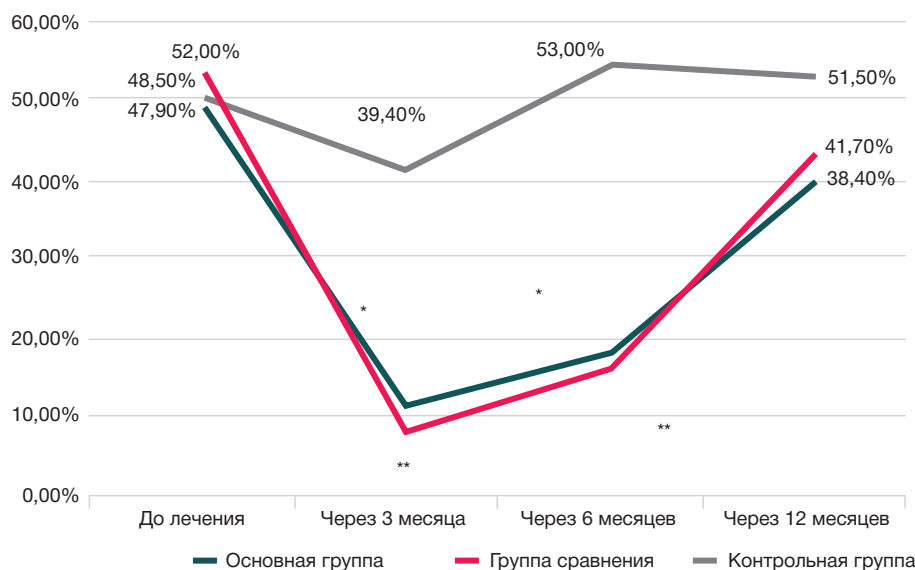
Через шесть и 12 месяцев наблюдалось нарастание интенсивности болевых ощущений у пациентов основной группы до 72,60 и 79,50% соответственно; у пациентов группы сравнения — до 62,50 и 68,80% соответственно.

У пациентов контрольной группы динамика стартовой боли была статистически не значимой и составляла 92,40% через три месяца; 93,90% — через шесть месяцев; 97,0% — через 12 месяцев.

Динамика показателей ощущения утренней скованности в суставах у пациентов исследуемых групп представлена на рис. 2.

Продемонстрирована достоверная динамика уменьшения жалоб на утреннюю скованность в суставах у пациентов основной группы и группы сравнения по отношению к группе контроля.

Характеристика параметров ОА коленного сустава по данным УЗИ приведена в таблице.



**Рис. 2.** Динамика ощущения утренней скованности в суставах у пациентов исследуемых групп (в процентном соотношении). \* — значимость различий ( $p < 0,05$ ) показателей группы контроля относительно группы 1 и группы 2; \*\* — значимость различий ( $p < 0,001$ ) показателей группы контроля относительно группы 1 и группы 2

Таблица. Динамика УЗИ признаков ОА коленного сустава у пациентов трех групп на фоне терапии

Показатели	Основная группа (n = 73)		Группа сравнения (n = 48)		Группа контроля (n = 66)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
До лечения						
Синовит	55	75,3	37	77	49	74,2
Отечность мягких тканей в области сустава	11	15,1	8	16,7	12	18,1
Остеофиты	59	80,8	40	83,3	54	81,8
Субхондральный склероз	61	83,6	41	85,4	56	84,8
Через 3 месяца после лечения						
Синовит	20	27,4*	30	62,5	47	71,2
Отечность мягких тканей в области сустава	8	10,9	6	12,5	5	4,5*
Остеофиты	59	80,8	40	83,3	54	81,8
Субхондральный склероз	61	83,6	41	85,4	56	84,8
Через 6 месяцев после лечения						
Синовит	16	21,9*	15	31,3*	45	68,2
Отечность мягких тканей в области сустава	6	8,2*	4	8,3*	5	7,5*
Остеофиты	57	78,1	39	81,3	54	81,8
Субхондральный склероз	59	80,8	40	83,3	56	84,8
Через 12 месяцев после лечения						
Синовит	24	32,9	22	45,8	48	72,7
Отечность мягких тканей в области сустава	10	13,7	8	16,7	11	16,7
Остеофиты	57	78,1	39	81,3	54	81,8
Субхондральный склероз	59	80,8	40	83,3	56	84,8

Примечание: \* — значимость различий ( $p < 0,05$ ) показателя относительно показателя до лечения внутри групп.

Следует отметить, что до лечения частота регистрации синовитов, отечности мягких тканей, остеофитов и субхондрального склероза была сопоставимой между группами. Достоверные различия по частоте регистрации синовита от исходного уровня были отмечены у пациентов основной группы через три месяца (27,4%); у пациентов основной группы и группы сравнения — через шесть месяцев (21,9 и 31,3% соответственно); по частоте регистрации отечности мягких тканей области сустава — через шесть месяцев у пациентов основной группы и группы сравнения (8,2 и 8,3% соответственно). Через 12 месяцев результаты между группами были статистически

не значимы, однако наименьшие значения изучаемых параметров по данным УЗИ регистрировались у пациентов основной группы.

Результаты сравнительного анализа КЖ по физическому и психическому компонентам опросника SF-36 у пациентов исследуемых групп до лечения, через три месяца и шесть месяцев наблюдения представлены на рис. 3 и 4.

На фоне терапии у пациентов основной группы и группы сравнения наблюдалась достоверная положительная динамика: у пациентов основной группы через три месяца (70,40%), группы сравнения — через шесть месяцев (69,80%).

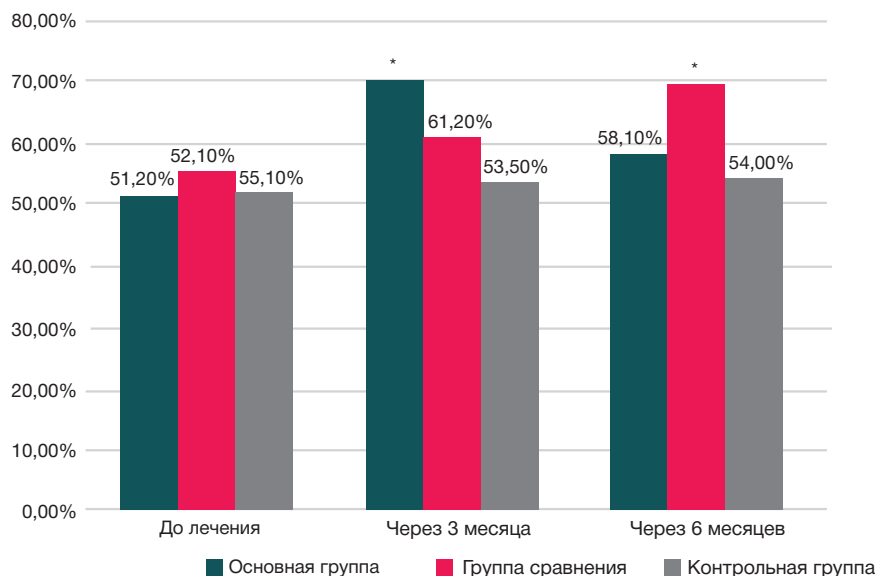


Рис. 3. Динамика показателей КЖ по физическому компоненту опросника SF-36 у пациентов исследуемых групп до лечения, через 3 и 6 месяцев наблюдения. \* — значимость различий ( $p < 0,05$ ) показателя внутри групп относительно показателя до лечения; \*\* — значимость различий ( $p < 0,01$ ) показателя между основной группой и группой сравнения через 3 и 6 месяцев после лечения

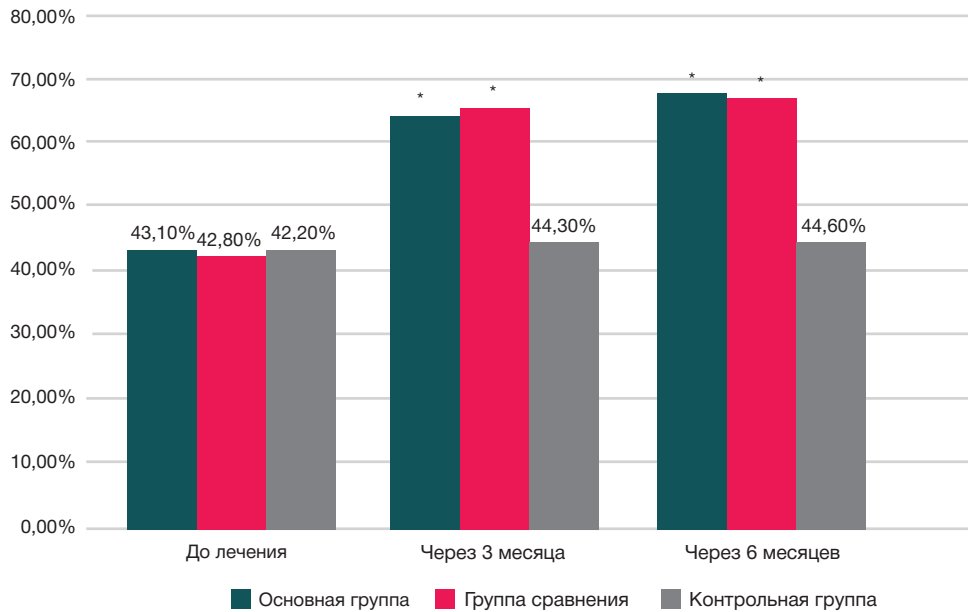


Рис. 4. Динамика показателей КЖ по психическому компоненту опросника SF-36 у пациентов исследуемых групп до лечения, через 3 месяца и 6 месяцев наблюдения. \* — значимость различий ( $p < 0,05$ ) показателя относительно показателя до лечения

Через шесть месяцев терапии у пациентов основной группы и группы сравнения результаты были выше исходных значений с лучшими параметрами у пациентов группы сравнения. У пациентов контрольной группы значения показателей параметров физического компонента качества жизни SF-36 статистически значимо не менялись на протяжении лечения (51,20% — до лечения; 53,50% — через три месяца; 54,0% — через шесть месяцев).

На фоне лечения отмечается статистически значимая положительная динамика по психическому компоненту опросника SF-36 у пациентов основной группы и группы сравнения через три месяца (64,30 и 65,10% соответственно), через шесть месяцев (65,10% и 66,40% соответственно). У пациентов контрольной группы динамики выявлено не было (42,20% — до лечения, 44,30% — через три месяца, через шесть месяцев — 44,60%).

Характеристика интенсивности боли по опроснику ВАШ представлена на рис. 5.

Статистически значимая ( $p < 0,05$ ) положительная динамика на фоне лечения отмечена у пациентов

основной группы и группы сравнения через три и шесть месяцев терапии, при этом через три месяца лучшие показатели зафиксированы у пациентов основной группы ( $2,80 \pm 0,14$  и  $3,90 \pm 0,19$  соответственно); через шесть месяцев — у пациентов группы сравнения ( $3,40 \pm 0,17$  и  $3,0 \pm 0,15$  соответственно). У пациентов контрольной группы назначенная терапия не привела к купированию интенсивности болевого синдрома и показатели значений не различались на протяжении всего периода наблюдения (до лечения —  $6,0 \pm 0,3$ ; через три месяца —  $5,60 \pm 0,28$ ; через шесть месяцев —  $5,80 \pm 0,29$ ; через 12 месяцев —  $5,90 \pm 0,30$ ).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ОА коленного сустава — патология, рост которой обусловлен увеличением продолжительности жизни населения. Это значимая социальная, экономическая и медицинская проблема, в решении которой должны быть использованы нефармакологические, фармакологические

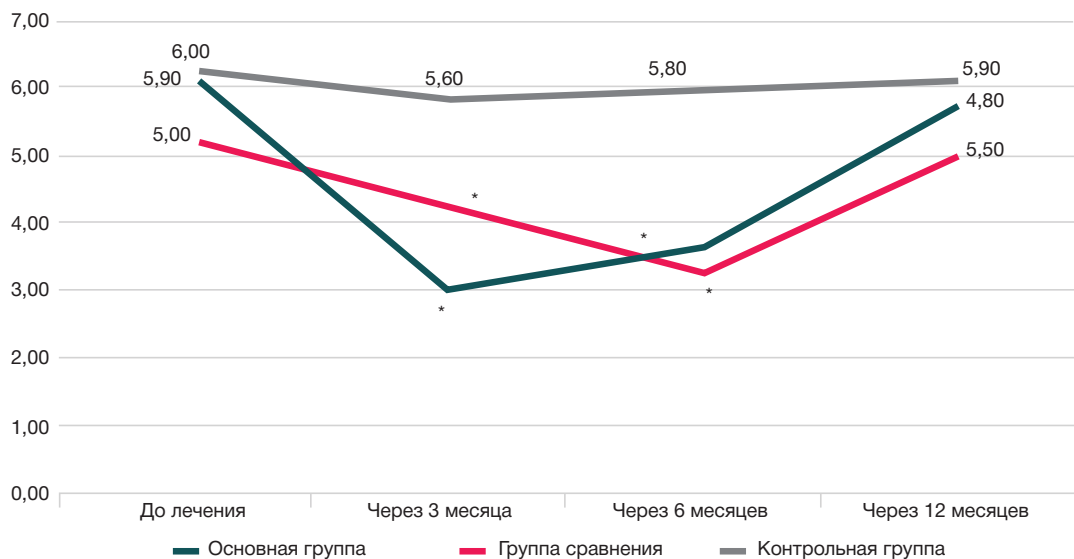


Рис. 5. Среднее значение интенсивности боли по опроснику ВАШ у пациентов сравниваемых групп (в баллах). \* — значимость различий ( $p < 0,05$ ) показателя относительно группы контроля; \*\* — значимость различий ( $p < 0,01$ ) показателя между основной группой и группой сравнения



и хирургические методы лечения на разных стадиях ОА коленного сустава. Хирургическое вмешательство в виде частичной или полной замены коленного сустава чаще всего используют на поздних стадиях ОА коленного сустава [16–17]. Лечение, основанное на регенеративной медицине, такое как ОТП и клеточная терапия, направлено на расширение терапевтического арсенала для избежания или отсрочки хирургического вмешательства. В то время как клеточная терапия все еще находится в зачаточном состоянии и ей предстоит преодолеть ряд проблем, ОТП применяют уже более 15 лет, и она занимает консолидированную позицию в лечении этого заболевания. Проводится все большее количество рандомизированных клинических исследований для получения убедительных выводов об эффективности и безопасности ОТП. Несмотря на то что внутрисуставное введение ОТП для лечения ОА коленного сустава показывает многообещающие результаты, данный метод по мнению ряда авторов воздействует только на суставной хрящ и синовиальную оболочку, не достигая субхондральной кости. Добавление внутрикостных инъекций в субхондральную кость может обеспечить более комплексное лечение [18, 19].

Клинические исследования внутрикостного применения ОТП при ОА суставов по данным работ отечественных и зарубежных авторов в настоящее время находятся

на ранних стадиях. Обоснование его применения во многом зависит от расширяющихся знаний о роли костно-хрящевой функциональной единицы в развитии ОА коленных суставов, а также от роста количества доклинических исследований и внутрикостных методов лечения других костных патологий [20, 21]. В этой области необходимы дальнейшие исследования, чтобы лучше понять клеточные процессы, лежащие в основе его потенциального механизма действия, и будущие направления внутрикостных инъекций.

## ВЫВОДЫ

Использование обогащенной тромбоцитами плазмы при лечении ОА сопровождается достоверно лучшими результатами в отношении выраженности болевого синдрома, проявлений по данным методам исследования, в отношении параметров качества жизни по сравнению со стандартной терапией (использование нестероидных противовоспалительных средств, хондропротекторов, внутрисуставного введения глюкокортикоидов). Внутрикостное введение ОТП позволяет добиться достоверно лучших результатов при оценке редукции клинической симптоматики и КЖ пациентов по физическому компоненту.


## Литература

- Hsu N, Siwiec RM. Knee Osteoarthritis. [Updated 2023 Jun 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507884/>.
- Magnusson K, Turkiewicz A, Englund M. Nature vs nurture in knee osteoarthritis — the importance of age, sex and body mass index. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019; 27 (4): 586–92.
- Егизарян К. А., Лазишвили Г. Д. и др. Алгоритм хирургического лечения больных с рассекающим остеохондритом коленного сустава. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2018; 2: 77–83.
- Егизарян К. А., Черкасов С. Н., Атнаева Л. Ж. Анализ структуры первичной заболеваемости по классу травмы, отравления и некоторые другие последствия воздействия внешних причин взрослого населения Российской Федерации. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2017; 1: 25–27.
- Li JS, Tsai TY, Clancy MM, Li G, Lewis CL, Felson DT. Weight loss changed gait kinematics in individuals with obesity and knee pain. *Gait Posture*. 2019; 68: 461–5.
- Васильева Л. В., Лахин Д. И. Влияние метаболического синдрома на клиническую картину остеоартроза. *Медицинский Вестник Северного Кавказа*. 2017; 12 (1): 8–11.
- Гусева А. И., Тагильцева Ю. С. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата. *Аллея науки*. 2018; 6 (5): 148–51.
- Cui Y, Lin L, Wang Z, Wang K, Xiao L, Lin W, et al. Research trends of platelet-rich plasma therapy on knee osteoarthritis from 2011 to 2021: A review. *Medicine (Baltimore)*. 2023; 102 (2): e32434.
- Wang L, et al. Comparison of the effects of autologous and allogeneic purified platelet-rich plasma on cartilage damage in a rabbit model of knee osteoarthritis. *Front Surg*. 2022; 9: 911468.
- Wang Y, et al. Clinical efficacy of platelet-rich plasma as adjuvant therapy in patients undergoing arthroscopic repair of meniscal injury. *J Int Med Res*. 2020; 48 (9): 300060520955059.
- Sheehan AJ, Anz AW, Bradley JP. Platelet-rich plasma: fundamentals and clinical applications. *Arthroscopy*. 2021; 37 (9): 2732–4.
- dos Santos RG; et al. The regenerative mechanisms of platelet-rich plasma: A review. *Cytokine*. 2021; 144: 155560.
- Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при гонартрозе и сходных с ним клинических состояниях. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 24 декабря 2012 г. № 1498н. М., 2012.
- Насонов Е. Л., редактор. Российские клинические рекомендации. Ревматология под ред. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017; 464 с.
- Bruyère O, et al. A consensus statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) algorithm for the management of knee osteoarthritis — from evidence-based medicine to the real-life setting. *Seminars in arthritis and rheumatism*. WB Saunders. 2016; 45 (4): S3-S11.
- Moretti L, Maccagnano G, Coviello M, Cassano GD, Franchini A, Laneve A, et al. Platelet rich plasma injections for knee osteoarthritis treatment: A prospective clinical study. *J Clin Med*. 2022; 11 (9): 2640.
- Cui Yubo, Lin Liqiong, Wang Zhiwei, Wang Kai, Xiao Lili, Lin Wentao, et al. Research trends of platelet-rich plasma therapy on knee osteoarthritis from 2011 to 2021: A review. *Medicine*. 2023; 102 (2): e32434.
- Patel S, Rajnish RK, Baburaj V, Kumar P, Sharma S, Kumar V. Intraosseous infiltration of platelet-rich plasma for knee osteoarthritis: A systematic review of literature and limited meta-analysis. *Indian J Orthop*. 2022; 56 (11): 1847–57. DOI: 10.1007/s43465-022-00737-x. PMID: 36310547; PMCID: PMC9561501.
- Sánchez M, Jorquera C, de Dicastillo LL, et al. Real-world evidence to assess the effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of knee degenerative pathology: a prospective observational study. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. 2022; 14. DOI: 10.1177/1759720X221100304.
- Torres-Torrillas M, Damiá E, Romero Ad, Peláez P, Miguel-Pastor L, Chicharro D, et al. Intra-osseous plasma rich in growth factors enhances cartilage and subchondral bone regeneration in rabbits with acute full thickness chondral defects: Histological assessment. *Front Vet Sci*. 2023; 10: 1131666. DOI: 10.3389/fvets.2023.1131666.
- Torres-Torrillas M, Damiá E, Peláez P, Miguel-Pastor L, Cuervo B, Cerón JJ, et al. Intra-osseous infiltration of adipose mesenchymal stromal cells and plasma rich in growth factors to treat acute full depth cartilage defects in a rabbit model: serum osteoarthritis biomarkers and macroscopical assessment. *Front Vet Sci*. 2022; 9: 1057079. DOI: 10.3389/fvets.2022.1057079.

## References

- Hsu H, Siwiec RM. Knee Osteoarthritis. [Updated 2023 Jun 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507884/>.
- Magnusson K, Turkiewicz A, Englund M. Nature vs nurture in knee osteoarthritis — the importance of age, sex and body mass index. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019; 27 (4): 586–92.
- Egiazyran KA, Lazishvili GD, et al. Knee osteochondritis desiccans: surgery algorithm. *Bulletin of RSMU*. 2018; 2: 73–78.
- Egiazyran KA, Cherkasov SN, Attaeva LZ. Analiz struktury pervichnoj zaboljevaemosti po klassu travmy, otravlenija i nekotorye drugie posledstvija vozdejstvija vneshnih prichin vzroslogo naselenija Rossijskoj Federacii. *Kafedra travmatologii i ortopedii*. 2017; 1: 25–27. Russian.
- Li JS, Tsai TY, Clancy MM, Li G, Lewis CL, Felson DT. Weight loss changed gait kinematics in individuals with obesity and knee pain. *Gait Posture*. 2019; 68: 461–5.
- Vasileva LV, Lahin DI. Vlijanie metabolicheskogo sindroma na klinicheskiju kartinu osteoartroza. *Medicinskij Vestnik Severnogo Kavkaza*. 2017; 12 (1): 8–11. Russian.
- Guseva AI, Tagilceva YuS. Primenenie obogashhennoj trombocitami plazmy v lechenii zaboljevanij oporno-dvigatel'nogo apparata. *Alleja nauki*. 2018; 6 (5): 148–51. Russian.
- Cui Y, Lin L, Wang Z, Wang K, Xiao L, Lin W, et al. Research trends of platelet-rich plasma therapy on knee osteoarthritis from 2011 to 2021: A review. *Medicine (Baltimore)*. 2023; 102 (2): e32434.
- Wang L, et al. Comparison of the effects of autologous and allogeneic purified platelet-rich plasma on cartilage damage in a rabbit model of knee osteoarthritis. *Front Surg*. 2022; 9: 911468.
- Wang Y, et al. Clinical efficacy of platelet-rich plasma as adjuvant therapy in patients undergoing arthroscopic repair of meniscal injury. *J Int Med Res*. 2020; 48 (9): 300060520955059.
- Sheean AJ, Anz AW, Bradley JP. Platelet-rich plasma: fundamentals and clinical applications. *Arthroscopy*. 2021; 37 (9): 2732–4.
- dos Santos RG; et al. The regenerative mechanisms of platelet-rich plasma: A review. *Cytokine*. 2021; 144: 155560.
- Ob utverzhenii standarta pervichnoj mediko-sanitarnoj pomoshhi pri gonartroze i shodnyh s nim klinicheskikh sostojanijah. *Prikaz Ministerstva zdравoohraneniya RF ot 24 dekabrja 2012 g. # 1498n. M., 2012. Russian.*
- Nasonov EL, redaktor. *Rossijskie klinicheskie rekomendacii. Revmatologija pod red. M.: GJeOTAR-Media, 2017; 464 s. Russian.*
- Bruyère O, et al. A consensus statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) algorithm for the management of knee osteoarthritis — from evidence-based medicine to the real-life setting. *Seminars in arthritis and rheumatism*. WB Saunders. 2016; 45 (4): S3-S11.
- Moretti L, Maccagnano G, Coviello M, Cassano GD, Franchini A, Laneve A, et al. Platelet rich plasma injections for knee osteoarthritis treatment: A prospective clinical study. *J Clin Med*. 2022; 11 (9): 2640.
- Cui Yubo, Lin Liqiong, Wang Zhiwei, Wang Kai, Xiao Lili, Lin Wentao, et al. Research trends of platelet-rich plasma therapy on knee osteoarthritis from 2011 to 2021: A review. *Medicine*. 2023; 102 (2): e32434.
- Patel S, Rajnish RK, Baburaj V, Kumar P, Sharma S, Kumar V. Intraosseous infiltration of platelet-rich plasma for knee osteoarthritis: A systematic review of literature and limited meta-analysis. *Indian J Orthop*. 2022; 56 (11): 1847–57. DOI: 10.1007/s43465-022-00737-x. PMID: 36310547; PMCID: PMC9561501.
- Sánchez M, Jorquera C, de Dicastillo LL, et al. Real-world evidence to assess the effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of knee degenerative pathology: a prospective observational study. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. 2022; 14. DOI: 10.1177/1759720X221100304.
- Torres-Torrillas M, Damia E, Romero Ad, Pelaez P, Miguel-Pastor L, Chicharro D, et al. Intra-osseous plasma rich in growth factors enhances cartilage and subchondral bone regeneration in rabbits with acute full thickness chondral defects: Histological assessment. *Front Vet Sci*. 2023; 10: 1131666. DOI: 10.3389/fvets.2023.1131666.
- Torres-Torrillas M, Damiá E, Peláez P, Miguel-Pastor L, Cuervo B, Cerón JJ, et al. Intra-osseous infiltration of adipose mesenchymal stromal cells and plasma rich in growth factors to treat acute full depth cartilage defects in a rabbit model: serum osteoarthritis biomarkers and macroscopical assessment. *Front Vet Sci*. 2022; 9: 1057079. DOI: 10.3389/fvets.2022.1057079.

## МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ НЕРЕЗЕКТАБЕЛЬНОГО МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЛЮМИНАЛЬНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

К. В. Коломиец , З. Р. Афашагова, Д. Э. Эрендженова, А. С. Баширова, В. В. Фалчари, Н. Э. Бабаева, А. Д. Алиева, Р. З. Курмалиева, Ю. Б. Федосеев


Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

Рак молочной железы (РМЖ) остается основной онкологической патологией у женского населения. Наличие метастазов в печени при РМЖ определяет крайне неблагоприятный прогноз течения заболевания. Молекулярно-биологический подтип опухоли является главным предиктором клинического исхода при метастатическом РМЖ. Основной целью лечения метастатического РМЖ является увеличение продолжительности жизни, уменьшение симптомов, связанных с опухолью, поддержание или улучшение качества жизни пациентов. Внедрение трансартериальной химиоэмболизации (ТАХЭ) открыло новые возможности контроля над метастатическим поражением печени. В статье представлен клинический случай использования методики ТАХЭ в комбинации с гормонотерапией, а также селективными ингибиторами циклин-зависимых киназ CDK4/6 у пациентки при нерезектабельном метастатическом поражении печени карциномы молочной железы с положительным гормональным статусом (ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup>) и неопределенным Her2-статусом (2<sup>\*</sup>). Подход позволил достигнуть регресса онкологического процесса в печени, вплоть до отсутствия четкой визуализации метастатических очагов в ней при компьютерной томографии органов брюшной полости, а также контролировать течение заболевания на протяжении 28 месяцев.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, трансартериальная химиоэмболизация, гормонотерапия, таксаны, селективные ингибиторы циклин-зависимых киназ CDK 4/6, метастатическое поражение печени

**Вклад авторов:** К. В. Коломиец — написание статьи, редактирование; З. Р. Афашагова, Д. Э. Эрендженова — обзор литературы, написание статьи, анализ данных; А. С. Баширова, В. В. Фалчари — обзор литературы, сбор данных, написание статьи; Н. Э. Бабаева, А. Д. Алиева — концепция и дизайн, обзор литературы, написание статьи; Р. З. Курмалиева, Ю. Б. Федосеев — обзор литературы, написание и редактирование статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** пациент подписал добровольное информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

 **Для корреспонденции:** Карина Викторовна Коломиец  
ул. Красноармейская, д. 198, г. Новочеркасск, 346400, Россия; karina\_kolomiets\_99@mail.ru

**Статья получена:** 19.02.2024 **Статья принята к печати:** 18.04.2024 **Опубликована онлайн:** 29.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.014

## MULTIDISCIPLINARY APPROACH TO TREATMENT OF UNRESECTABLE LIVER METASTASES SEEDED BY LUMINAL BREAST CARCINOMA

Kolomiets KV , Afashagova ZR, Erendzhenova DE, Bashirova AS, Falchari VV, Babayeva NE, Aliyeva AD, Kurmalieva RZ, Fedoseyev YB


Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Breast cancer (BC) remains the main oncological pathology in the female population. Liver metastases in such cases mean an extremely unfavorable prognosis of the course of the disease. The key predictor of clinical outcome of metastatic BC is the molecular biological subtype of the tumor. The main goals of treatment of metastatic BC are to increase life expectancy, alleviate tumor-related symptoms, and maintain or improve patients' quality of life. Transarterial chemoembolization (TACE) enables new ways of liver metastases control. This article presents a case of application of TACE in combination with hormone therapy and selective inhibitors of CDK4/6 in a patient with unresectable liver metastases seeded by hormone-receptor positive (ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup>) breast carcinoma with an unknown Her2 status (2<sup>\*</sup>). The approach allowed achieving regression of the oncological process in the liver to the point of unclear CT visualizations of metastatic foci, and proper disease control in the course of 28 months.

**Keywords:** breast cancer, transarterial chemoembolization, hormone therapy, taxanes, selective inhibitors of cyclin-dependent kinases (CDK 4/6), liver metastases

**Author contribution:** Kolomiets KV — article authoring, editing; Afashagova ZR, Erendzhenova DE — literature review, article authoring, data analysis; Bashirova AS, Falchari VV — literature review, data collection, article authoring; Babayeva NE, Aliyeva AD — concept and design, literature review, article authoring; Kurmalieva RZ, Fedoseyev YB — literature review, article authoring and editing.

**Compliance with ethical standards:** the patient signed a voluntary informed consent to publication of anonymized medical information.

 **Correspondence should be addressed:** Karina V. Kolomiets  
Krasnoarmeyskaya st., 198, Novocherkassk, 346400, Russia; karina\_kolomiets\_99@mail.ru

**Received:** 19.02.2024 **Accepted:** 18.04.2024 **Published online:** 29.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.014

В структуре общей онкологической заболеваемости рак молочной железы (РМЖ) занимает 1-е место и остается основной онкологической патологией у женского населения. В 2022 г. в мире было диагностировано 2 296 840 новых случаев РМЖ от всех впервые выявленных онкологических процессов и зарегистрировано 666 103 летальных исходов. В Российской Федерации (РФ) в 2020 г. было впервые выявлено 75 052 (12,7%) случая РМЖ, а также зарегистрировано 23 130 летальных случаев от РМЖ [1]. Это очень гетерогенное заболевание, характеризующееся различными молекулярными профилями, которые клинически делят на три основных подтипа по рецептору

гормона (estrogen receptors, ER; progesterone receptors, PR; human epidermal growth factor receptor 2, HER2 или ERBB2): люминальный ER-положительный и PR-положительный, которые далее подразделяют на люминальный А и В, HER2-положительный и тройной отрицательный рак молочной железы. В качестве маркера пролиферативной активности опухоли используют также ядерный белок Ki-67, который кодируется геном MK167 и имеет важное прогностическое значение, так как наибольшей пролиферативной активностью обладают опухоли из наименее зрелых и дифференцированных клеток [2]. Обязательной составляющей лечения РМЖ является лекарственная

терапия, которая, в свою очередь, позволяет существенно увеличить продолжительность жизни пациентов с распространенным или метастатическим РМЖ, когда полное излечение невозможно, и повысить число излеченных больных на ранних стадиях заболевания [3].

С момента выявления метастатического поражения печени РМЖ медиана общей выживаемости (ОВ) составляет 18–24 месяцев, а общая пятилетняя выживаемость — 27% и 10-летняя, в свою очередь, — 13% соответственно. При отсутствии эффективного воздействия на метастазы в печени прогноз крайне неблагоприятный: выживаемость не превышает 4–8 месяцев [4]. Наилучшие показатели ОВ после выявления очагов в печени зафиксированы для HER2-положительных подтипов и достигают 38 месяцев при условии обязательного проведения анти-HER2-терапии. При трижды негативном подтипе медиана выживаемости больных с поражением печени составляет всего девять месяцев. Для люминального А- и В-подтипов РМЖ очень большой «разбег» ОВ, который зависит от режима терапии, медиана до внедрения iCDK составляет 21 месяц. Применение CDK-ингибиторов значительно повысило показатели выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости больных метастатическим РМЖ даже в такой неблагоприятной когорте больных с метастатическим поражением печени. Так, в группе плацебо медиана ОВ у больных без метастатического поражения печени составила 51,7 месяца, тогда как наличие метастазов в печени снизило данный показатель до 36,1 месяца. Применение рибоциклиба позволило продлить жизнь таким пациентам на 10 месяцев, а медиана ОВ при поражении печени в группе рибоциклиба достигла 46,5 месяца. Циклин-зависимые киназы (CDK4 и CDK6) активируются при образовании с D-циклинами и играют основную роль в сигнальных путях, регулирующих клеточный цикл, а также пролиферацию клеток. Три лекарственных средства (ЛС) ингибитора CDK4/6 (палбоциклиб, рибоциклиб и абемациклиб) доступны для женщин с прогрессирующим или метастатическим раком молочной железы с положительным гормональным рецептором (HR<sup>+</sup>), а также HER2<sup>-</sup>. Эффективность терапии ингибиторами CDK4/6 (палбоциклибом, рибоциклибом, абемациклибом) в комбинации с ингибиторами ароматазы в первой линии терапии у женщин в менопаузе доказана в трех крупных рандомизированных исследованиях PALOMA-2 (палбоциклиб), MONALEESA-2 (рибоциклиб) и MONARCH-3 (абемациклиб). Системная терапия является основой лечения метастатического РМЖ [5, 6].

Внедрение рентгенэндоваскулярных методов лечения, таких как ТАХЭ, открыло новые возможности контроля над метастазами в печень. Целью данного метода является введение химиотерапевтического ЛС в питающие опухоль артерии вместе с микросферами, предназначенными для замедления или прекращения дальнейшего поступления кислорода и питательных веществ в опухоль. Эта малоинвазивная методика, используемая для лечения как первичного, так и метастатического рака, была разработана и впервые применена в конце 1970-х гг. В настоящее время ее применяют у пациентов с опухолями различной локализации и, в частности, широко и эффективно используют для лечения нерезектабельных метастазов в печени, при которых первичным очагом опухоли может быть толстая кишка, молочные железы, легкие, саркома мягких тканей и меланома. При этом, в зависимости от объема поражения, ТАХЭ может быть применена как паллиативный метод лечения или

в качестве этапного лечения перед хирургическим вмешательством, радиочастотной абляцией, лучевой терапией и др. [7]. Предпочтительным является введение таких ЛС, как доксорубицин совместно с 5-фторурацилом, одновременно с традиционной химиотерапией таксанами.

Проведен систематический анализ исследований, посвященных лечению пациентов с метастазами РМЖ в печени с использованием метода ТАХЭ, опубликованных с 2000 по 2017 г. [8]. В анализ было включено всего 10 работ с общей выборкой из 519 пациентов. Из них у 78,0% пациентов применяли только ТАХЭ, у 9,9% — ТАХЭ в сочетании с системной химиотерапией, а у 12,1% — только системную химиотерапию. Было показано, что пациенты, которым проводили ТАХЭ, демонстрировали более высокие показатели медианы общей выживаемости (7,3–47,0 месяцев) и безрецидивной выживаемости в пределах 2,9–17,0 месяцев [8].

Цель данной работы — оценить эффективность мультидисциплинарного подхода: применения ТАХЭ в комбинации с лекарственными препаратами из группы таксанов (доцетаксел), а также терапии селективными ингибиторами циклин-зависимых киназ CDK4/6 совместно с гормональной терапией при метастатическом поражении печени РМЖ.

#### Описание клинического случая

У пациентки 57 лет в 2018 г. был выявлен рак правой молочной железы (C50.) Рак правой молочной железы pT2N3M0, st IIIc, кл. гр. 2), по поводу которого было проведено комбинированное лечение в следующем объеме: радикальная мастэктомия (PMЭ) справа, дистанционная гамма-терапия (ДГТ), гормонотерапия (тамоксифен).

#### Результаты контрольного обследования

Результаты компьютерной томографии органов грудной клетки и брюшной полости (КТ ОГК и ОБП) от 22.12.2021: легкие без очаговых и инфильтративных изменений; плотность паренхимы печени неравномерна, в обеих долях множественные метастатические очаги до 2,6 см (ранее не определялись) (рис. 1А, Б).

Несмотря на множественные метастатические очаги в печени, не наблюдалось компрессии желчевыводящих путей, кожные покровы и видимые слизистые оболочки были физиологической окраски. Жалобы на наличие зуда со стороны кожных покровов также отсутствовали, свое состояние пациентка отмечала как удовлетворительное, а биохимические показатели были в пределах референсных значений.

Проведено УЗИ молочных желез 22.12.2021, заключение: эхографически без признаков рецидива и наличия узловых образований.

Протокол иммуногистохимического (ИГХ) исследования при трепан-биопсии метастатического очага в печени от 29.12.2021, заключение: метастаз карциномы молочной железы с положительным гормональным статусом (ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup>) и неопределенным Her2-статусом (2<sup>+</sup>).

С учетом распространенности процесса и данных ИГХ рекомендовано проведение гормонотерапии: летрозол 2,5 мг в сутки внутрь ежедневно длительно плюс рибоциклиб 600 мг в сутки внутрь с 1-го по 21-й дни, интервал 7 дней.

Был поставлен диагноз: (C50.) Рак правой молочной железы pT2N3M0, st IIIc, кл. гр. 2, состояние после

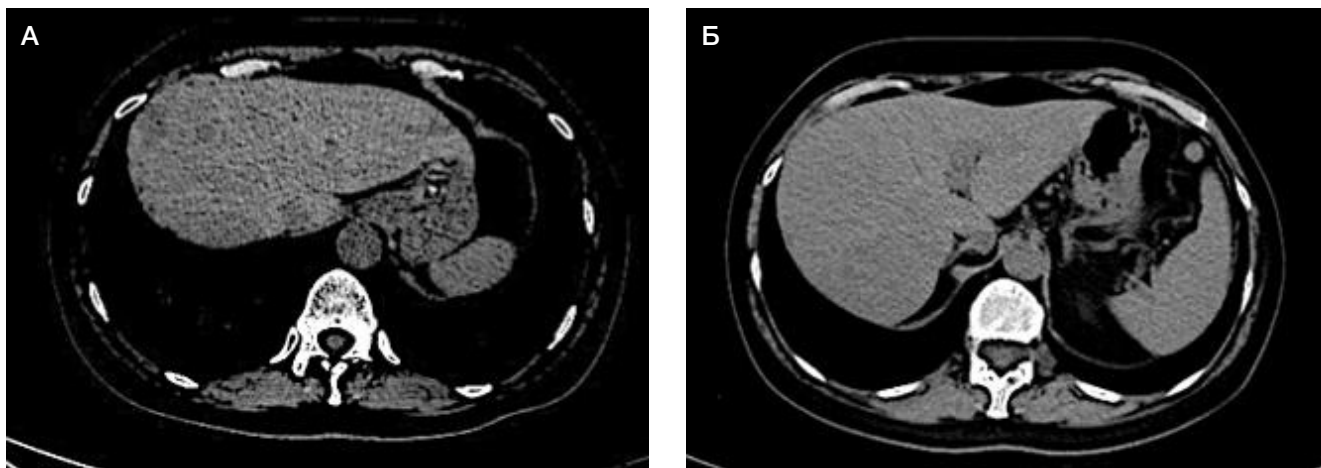


Рис. 1. А, Б. Компьютерная томография брюшной полости от 22.12.2021. В обеих долях множественные метастатические очаги до 2,6 см

комплексного лечения в 2018–2019 г. — РМЭ справа, ДГТ, гормонотерапия, декабрь 2021 г. — прогрессирование (НЕР).

Пациентка обратилась в клинику РостГМУ в декабре 2021 г., где с учетом объема поражения печени, данных анамнеза заболевания и инструментальных методов исследования, распространенности процесса консилиумом было принято решение о целесообразности использования локорегиональной терапии (ТАХЭ) в комплексе лечения.

Проведена ТАХЭ метастатических очагов в печени (доцетаксел 150 мг + микросферы) 27.01.2022. На момент выписки свое состояние пациентка оценивала как удовлетворительное, несмотря на количество метастатических очагов; отмечалось незначительное повышение температуры в течение первого дня после проведения ТАХЭ. Далее согласно рекомендациям химиотерапевта пациентка получала гормонотерапию (анастрозол) и ингибиторы CDK4/6.

#### Описание оперативного вмешательства

В асептических условиях рентгеноперационной больной в положении на спине после соответствующей обработки операционного поля выполнена пункция левой лучевой артерии в типичном месте (игла ангиографическая 18G). Артерия катетеризована по Сельдингеру (интродьюсер 5F 11 см). Катетер H1 125 см по гидрофильному проводнику 035" 180 см последовательно проведен в левую плечевую, подмышечную, подключичную артерии, нисходящую, грудную аорту. Удален проводник, выполнена аортография — чревный ствол отходит на уровне L1. Произведена селективная катетеризация устья чревного ствола — ход краниальный, селезеночная артерия не расширена, извита, гипертрофии желудочных ветвей (анастомозов) не определяется. Общая печеночная артерия не визуализируется — от чревного ствола отходит левая печеночная артерия, в среднем отделе от нее ответвляется гастродуоденальная артерия. При селективной катетеризации верхней брыжеечной артерии визуализируется правая печеночная артерия, отходящая от проксимального отдела верхней брыжеечной. Последовательно селективно катетеризированы левая, затем правая печеночные артерии — при ангиографии визуализируются гипervasкулярные образования в проекции обеих долей печени. Микрокатетером 1,98F на микропроводнике 014" 165 см произведена

суперселективная катетеризация афферентных опухолевых артерий. Выполнена эмболизация артерии серповидной связки спиралью позиционируемой Concerto 5 × 15 см для защиты от нецелевой эмболизации. После насыщения химиопрепаратом (доцетаксел 150 мг) микросфер HераSphere (Merit Medical; США) 150–200 нм выполнена химиоэмболизация артерий, кровоснабжающих метастатические очаги. Микрокатетер удален. При контрольной ангиографии определяется выраженное замедление контрастирования по сегментарным ветвям печеночной артерии, кровоснабжающим множественные опухолевые очаги. Признаков нецелевой эмболизации не выявлено. Катетер выведен в аорту; по результатам контрольной ангиографии правая и левая печеночные, гастродуоденальная, верхняя брыжеечная артерии не скомпрометированы. Инструментарий последовательно удален. Удален интродьюсер. Гемостаз компрессией — 8 мин (стабильный). Проведена обработка спиртом, наложена асептическая давящая повязка.

Была назначена следующая послеоперационная сопроводительная фармакотерапия:

- для анальгезии: кетопрофен 100 мг 2 раза в день внутримышечно в течение 5 дней; дротаверин 40 мг 2 раза в день внутримышечно в течение 5 дней;

- в целях профилактики тромбозов эмболических осложнений: парнапарин натрия 0,3 мл подкожно 1 раз в день в течение 7 дней;

- инфузионная терапия: с гепатопротективной целью — ремаксол 400 мл 1 раз в день внутривенно в течение 3 дней, с целью профилактики язвенных осложнений желудочно-кишечного тракта — NaCl 0,9% 500 мл + 40 мг омепразола 1 раз в день внутривенно 3 дня.

Заключение контрольных КТ ОГК и ОБП, выполненных 04.05.2022: легкие без очаговых и инфильтративных изменений, плотность паренхимы печени равномерна, в обеих долях множественные метастатические очаги размером до 2,6 см неравномерно накапливают контраст (препарат Омнипак) (без динамики с декабря 2021 г.). С учетом объема поражения печени, распространенности и динамики процесса принято решение о целесообразности продолжения использования локорегиональной терапии (ТАХЭ печени) в комплексе лечения (рис. 2А, Б).

Принято решение о повторном выполнении ТАХЭ 18.05.2022.

Пациентке были выполнены химиоэмболизация метастатических очагов в печени и паренхиматозная химиоэмболизация артерий, кровоснабжающих очаги

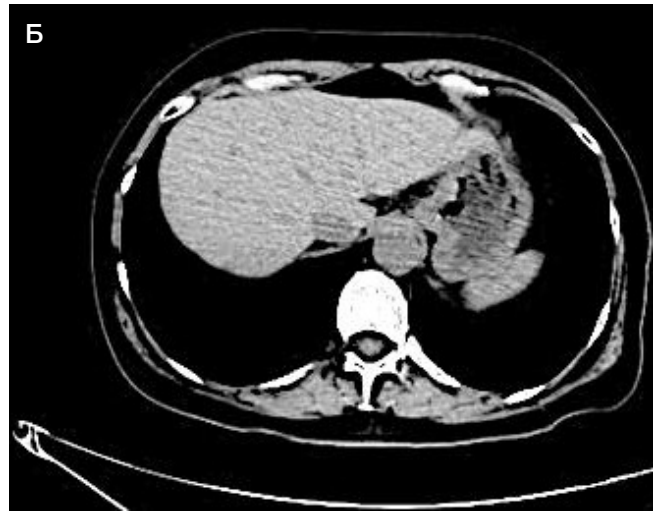


Рис. 2. А, Б. Компьютерная томография брюшной полости от 04.05.2022. В обеих долях множественные метастатические очаги до 2,6 см, неравномерно накапливают контраст (без динамики с декабря 2021 г.)

(липиодол 10 мл + доцетаксел 150 мг). Артериальную эмболизацию проводили суспензией гемостатической губки. После оперативного вмешательства была назначена послеоперационная сопроводительная фармакотерапия в соответствии с указанными ранее рекомендациями (после первого сеанса ТАХЭ от 27.01.2022), далее продолжали проводить терапию гормонами (анастрозол) и ингибиторами CDK4/6.

Для контрольного обследования 18.07.2022 выполнили КТ головного мозга, ОГК И ОБП. Заключение: патологических изменений со стороны головного мозга, органов шеи, грудной клетки не выявлено, в печени в обеих долях множественные метастатические очаги до 2,1 см (рис. 3А, Б).

С учетом объема поражения печени, распространенности и положительной динамики процесса принято решение о целесообразности продолжения использования локорегиональной терапии (ТАХЭ печени) в комплексе лечения.

Решение о повторном выполнении ТАХЭ было принято 26.07.2022. Проведена химиоэмболизация метастатических очагов в печени. После суперселективной катетеризации выполнена эмболизация правой желудочной артерии (для предотвращения нецелевой эмболизации) окклюдером сосудистым Amplatzer Vascular Plug II 9-AVP2-016 (Abbott, США). После суперселективной катетеризации афферентных опухолевых артерий

выполнена химиоэмболизация (доцетаксел 150 мг + суспензия гемостатической губки). После оперативного вмешательства пациентке была назначена послеоперационная сопроводительная фармакотерапия в соответствии с указанными ранее рекомендациями (после первого сеанса ТАХЭ от 27.01.2022).

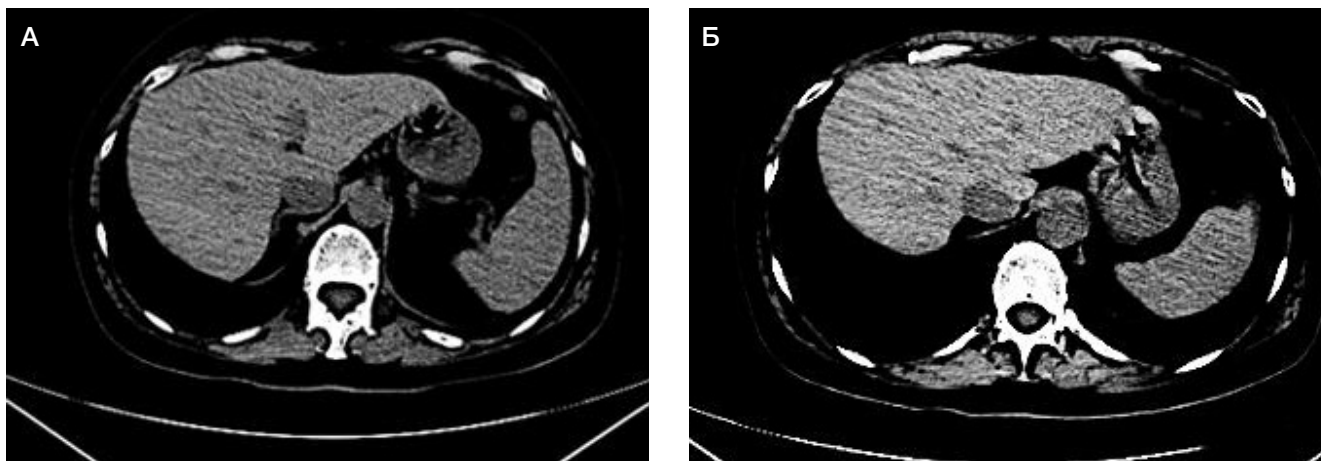
Для очередной проверки результатов провели следующие контрольные исследования.

КТ ОБП от 26.09.2022: контуры печени ровные, четкие, в размерах печень не увеличена, плотность паренхимы равномерна, в обеих долях множественные метастатические очаги до 2,1 см (без динамики с 18.07.22) (рис. 4А, Б).

КТ ОБП от 30.11.2022: плотность паренхимы равномерна, в обеих долях единичные метастатические очаги до 1,5 см. Положительная динамика, уменьшение размеров и количества очагов с 26.09.22. Оценку эффективности ТАХЭ проводили через месяц по КТ/МРТ с внутривенным контрастным усилением с использованием критериев RECIST 1.1 (2009 г.) (Response evaluation criteria in solid tumours), согласно которым был получен частичный ответ (регрессия): > 30% суммы наибольших размеров (длинных осей) очагов. С учетом объема поражения печени, распространенности и динамики процесса принято решение о целесообразности продолжения использования



Рис. 3. А, Б. Компьютерная томография брюшной полости от 18.07.2022. В обеих долях печени множественные метастатические очаги до 2,1 см (положительная динамика от 04.05.2022)



**Рис. 4. А, Б.** Компьютерная томография брюшной полости от 26.09.2022. В обеих долях печени множественные метастатические очаги до 2,1 см (без динамики с 18.07.2022)

локорегинальной терапии (ТАХЭ печени) в комплексе лечения (рис. 5А, Б).

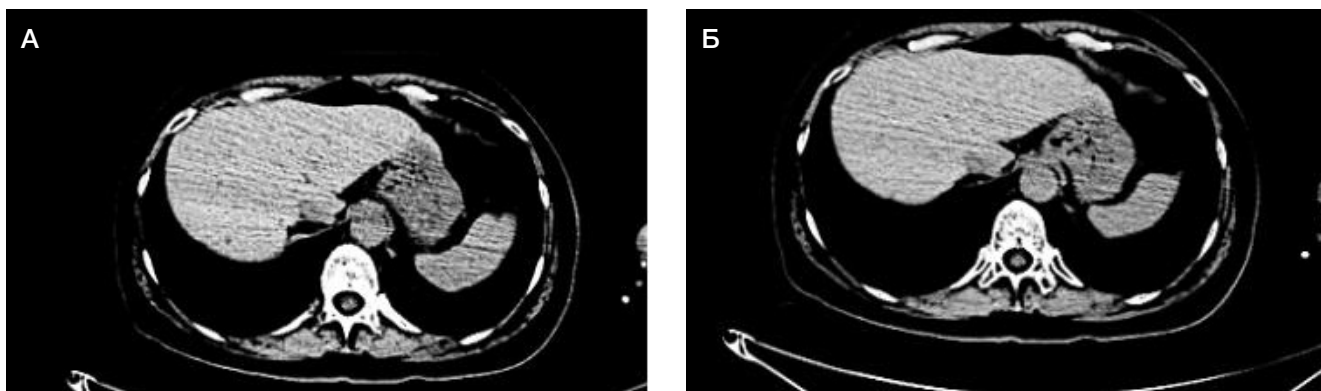
Решение о повторном выполнении ТАХЭ было принято 05.12.2022. Пациентку госпитализировали 05.12.2022 и 06.12.2022 провели операцию ТАХЭ метастатических очагов в печени № 4. После суперселективной катетеризации афферентных опухолевых артерий выполнили химиоэмболизацию (доцетаксел 150 мг + суспензия гемостатической губки).

После оперативного вмешательства была назначена послеоперационная сопроводительная фармакотерапия в соответствии с указанными ранее рекомендациями (после первого сеанса ТАХЭ от 27.01.2022). Далее согласно

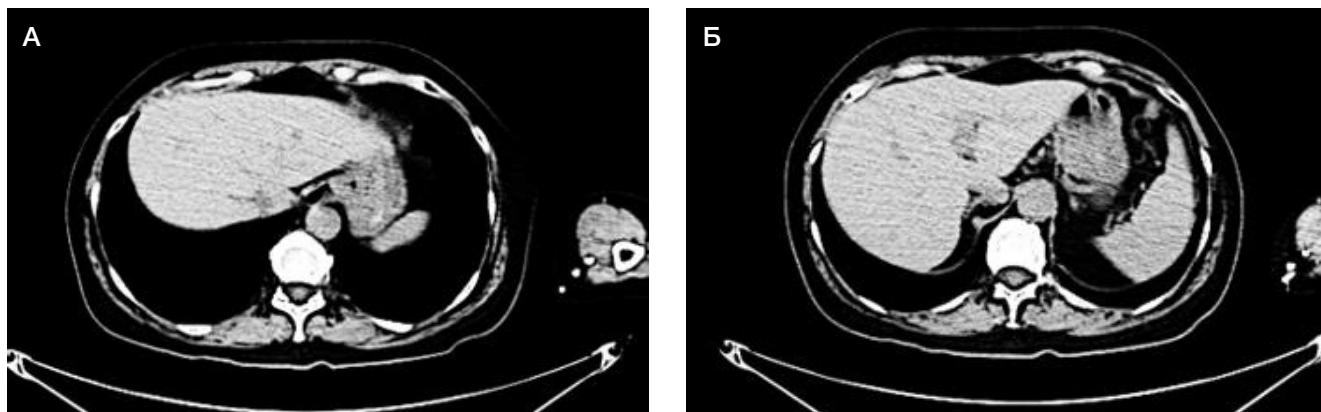
рекомендациям химиотерапевта пациентке проводили гормонотерапию (анастрозол) и ингибиторы CDK4/6.

Для контрольного исследования 01.03.2023 выполнена КТ ОБП: плотность паренхимы печени равномерна, в обеих долях единичные метастатические очаги до 0,9 см уменьшение размеров очагов с 30.11.2022; положительная динамика (по критериям RECIST 1.1 (2009 г.)) (рис. 6А, Б).

В плановом порядке 03.06.2023 была проведена консультация химиотерапевта: в связи с положительной динамикой было рекомендовано продолжить гормонотерапию при удовлетворительных общеклинических показателях крови и при отсутствии соматических противопоказаний: ингибиторы CDK4/6 —



**Рис. 5. А, Б.** Компьютерная томография брюшной полости от 30.11.2022. В обеих долях печени единичные метастатические очаги до 1,5 см (положительная динамика от 26.09.2022)



**Рис. 6. А, Б.** Компьютерная томография брюшной полости от 01.03.2023. В обеих долях печени единичные метастатические очаги до 0,9 см, уменьшение размеров очагов с 30.11.2022 (положительная динамика)

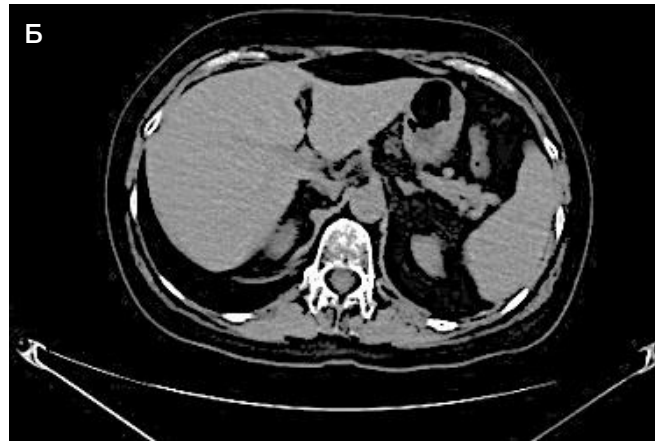


Рис. 7. А, Б. Компьютерная томография брюшной полости от 03.10.2023. Метастатические очаги в печени в настоящее время четко не визуализируются с 01.03.2023 (положительная динамика)

рибоциклиб 600 мг или палбоциклиб 125 мг внутрь с 1-го по 21-й день с интервалом 7 дней длительно, цикл 28 дней + ингибиторы ароматазы — летрозол 2,5 мг или анастрозол 1 мг ежедневно длительно.

Результаты КТ ОГК и ОБП от 03.10.2023: метастатические очаги в печени в настоящее время четко не визуализируются с 01.03.2023. Плотность паренхимы равномерна, локальных участков снижения либо повышения плотности не наблюдается (рис. 7А, Б).

В связи с положительной динамикой рекомендовано продолжить комбинированную терапию при удовлетворительных общеклинических показателях крови, а также при отсутствии соматических противопоказаний по схеме: ингибиторы CDK4/6 — рибоциклиб 600 мг или палбоциклиб 125 мг внутрь с 1-го по 21-й день с интервалом 7 дней длительно, цикл 28 дней + ингибиторы ароматазы — Летрозол 2,5 мг или Анастрозол 1 мг ежедневно длительно.

Результаты КТ от 15.01.2024: патологических изменений со стороны головного мозга, органов шеи, грудной клетки не выявлено. Метастатические очаги в печени в настоящее время четко не визуализируются с 03.10.2023.

В связи с положительной динамикой рекомендовано продолжить комбинированную терапию, а также с целью профилактики остеопороза и снижения риска рецидива болезни рекомендуется:

- бисфосфонаты (золедроновая кислота 4 мг в/в 1 раз в 6 месяцев);
- колекальциферол 400–800 МЕ/сут. внутрь ежедневно + кальция карбонат 500–1000 мг/сут. внутрь ежедневно длительно;
- контроль минеральной плотности костей (денситометрия) 1 раз в год.

Результаты КТ от 16.04.2024: патологических изменений со стороны головного мозга, органов шеи, грудной клетки не выявлено. Метастатические очаги в печени в настоящее время четко не визуализируются без отрицательной динамики с 15.01.2024.

Рекомендовано продолжить комбинированную терапию.

Значительной токсичности во время терапии не было отмечено, коррекции доз не потребовалось, периодически возникали транзиторные повышения печеночных ферментов АЛТ и АСТ). В настоящее время пациентка следует рекомендациям химиотерапевта. Состояние отмечает как удовлетворительное, не предъявляя активных жалоб, проводимое лечение не сказывается на качестве жизни.

### Обсуждение клинического случая

Метастатическое поражение печени значительно снижает продолжительность жизни больных РМЖ: медиана ОВ, согласно данным регистра SEER, составляет 20 месяцев [9].

В процессе оперативного вмешательства по поводу метастатического поражения печени РЖМ с положительным гормональным статусом (ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup>) и неопределенным Her2-статусом (2<sup>+</sup>) посредством ТАХЭ с использованием микросфер была обеспечена пролонгированная ишемия за счет блокады артериального притока в опухоли, и в то же время производилось постепенное высвобождение химиопрепарата в области метастазов за счет насыщенных НераSphere, что обеспечивало селективное цитостатическое воздействие химиотерапевтического ЛС (доцетаксела) высокой концентрации и минимизировало развитие системных побочных явлений.

В свою очередь, использование гормональной терапии и лечение с помощью селективных ингибиторов циклин-зависимых киназ CDK4/6 (рибоциклиб) являются значительным достижением в лечении опухолей и демонстрируют обнадеживающие результаты (в первой линии лечения позволяют преодолеть пятилетний рубеж), что существенно улучшает прогноз для пациентов. Рибоциклиб продемонстрировал высокую эффективность применения у самой неблагоприятной когорты пациентов, которые имеют метастатическое поражение печени, увеличив продолжительность жизни приблизительно до года и достигнув медианы 36,1 месяца в разнородной популяции больных, которые получали его как в первой, так и во второй линиях по данным рандомизированного исследования MONALEESA-3.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование современных методов, таких как ТАХЭ, в сочетании с традиционными в лечении метастатического поражения печени РМЖ представляет несомненный интерес для дальнейшего исследования, так как способствует улучшению качества жизни пациентов и повышению показателей безрецидивной и ОВ.

Эффективное применение мультидисциплинарного подхода, а именно использование методики ТАХЭ в комбинации с селективными ингибиторами циклин-зависимых киназ CDK4/6 (которое увеличило выживаемость без прогрессирования, обеспечило



достоверное продление жизни, сохранило высокое качество жизни) и гормонотерапией у пациентки при нерезектабельном метастатическом поражении печени РМЖ с положительным гормональным статусом (ER+/PR-) и неопределенным Her2-статусом (2+), позволило достигнуть регресса онкологического процесса в печени и отсутствия четкой визуализации метастатических очагов

в печени при исследовании органов брюшной полости. На момент подготовки публикации пациентка получает терапию по поводу метастатического РМЖ на протяжении 28 месяцев. Данный факт отсутствия визуализации метастатических очагов в печени может служить важным показателем эффективности комбинированной терапии у данной пациентки.

#### Литература

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024; 4. DOI: 10.3322/caac.21834.
2. Loibl S, Poortmans P, Morrow M, et al. Breast cancer. *Lancet.* 2021; 8; 397 (10286):1750–69. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32381-3.
3. Liberchuk AN, Deipolyi AR. Hepatic Metastasis from Breast Cancer. *Semin Intervent Radiol.* 2020; 37 (5): 518–26; DOI: 10.1055/s-0040-1720949.
4. Eng LG, Dawood S, Sopik V, et al. Ten-year survival in women with primary stage IV breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 160 (1): 145–52; DOI: 10.1007/s10549-016-3974-x.
5. Cersosimo RJ. Cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitors for the management of advanced or metastatic breast cancer in women. *Am J Health Syst Pharm.* 2019; 76 (16): 1183–202. DOI: 10.1093/ajhp/zxz121.
6. Yardley DA, Chan A, Nusch A, et al. Abstract P6-18-07: Ribociclib+ endocrine therapy in patients with hormone receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer presenting with visceral metastases: Subgroup analysis of phase III MONALEESA trials. *Canc Res.* 2019; 79 (4): P6-18-07 — P6-18-07; DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS18-P6-18-07.
7. Barakat E, Bibok A, Rishi A, et al. Transarterial Yttrium-90 glass microsphere radioembolization of chemotherapy-refractory breast cancer liver metastases: results of a single institution retrospective study. *Adv Radiat Oncol.* 2021; 7 (1): 100838; DOI: 10.1016/j.adro.2021.100838.
8. Wang L, Lin ZG, Ke Q, et al. Adjuvant transarterial chemoembolization following radical resection for intrahepatic cholangiocarcinoma: A multi-center retrospective study. *J Cancer.* 2020; 11 (14): 4115–22; DOI:10.7150/jca.40358.
9. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, Research Data (1975–2016), National Cancer Institute (NCI), Division of Cancer Control and Population Sciences (DCCPS), Surveillance Research Program (SRP), released April 2019. Available from: <https://seer.cancer.gov/>.

#### References

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024; 4. DOI: 10.3322/caac.21834.
2. Loibl S, Poortmans P, Morrow M, et al. Breast cancer. *Lancet.* 2021; 8; 397 (10286):1750–69. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32381-3.
3. Liberchuk AN, Deipolyi AR. Hepatic Metastasis from Breast Cancer. *Semin Intervent Radiol.* 2020; 37 (5): 518–26; DOI: 10.1055/s-0040-1720949.
4. Eng LG, Dawood S, Sopik V, et al. Ten-year survival in women with primary stage IV breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 160 (1): 145–52; DOI: 10.1007/s10549-016-3974-x.
5. Cersosimo RJ. Cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitors for the management of advanced or metastatic breast cancer in women. *Am J Health Syst Pharm.* 2019; 76 (16): 1183–202. DOI: 10.1093/ajhp/zxz121.
6. Yardley DA, Chan A, Nusch A, et al. Abstract P6-18-07: Ribociclib+ endocrine therapy in patients with hormone receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer presenting with visceral metastases: Subgroup analysis of phase III MONALEESA trials. *Canc Res.* 2019; 79 (4): P6-18-07 — P6-18-07; DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS18-P6-18-07.
7. Barakat E, Bibok A, Rishi A, et al. Transarterial Yttrium-90 glass microsphere radioembolization of chemotherapy-refractory breast cancer liver metastases: results of a single institution retrospective study. *Adv Radiat Oncol.* 2021; 7 (1): 100838; DOI: 10.1016/j.adro.2021.100838.
8. Wang L, Lin ZG, Ke Q, et al. Adjuvant transarterial chemoembolization following radical resection for intrahepatic cholangiocarcinoma: A multi-center retrospective study. *J Cancer.* 2020; 11 (14): 4115–22; DOI:10.7150/jca.40358.
9. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, Research Data (1975–2016), National Cancer Institute (NCI), Division of Cancer Control and Population Sciences (DCCPS), Surveillance Research Program (SRP), released April 2019. Available from: <https://seer.cancer.gov/>.

## ПОТЕНЦИАЛЬНО НЕПРИЕМЛЕМЫЕ НАЗНАЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ У ДЕТЕЙ В КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ: POPI-КРИТЕРИИ В РОССИИ

А. В. Власова<sup>1,2,3</sup> ✉, Т. В. Куличенко<sup>4</sup>, Е. В. Смирнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> Морозовская детская городская клиническая больница, Москва, Россия

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента, Москва, Россия

<sup>4</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

POPI-критерии (Pediatrics: Omission of Prescriptions and Inappropriate prescriptions) для оценки терапии сопутствующих заболеваний, осложнений и фоновых состояний у детей, по аналогии с критериями Бирса у взрослых, признаны единственным существующим инструментом выявления потенциально неприемлемых назначений, позволяют оценить назначения лекарственных препаратов у детей на стационарном и амбулаторном этапе оказания медицинской помощи. Целью исследования было изучить структуру и частоту потенциально неподходящих назначений лекарственных препаратов в детском отделении АиР детского многопрофильного стационара на основе адаптированной версии POPI-критериев для сопутствующей неантимикробной терапии при нозокомиальных инфекциях. Проводили анализ 305 случаев назначения неантимикробных лекарственных препаратов на 100 включенных пациентов. Частота потенциально неприемлемых назначений составила 31 (10,5%) случаев, из них потенциально ненадлежащее лекарство назначено в 29 (9,5%) случаях и потенциально пропущено лекарство — в трех (1%) случаях. Самый высокий уровень потенциально неприемлемых назначений выявлен при респираторных заболеваниях. Оценка сопутствующей терапии у детей с инфекцией в критических состояниях не выявила статистически значимых влияний на частоту нежелательных реакций на антибиотики у детей. В условиях внедрения медицинских информационных систем (МИС) и листа назначений интеграция адаптированных POPI-критериев актуальна для поддержания качества и безопасности лекарственной терапии сопутствующих заболеваний, состояний и осложнений у детей.

**Ключевые слова:** дети, потенциально неприемлемые назначения, потенциально пропущенное лекарство, потенциально ненадлежащее лекарство

**Вклад авторов:** А. В. Власова — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание и редактирование текста; Е. В. Смирнова — статистическая обработка данных, редактирование статьи; Т. В. Куличенко — редактирование статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ» (протокол исследования 24.10.2019 опубликован на платформе ClinicalTrials.gov ID: NCT04141657 Unique Protocol ID: 07819001 Brief Title: Safety Analysis of Antimicrobial Pharmacotherapy in Intensive Care Unit at Pediatric Hospital Official Title: Observational Prospective Multidirectional Study on the Safety of Antimicrobial Pharmacotherapy in Intensive Care Unit (ICU) Children Aged 0-17).

✉ **Для корреспонденции:** Анна Викторовна Власова  
4-й Добрынинский переулок, дом 1/9, г. Москва, 119049, Россия; annavlasova75@mail.ru

**Статья получена:** 21.02.2024 **Статья принята к печати:** 27.04.2024 **Опубликована онлайн:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.018

## POTENTIALLY INAPPROPRIATE PRESCRIBING AMONG CRITICALLY ILL CHILDREN: POPI-CRITERIA IN RUSSIA

Vlasova AV<sup>1,2,3</sup> ✉, Kulichenko TV<sup>4</sup>, Smirnova EV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Morozov Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Research Institute for Healthcare Organization and Medical Management, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The POPI criteria (Pediatrics: Omission of Prescriptions and Inappropriate prescriptions) for assessment of treatment of comorbidities, complications and underlying conditions in children that are accepted as the only existing instrument for detection of potentially inappropriate prescriptions, make it possible to evaluate prescriptions in children at the inpatient and outpatients stages of care provision, similar to the Beers criteria for adults. The study was aimed to assess the structure and rate of potentially inappropriate prescribing in the pediatric anesthesiology and resuscitation department of the multidisciplinary children's hospital based on the adapted version of POPI criteria for non-antibiotic concomitant therapy of nosocomial infections. We analyzed 305 cases of non-antibiotic medication prescription per 100 patients included. The rate of potentially inappropriate prescribing was 31 cases (10.5%), among which potentially inappropriate medication was prescribed in 29 cases (9.5%), and potentially missed medication took place in three cases (1%). The highest rate of potentially inappropriate prescribing was reported for respiratory diseases. Assessment of concomitant therapy in the critically ill children with infections revealed no significant effects on the rate of adverse reactions to antibiotics in children. In the context of implementing medical information systems (MIS) and prescription sheets, integration of the adapted POPI criteria is topical in terms of maintaining the quality and safety of drug therapy for treatment of concomitant diseases, conditions, and complications in children.

**Keywords:** children, potentially inappropriate prescriptions, potentially missed medication, medication errors

**Author contribution:** Vlasova AV — study concept and design, data acquisition and processing, manuscript writing and editing; Smirnova EV — statistical data processing, manuscript editing; Kulichenko TV — manuscript editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Morozov Children's City Clinical Hospital (the research protocol dated 24.10.2019 was published on ClinicalTrials.gov, ID: NCT04141657, Unique Protocol ID: 07819001, Brief Title: Safety Analysis of Antimicrobial Pharmacotherapy in Intensive Care Unit at Pediatric Hospital Official, Title: Observational Prospective Multidirectional Study on the Safety of Antimicrobial Pharmacotherapy in Intensive Care Unit (ICU) Children Aged 0-17).

✉ **Correspondence should be addressed:** Anna V. Vlasova  
4<sup>th</sup> Dobryninsky pereulok, 1/9, Moscow, 119049, Russia; annavlasova75@mail.ru

**Received:** 21.02.2024 **Accepted:** 27.04.2024 **Published online:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.018

В педиатрической популяции частота нежелательных реакций (НР) на лекарственные препараты (ЛП) для госпитализированных пациентов составляет 9,53%, для амбулаторных — 1,46%; а частота НР на ЛП, приводящая к госпитализации детей, — 2,09% [1].

Частота НР у детей в два раза выше, чем у взрослых (у новорожденных — в четыре раза); около 7000 детей ежегодно умирают из-за ошибок при приеме лекарств, а частота нерационального употребления лекарств достигает 12–32% [2, 3].

Ограниченные данные у детей о влиянии лекарственной терапии у коморбидного пациента на частоту НР на ЛП делают актуальной проблему оценки безопасности лекарственных назначений в отделениях анестезиологии и реанимации (АиР). Исследования по процедуре применения POCI-критериев (Pediatrics: Omission of Prescriptions and Inappropriate Prescriptions) для оценки терапии сопутствующих заболеваний, осложнений и фоновых состояний у детей [2, 4–6] по аналогии с критериями Бирса у взрослых [6] в условиях внедрения медицинских информационных систем и листа назначений требуют изучения проблемы сложившейся практики лекарственных назначений в каждой медицинской организации для уменьшения ошибок.

По мнению многих исследователей, разработка критериев оценки правильности назначений ЛП у детей находится в зачаточном состоянии; для детей существовало только три группы критериев [6–8]. Первыми критерии оценки лекарственных назначений для детей в 2011 г. разработали эксперты по педиатрии из Франции [6], позднее POCI-критерии выпустили в Великобритании [7]. В 2022 г. китайские исследователи, озадачившись отсутствием инструмента для оценки правильности назначений у детей на основе своей реальной клинической практики, опубликовали всесторонний систематический обзор существующих инструментов для выявления правильности лекарственных назначений у детей и их применимости в клинической практике [2]. Назначение считается надлежащим, когда оно соответствует показаниям, хорошо переносится большинством пациентов и экономически обоснованно. В соответствии с одной из предложенных концепций [9], потенциально неприемлемое назначение (ПНН) характеризуется одним из двух составляющих: потенциально неподходящего лекарства (ПНЛ) и потенциального пропуска лекарства (ППЛ). Суждение о ПНЛ основано на случаях назначения, когда потенциальные риски НР перевешивают потенциальную клиническую пользу, особенно при наличии более безопасных или эффективных альтернатив. ПНЛ, как правило, включает ошибки при назначении: неправильный выбор, дозировка, продолжительность, риск потенциального взаимодействия с другими препаратами или с пищей и т. д. или избыточное назначение — полипрагмазия. Суждение о ППЛ основывается на выявлении случая отказа от назначения со значительными преимуществами, потенциально увеличивающими продолжительность или качество жизни пациента при отсутствии противопоказаний, включая случай неназначения препарата, рекомендованного национальным руководством или клиническими рекомендациями [9].

Целью настоящего исследования было изучить структуру и частоту потенциально неподходящего лекарства в детском отделении АиР на основе адаптированной версии POCI-критериев.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В проспективном наблюдательном исследовании в ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ» с 01.02.2020 по 01.09.2021 у 100 детей (44 мальчика, 56 девочек) в возрасте от 0 до 17 лет включительно в критическом состоянии с нозокомиальной инфекцией оценивали сопутствующую терапию препаратами регулярного применения [10]. Средний возраст детей составил  $5,36 \pm 5,5$  года, значительных различий по полу и возрасту не отмечено. В период с 20.02.2020 по 30.11.2020 на время приема стационаром пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 включение пациентов в исследование было остановлено.

Критерии включения пациентов в исследование: наличие инфекций с факторами риска полирезистентных возбудителей — типы II–IV при стратификации по SKAT1; наличие симптомокомплекса по критериям соответствия нозокомиальной инфекции определенной, вероятной или возможной на основе микробиологических данных [11] по определению Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) [12] и Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) [13]; наличие положительных результатов микробиологического исследования биологического материала с выделением этиологически значимого полирезистентного микроорганизма.

Все пациенты имели показания к применению антимикробных препаратов в соответствии с установленными критериями соответствия стандартному случаю определения нозокомиальной инфекции, вызванной резистентными микроорганизмами, по критериям CDC и ECDC [11–13].

Критерии исключения: наличие новой коронавирусной инфекции COVID-19; наличие онкологических заболеваний; внебольничные инфекции без факторов риска полирезистентных возбудителей — тип I при стратификации по SKAT; терминальные стадии недостаточности органов и систем как конкурирующие с инфекцией за основной диагноз или состояние. Другие критерии исключения: дети, находящиеся под опекой. Предыдущая/сопутствующая терапия для включения в исследование не имела значения.

Оценку сопутствующей терапии (неантимикробными лекарственными препаратами) у детей в критических состояниях проводили с помощью POCI-критериев (версия 2019 г. с изменениями и дополнениями) [5]. Метод аналогичен критериям Бирса у взрослых. План проведения оценочных процедур и персонализированная оценка применения POCI-критериев представлены в табл. 1.

Для пациентов в критических состояниях системный воспалительный ответ при инфекции оценивали по уровню и динамике изменений маркеров воспаления — С-реактивного белка и прокальцитонина. Эффективность антимикробной терапии оценивали по двукратному снижению уровня прокальцитонина и/или С-реактивного белка. При оценке динамики учитывали результаты методов визуализации в соответствии с локализацией инфекционного процесса. При наличии нескольких локализаций инфекции при оценке приоритет отдавали «зоне интереса» с наиболее выраженным вовлечением.

Для проведения статистической обработки результатов исследования использовали пакет компьютерных программ IBM SPSS Statistics v26 (IBM; США). Для сравнения шанса получения искомым результатов в двух

Таблица 1. Персонализированная оценка неантимикробной терапии по POP1-критериям для 100 пациентов отделения АиР [5]

Критерий оценки	Имеется, 1 балл (да/нет), число пациентов с 1 баллом		
НПВП в качестве жаропонижающих:			
Первая линия НЕ парацетамол через рот	1	Да	3
Первая линия парацетамол ректально	1	Нет	0
Первая линия — два жаропонижающих (парацетамол + ибупрофен)	1	Нет	0
Ибупрофен перорально, раствор вводят в разовой дозе 10 мг/кг 3 раза/сутки	1	Нет	0
Назначена комбинация двух НПВП (кроме парацетамола ректально)	1	Да	14
Значение 1 и более — требуется коррекция терапии		Итого	17
Лечение болевого синдрома:			
Не назначен раствор сахара или глюкозы перорально за 2 мин до венепункции у новорожденных и младенцев до 4 месяцев	1	Да	9
При назначении Морфина более 48 ч НЕ назначено осмотическое слабительное	1	Нет	0
Значение 1 и более — требуется коррекция назначений		Итого	9
Витамины [5]:			
На грудном вскармливании витамин D в дозе 1000–1200 МЕ/день	1	Да	9
На искусственном вскармливании до 18 месяцев при наличии витамина D в молочной смеси 600–800 МЕ/день	1	Нет	0
Дети от 18 месяцев до 5 лет и подростки 10–18 лет в зимний период два приема в квартал дозы витамина D 80 000–100 000 МЕ/день [5]	1	Нет	0
Значение 1 и более — не требуется коррекция назначений		Итого	9
Тошнота, рвота, гастроэзофагеальный рефлюкс:			
Назначен метоклопрамид	1	Нет	0
Назначен домперидон	1	Да	2
Ингибитор протонной помпы в форме для внутривенного введения используют перорально или через зонд	1	Нет	0
Ингибиторы протонного насоса или H-2 гистаминоблокаторы назначены при следующих патологиях: гастроэзофагеальный рефлюкс, диспепсия (тошнота, рвота)	1	Нет	0
Назначение ингибиторов протонного насоса у пациентов без факторов риска в качестве профилактики при коротком курсе НПВП	1	Нет	0
H-2 гистаминоблокаторы длительно	1	Нет	0
Значение 1 и более — требуется коррекция назначений		Итого	2

группах дихотомических переменных использовали метод отношения шансов.

Включение в исследование проводили на момент развития инфекции: у 81 ребенка инфекция развилась во время пребывания в отделении АиР на фоне течения основного заболевания или состояния после оперативного лечения, у 19 пациентов инфекция, вызванная резистентными возбудителями, стала причиной госпитализации в отделение АиР.

Характеристика пациентов по основному заболеванию представлена в табл. 2. В структуре пациентов в зависимости от основного диагноза преобладали 49 педиатрических пациентов, из них 19 детей были госпитализированы в отделение АиР первоначально по поводу тяжелой пневмонии, в том числе внебольничной — 12 детей и 7 — по аспирационной пневмонии. У детей с пневмонией сочетанным заболеванием была эпилепсия (препараты регулярного применения вальпроаты в низкой или средней дозе на догоспитальном этапе или их комбинация с ламотриджином); из них 30 детей с множественными пороками развития: пороки почек, ЖКТ, ЦНС (препараты регулярного применения — ингибиторы протонной помпы, назначенные на догоспитальном этапе и продолженные на этапе включения в исследование). В структуре пациентов в зависимости от основного диагноза хирургические заболевания после оперативного лечения были на втором месте: 22 пациента с множественными пороками развития в послеоперационном периоде: девять — после установки

гастростомы и 13 — после реконструктивных операций на ЖКТ; из них в послеоперационном периоде сохранялась необходимость в обезболивании с применением НПВП более трех суток у шести детей и применялись ИПП как препараты регулярного применения у 12 детей. Врожденные пороки сердца в послеоперационном периоде без искусственного кровообращения — у 20 детей, из них необходимость в обезболивании с применением НПВП более трех суток — у троих; спиронолактон — у одного ребенка как препарат регулярного применения и ИПП как препараты регулярного применения — у троих детей. Заболевания периода новорожденности — у девяти детей (сопроводительная терапия препаратами регулярного применения представлена в табл. 2); два вазопрессора по причине инфекционного заболевания — у шести детей, диуретики — у восьми детей.

Включение пациентов в наблюдательное исследование проводилось на момент развития инфекции, при этом у 81 ребенка инфекция манифестировала во время пребывания в АиР на фоне течения основного заболевания или состояния после оперативного вмешательства, в 19 случаях инфекция, вызванная резистентными возбудителями, стала причиной госпитализации в отделение АиР. Среди включенных в наблюдательное исследование преобладали дети с вентилятор-ассоциированной пневмонией (ВАП) — 41 (41%), катетер-ассоциированной инфекцией кровотока (КАИК) — 30 (30%) и с инфекцией области хирургического вмешательства (ИОХВ) — 19 (19%), реже регистрировали

Таблица 2. Характеристика пациентов по основному заболеванию

Сопутствующие заболевания (состояния)	Число пациентов (n = 100)	Терапия сопутствующего заболевания, число детей	Неантимикробная терапия на момент включения в отделение АиР
Заболевания периода новорожденности	9 (9%)	Нет	Два вазопрессора по причине инфекционного заболевания — шесть детей, диуретики — восемь детей
Врожденные пороки сердца в послеоперационном периоде без искусственного кровообращения	20 (20%)	Из них: НПВП — 3, диуретики — 1, ИПП — 3.	Два вазопрессора по причине инфекционного заболевания — 12 детей, диуретики — 20 детей
Хирургические заболевания после оперативного лечения	22 (22%)	Из них: НПВП — 6, ИПП — 12.	Два вазопрессора по причине инфекционного заболевания — 8 детей, диуретики — 8 детей
Соматические педиатрические заболевания (эпилепсия, множественные пороки развития)	49 (49%)	Из них: антиконвульсанты — 20, НПВП — 8, ИПП — 29.	Два вазопрессора по причине инфекционного заболевания — 18 детей, диуретики — 20 детей

нозокомиальную инфекцию мочевых путей (ИМВП) — у семи (7%) детей и инфекции кожи и мягких тканей (ИКМТ) — у трех (3%). При ВАП в отделении АиР следует отметить преобладание *Enterobacteriales* в 16 (40%) случаях, из них с высоким уровнем резистентности — в четырех (10%). Часто из трахеи выделяли *Acinetobacter complex* у 11 (27%) пациентов, в основном с сохраненной чувствительностью к основным классам антимикробных препаратов, но у двух пациентов выделен панрезистентный штамм *Acinetobacter complex*. Выделение *P. aeruginosae* отмечено у 9 (23%) пациентов. У 30 детей с КАИК наиболее часто высевались грамотрицательные микробы с высоким уровнем резистентности к антибиотикам. Так, у семи пациентов (34%) были выделены карбапенемазопродуцирующие микробы: синегнойная палочка — в двух случаях и энтеробактерии — в пяти случаях. Патогенные грибы рода кандиды выделены из гемокультуры у 10 пациентов (33%) с преобладанием *C. parapsilosis* с резистентностью к азоловым противогрибковым лекарственным препаратам. Из гемокультуры у девяти пациентов (30%) были получены грамположительные микробы — коагулазонегативные стафилококки — у шести и золотистые стафилококки — у трех пациентов. У 19 пациентов отделения АиР с ИОХВ в интраоперационном материале была выделена *C. parapsilosis*, микроорганизмы рода *Enterobacteriales* и коагулазонегативные стафилококки у пяти (26,5%) пациентов соответственно.

Длительность пребывания детей в отделении АиР при различных формах инфекции составила в среднем 18–26 дней. Самое длительное пребывание пациентов в АиР отмечено при ВАП — около 26,46 дня, при КАИК — 23,83 дня и при осложненных формах ИМВП в среднем 23,43 дня, продолжительность пребывания при ИОХВ составила 18,26 дня и ИКМТ — 18,33 дня. Таким образом, в среднем пациент задерживался в ОРИТ примерно до третьей недели пребывания в отделении АиР.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходно назначенная антимикробная терапия была эффективна у 85 (85%) детей от общего числа включенных. Проведена оценка сроков деэскалации антимикробной терапии. У 64 (75,3%) детей в рамках деэскалации проведена смена терапии на 8,28 (14,51) сутки, что оценивали как один курс антимикробной терапии. У пациентов с выраженным системным воспалительным ответом (высокий уровень СРБ и прокальцитонина) деэскалацию АМТ проводили либо отсроченно, либо не проводили на протяжении всего

пребывания в отделении. Если деэскалацию проводили в линейном отделении после перевода из отделения АиР, факт деэскалации не учитывали в соответствии с протоколом настоящего наблюдательного исследования. У 15 (15%) детей от общего числа включенных пациентов деэскалацию не проводили по причине неэффективности антимикробной терапии. Из них у 12 (12%) детей от общего числа включенных пациентов потребовалось назначение второго курса антимикробной терапии в связи со сменой клинически значимого микроорганизма без изменения локализации инфекционного процесса, так называемого «ведущего» возбудителя инфекции на фоне «ускользания» эффекта от проводимой терапии. У трех (3%) детей от общего числа включенных пациентов потребовалось назначение третьего курса антимикробных препаратов в связи с «ускользанием» эффекта на фоне антимикробной фармакотерапии с изменением локализации инфекционного процесса, в подобных случаях исходно была КАИК, с последующим развитием ВАП.

В настоящем наблюдательном исследовании в течение трех недель пребывания в отделении АиР детей с инфекцией в среднем у каждого пациента было выполнено 1–2 изменения курса антимикробной терапии, применяли комбинацию антимикробных препаратов с антибактериальной и антимикотической активностью. Как представлено в табл. 2, сопроводительную терапию получали 40 (40%) детей из общего числа, включенных в исследование. Применение НПВП потребовало коррекции у 17 (17%) пациентов, лечение болевого синдрома — у 9 (9%) пациентов, по применению антирефлюксных препаратов потребовалась коррекция у 2 (2%) пациентов.

В соответствии с целью настоящего исследования была проведена оценка частоты потенциально неприемлемых назначений в отделении АиР на основе адаптированной версии РОPI-критериев для сопутствующей терапии. Число сопутствующих назначений составило 305 на 100 включенных пациентов, что соответствует 3,05 назначений на одного пациента, при этом число случаев потенциально неприемлемых назначений — 31 (10,5%), из них назначено потенциально ненадежащее лекарство — в 29 (9,5%) случаях и потенциально пропущено лекарство — в 3 (1%) случаях.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мы выявили несколько работ по исследованию частоты потенциально неприемлемых назначений в детских стационарах, и лишь одна из них была сопоставима

по выборке пациентов для проведения сравнительного анализа. В данной работе в детском отделении АиР число случаев потенциально неприемлемых назначений достигало 5,2%, из них потенциально неподходящего лекарства — 2,9% случаев и потенциально пропущено лекарство — в 2,3% случаев; в отделении неотложной педиатрии, напротив, частота случаев потенциально неприемлемых назначений составила 18,4%, из них потенциально неподходящего лекарства — 12,3% и потенциально пропущенного лекарства — 6,1%. Самый высокий уровень потенциально неприемлемых назначений имели респираторные заболевания и болезни пищеварительной системы. Авторами было продемонстрировано, что РОПИ-критерии на данный момент — единственный существующий инструмент выявления потенциально неприемлемых назначений для сопутствующей терапии у детей, который на практике показал свою эффективность в стационаре для отделения неотложной педиатрии и оказался не вполне подходящим для оценки сопутствующей терапии у детей в АиР [2, 3].

По результатам нашего наблюдательного исследования по оценке сопутствующей терапии у детей в отделении АиР, частота потенциально неприемлемых назначений составила 10,5%, из них частота потенциально неподходящего лекарства — 9,5% и потенциально пропущенного лекарства — 1%. Самый высокий уровень потенциально неприемлемых назначений был выявлен при лечении респираторных заболеваний.

Выявленные различия между результатами двух исследований в однотипных когортах, с одной стороны, могут быть объяснены разными моделями построения листа

назначений в медицинской информационной системе, а с другой стороны, указывать на национальные особенности системы поддержки принятия врачебных решений в Китае и в России на основе клинических рекомендаций и руководств, поддерживаемых в каждой стране. В настоящее время РОПИ-критерии признаны единственным существующим инструментом выявления потенциально неприемлемых назначений для возможности проведения сравнительной оценки и улучшения клинической практики у детей.

## ВЫВОДЫ

В настоящем наблюдательном исследовании проведен анализ потенциально неприемлемых назначений сопутствующей терапии у детей с инфекцией в отделении АиР: число сопутствующих назначений составило 305 случаев на 100 включенных пациентов, что соответствует 3,05 назначений на одного пациента, частота потенциально неприемлемых назначений составила 10,5%, из них частота назначения потенциально неподходящего лекарства — 9,5% случаев и потенциально пропущенного лекарства — 1%. Самый высокий уровень потенциально неприемлемых назначений отмечен у пациентов с основным диагнозом «респираторная инфекция». Показаны сложности подбора инструментов, позволяющих проводить оценку в реальной клинической практике. Полученные результаты могут помочь в развитии системы оценки потенциально неприемлемых назначений в условиях внедрения электронного листа назначений и интеграции системы поддержки принятия врачебных решений на основе клинических рекомендаций.

## Литература

1. Impicciatore P, Choonara I, Clarkson A, Provasi D, Pandolfini C, Bonati M. Incidence of adverse drug reactions in paediatric in/out-patients: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Br J Clin Pharmacol*. 2001; 52 (1): 77–83.
2. Li S, Huang L, Zeng L, Yu D, Jia ZJ, Cheng G, et al. A tool for screening potentially inappropriate prescribing in Chinese children. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 1019795.
3. Zhao Z, Shen J, Shen C, Zhu B, Sun J, Yu J, et al. An investigation of pharmacovigilance and reporting of adverse drug reactions in hospitals: a cross-sectional study in China. *Curr Med Res Opin*. 2021; 37 (11): 2001–6.
4. Balan S, Hassali MAA, Mak VS. Two decades of off-label prescribing in children: a literature review. *World J Pediatr*. 2018; 14: 528–40.
5. Berthe-Aucejo A, Nguyen PKH, Angoulvant F, Bellettre X, Albaret P, Weil T, et al. Retrospective study of irrational prescribing in French paediatric hospital: prevalence of inappropriate prescription detected by Pediatrics: Omission of Prescription and Inappropriate prescription (POPI) in the emergency unit and in the ambulatory setting. *BMJ Open*. 2019; 9 (3): e019186.
6. Prot-Labarthe S, Weil T, Angoulvant F, Boulkedid R, Alberti C, Bourdon O. POPI (Pediatrics: Omission of Prescriptions and Inappropriate prescriptions): development of a tool to identify inappropriate prescribing. *PloS One*. 2014; 9 (6): e101171.
7. Barry A, Olsson S, Minzi O, Bienvenu E, Makonnen E, Kamuhabwa A, et al. Comparative assessment of the national pharmacovigilance systems in East Africa: Ethiopia, Kenya, Rwanda and Tanzania. *Drug Saf*. 2020; 43: 339–50.
8. Corrick FJ. Paediatric rational prescribing: a study of paediatric rational prescribing tools and development of a novel tool for the UK. 2021.
9. Gallagher P, Ryan C, Byrne S, Kennedy J, O Mahony D. STOPP (screening tool of older person's prescriptions) and START (screening tool to alert doctors to right treatment). Consensus validation. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2008; 46 (2): 72.
10. Власова А. В. Нежелательные реакции детей на антимикробные препараты: ограничения метода спонтанных сообщений и возможности метода глобальных триггеров лекарственно-индуцированных состояний. *Фарматека*. 2023 (1–2): 18–31.
11. Яковлев С. В., Брико Н. И., Сидоренко С. В., Проценко Д. Н. Программа СКАТ (стратегия контроля антимикробной терапии) при оказании стационарной медицинской помощи: Российские клинические рекомендации. М.: Перо, 2018; 156 с.
12. Centers for Disease Control and Prevention, CDC. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/vap/vap.html>.
13. European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/vap/vap.html>.

## References

1. Impicciatore P, Choonara I, Clarkson A, Provasi D, Pandolfini C, Bonati M. Incidence of adverse drug reactions in paediatric in/out-patients: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Br J Clin Pharmacol*. 2001; 52 (1): 77–83.
2. Li S, Huang L, Zeng L, Yu D, Jia ZJ, Cheng G, et al. A tool for screening potentially inappropriate prescribing in Chinese children. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 1019795.
3. Zhao Z, Shen J, Shen C, Zhu B, Sun J, Yu J, et al. An investigation

- of pharmacovigilance and reporting of adverse drug reactions in hospitals: a cross-sectional study in China. *Curr Med Res Opin.* 2021; 37 (11): 2001–6.
4. Balan S, Hassali MAA, Mak VS. Two decades of off-label prescribing in children: a literature review. *World J Pediatr.* 2018; 14: 528–40.
  5. Berthe-Aucejo A, Nguyen PKH, Angoulvant F, Bellettre X, Albaret P, Weil T, et al. Retrospective study of irrational prescribing in French paediatric hospital: prevalence of inappropriate prescription detected by Pediatrics: Omission of Prescription and Inappropriate prescription (POPI) in the emergency unit and in the ambulatory setting. *BMJ Open.* 2019; 9 (3): e019186.
  6. Prot-Labarthe S, Weil T, Angoulvant F, Boulkedid R, Alberti C, Bourdon O. POPI (Pediatrics: Omission of Prescriptions and Inappropriate prescriptions): development of a tool to identify inappropriate prescribing. *PloS One.* 2014; 9 (6): e101171.
  7. Barry A, Olsson S, Minzi O, Bienvenu E, Makonnen E, Kamuhabwa A, et al. Comparative assessment of the national pharmacovigilance systems in East Africa: Ethiopia, Kenya, Rwanda and Tanzania. *Drug Saf.* 2020; 43: 339–50.
  8. Corrick FJ. Paediatric rational prescribing: a study of paediatric rational prescribing tools and development of a novel tool for the UK. 2021.
  9. Gallagher P, Ryan C, Byrne S, Kennedy J, O Mahony D. STOPP (screening tool of older person's prescriptions) and START (screening tool to alert doctors to right treatment). Consensus validation. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2008; 46 (2): 72.
  10. Vlasova AV. Nezhelatel'nye reakcii detej na antimikrobnye preparaty: ogranichenija metoda spontannyh soobshhenij i vozmozhnosti metoda global'nyh triggerov lekarstvenno-inducirovannyh sostojanij. *Farmateka.* 2023 (1–2): 18–31. Russian.
  11. Jakovlev SV, Briko NI, Sidorenko SV, Procenko DN. Programma SKAT (strategija kontrolja antimikrobnoj terapii) pri okazanii stacionarnoj medicinskoj pomoshhi: Rossijskie klinicheskie rekomendacii. M.: Pero, 2018; 156 s. Russian.
  12. Centers for Disease Control and Prevention, CDC. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/vap/vap.html>.
  13. European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC. Available from: <https://www.cdc.gov/hai/vap/vap.html>.

## АМИНОКИСЛОТНЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ СНИЖЕННОМ ОВАРИАЛЬНОМ РЕЗЕРВЕ

А. А. Гависова<sup>1</sup>✉, М. А. Шевцова<sup>1</sup>, П. О. Львова<sup>1</sup>, Д. А. Бирюкова<sup>1</sup>, М. Х. Ибрагимова<sup>1</sup>, А. В. Новоселова<sup>1</sup>, М. Н. Юшина<sup>1</sup>, В. В. Чаговец<sup>1</sup>, В. Е. Франкевич<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», Минздрава России, Томск, Россия

Сниженный овариальный резерв (СОР) является одной из актуальных проблем репродуктивной медицины и часто ассоциирован с бесплодием и уменьшением эффективности программ ЭКО. Изменение метаболизма аминокислот может играть роль в патогенезе СОР как проявление эпигенетических нарушений в процессах фолликуло- и оогенеза. Целью исследования было проанализировать изменения метаболических путей аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости и оценить их клиническое значение при СОР. В исследование вошли 115 женщин в возрасте 25–42 лет с бесплодием. Группы были сформированы в зависимости от овариального резерва и возраста. Выполнено исследование уровней аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием на масс-спектрометре (ВЭЖХ-МС) и проведен биоинформатический анализ их метаболических путей. Обнаружено статистически значимое изменение путей биосинтеза фенилаланина, тирозина и триптофана (влияние = 0,5;  $p = 0,026$ ), метаболизма аланина, аспартата и глутамата (влияние = 0,114;  $p = 0,013$ ) и биосинтеза аргинина (влияние = 0,289;  $p < 0,001$ ), играющих роль в процессах фолликуло-, оогенеза и эмбриогенеза. Обнаруженные различия в содержании аминокислот в различных биологических жидкостях позволили разработать модели логистической регрессии, подтверждающие СОР с вероятностью 88% по уровням аминокислот в фолликулярной жидкости (чувствительность — 88%, специфичность — 84%) и 82% по уровням в плазме крови (чувствительность — 65%, специфичность — 91%). Эти результаты могут быть использованы для дальнейших исследований патогенеза бесплодия при СОР и выбора наиболее оптимальной тактики диагностики и лечения.

**Ключевые слова:** аминокислотный профиль, метаболизм, метаболический путь, репродуктивный возраст, бесплодие, сниженный овариальный резерв, ЭКО, ВЭЖХ-МС

**Вклад авторов:** А. А. Гависова — дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание статьи, редактирование; М. А. Шевцова, Д. А. Бирюкова, П. О. Львова — дизайн исследования, сбор и обработка материала, обзор литературы, написание статьи, редактирование; А. В. Новоселова, М. Н. Юшина — разработка метода ЖХ-МС анализа аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости, обработка экспериментальных данных; М. Х. Ибрагимова — сбор материала, редактирование; В. В. Чаговец, В. Е. Франкевич — статистическая обработка материала, редактирование.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГП имени В. И. Кулакова» (протокол № 12 от 25 ноября 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Алла Анатольевна Гависова  
ул. Академика Опарина, д. 4, г. Москва, 117997, Россия; gaviiala@ya.ru

**Статья получена:** 27.03.2024 **Статья принята к печати:** 22.04.2024 **Опубликована онлайн:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2024.016

## AMINO ACID PROFILE IN DIMINISHED OVARIAN RESERVE

Gavisova AA<sup>1</sup>✉, Shevtsova MA<sup>1</sup>, Lvova PO<sup>1</sup>, Biryukova DA<sup>1</sup>, Ibragimova MH<sup>1</sup>, Novoselova AV<sup>1</sup>, Yushina MN<sup>1</sup>, Chagovets VV<sup>1</sup>, Frankevich VE<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Diminished ovarian reserve (DOR) represents a relevant issue of reproductive medicine that is often associated with infertility and reduced efficacy of IVF programs. The changes in amino acid metabolism can play a role in the DOR pathogenesis as manifestations of the folliculogenesis and oogenesis epigenetic alterations. The study was aimed to assess alterations of amino acid metabolic pathways in blood plasma and follicular fluid and estimate their clinical significance in DOR. A total of 115 infertile women aged 25–42 years were included in the study. Groups were formed based on the ovarian reserve and age. Amino acid levels in blood plasma and follicular fluid were assessed by high performance liquid chromatography–mass spectrometry (HPLC-MS); bioinformatics analysis of amino acid metabolic pathways was performed. We revealed significant changes in the phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis (effect = 0.5;  $p = 0.026$ ), alanine, aspartate and glutamate metabolism (effect = 0.114;  $p = 0.013$ ), and arginine biosynthesis (effect = 0.289;  $p < 0.001$ ) pathways playing a role in folliculogenesis, oogenesis, and embryogenesis. The detected differences in the amino acid levels in various body fluids made it possible to construct the logistic regression models confirming DOR with the 88% probability based on the amino acid levels in follicular fluid (sensitivity 88%, specificity 84%) and 82% probability based on plasma levels (sensitivity 65%, specificity 91%). The findings can be used for further research focused on the pathogenesis of infertility associated with DOR and for selection of the most optimal diagnostic and treatment tactics.

**Keywords:** amino acid profile, metabolism, metabolic pathway, childbearing age, infertility, diminished ovarian reserve, IVF, HPLC-MS

**Author contribution:** Gavisova AA — study design, data acquisition and processing, manuscript writing, editing; Shevtsova MA, Biryukova DA, Lvova PO — study design, data acquisition and processing, literature review, manuscript writing, editing; Novoselova AV, Yushina MN — developing the LC-MS method for analysis of amino acids in blood plasma and follicular fluid, experimental data processing; Ibragimova MH — data acquisition, editing; Chagovets VV, Frankevich VE — statistical data processing, editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology (protocol № 12 dated 25 November 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Alla A. Gavisova  
Akademika Oparina, 4, Moscow, 117997, Russia; gaviiala@ya.ru

**Received:** 27.03.2024 **Accepted:** 22.04.2024 **Published online:** 30.04.2024

**DOI:** 10.24075/brsmu.2024.016



Сниженный овариальный резерв (СОР) — одна из актуальных проблем репродуктивной медицины. Уменьшение числа антральных фолликулов (КАФ), снижение уровня антимюллерового гормона (АМГ) и повышение уровня базального фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке крови приводят к формированию бесплодия, бедного овариального ответа, ухудшению качества ооцитов, снижению процента фертилизации, частоты наступления беременности в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО/ИКСИ) и увеличению частоты ранних репродуктивных потерь [1].

Метаболизм гормонов и аминокислот может отражать эпигенетические изменения процессов фолликуло- и оогенеза [2] и характеризуется изменением не только уровней отдельных метаболитов, но и их взаимодействий в виде сложных метаболических «сетей» [3]. Рассматривая суммарный вклад эндокринно-метаболических изменений крови и фолликулярной жидкости в клеточный метаболизм и их влияние на результаты программ ЭКО, возможно приоткрыть отдельные патогенетические механизмы формирования СОР, а также определить метаболиты, которые могут выступать в качестве потенциальных biomarkers оценки овариального резерва [4, 5].

В опубликованном нами ранее исследовании у женщин с бесплодием и сниженным овариальным резервом было обнаружено значимое снижение уровней аминокислот саркозина и триптофана в плазме крови и фенилаланина, триптофана, метионина, аспарагина, аргинина и лизина в фолликулярной жидкости, а также их взаимосвязь с показателями фолликулогенеза, оогенеза и раннего эмбриогенеза в программе ЭКО [6].

Целью исследования было проанализировать изменения метаболических путей аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости, их взаимосвязь с возрастом, а также оценить их клиническое значение в патогенезе СОР.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В проспективное обсервационное исследование были включены женщины репродуктивного возраста с бесплодием, обратившиеся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России для проведения программы ЭКО.

Общая выборка составила 115 женщин, которые были стратифицированы на группы СОР (антимюллеров гормон (АМГ) < 1,2 нг/мл, число антральных фолликулов (КАФ) < 5) и нормального (АМГ ≥ 1,2 нг/мл, КАФ ≥ 5). Для уточнения роли возраста на аминокислотный профиль у женщин с бесплодием исследуемые группы были дополнительно стратифицированы по возрасту: до 35 и после 35 лет. Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст 25–42 лет; отсутствие наступления беременности в течение не менее года регулярной половой жизни без контрацепции; добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: противопоказания к ВРТ; операции на яичниках в анамнезе; иммунодефицитные состояния; системные заболевания соединительной ткани и ревматические заболевания; онкологические заболевания любой этиологии; наличие хромосомных и генетических аномалий; использование донорских ооцитов или эмбрионов, суррогатного материнства.

Всем пациенткам было проведено обязательное обследование перед вступлением в программу вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) согласно нормативным документам [7]. Для определения

содержания аминокислот и их метаболитов в плазме крови и фолликулярной жидкости методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием на масс-спектрометре (ВЭЖХ-МС) использовали жидкостной хроматограф Agilent 1260 II (Agilent; США) с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6460 (Agilent; США). Параметры масс-спектрометра и хроматографического разделения соответствовали рекомендациям, приведенным в руководстве JASEM по анализу аминокислот (JASEM; Турция).

Перед статистической обработкой ВЭЖХ-МС данные нормировали на суммарный сигнал всех аналитов и приводили к стандартизованному виду согласно следующей формуле [9]:

$$z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{\text{stddev}(x)}$$

где  $z_i$  — стандартизованное значение параметра,  $x_i$  — исходное значение параметра,  $\bar{x}$  — среднее значение параметра,  $\text{stddev}(x)$  — стандартное отклонение совокупности.

Поиск метаболических путей, потенциально вовлеченных в патогенез СОР, выполняли с помощью MetaboAnalyst посредством анализа вовлеченности аминокислот, уровни которых значимо различаются между исследуемыми группами. Оценка обогащения метаболических путей была выполнена с помощью анализа избыточного представления (over representation analysis, ORA) с использованием гипергеометрического теста. Статистическую значимость метаболического пути определяли с использованием гипергеометрического теста с коррекцией по Бенджамини–Хохбергу. Статистическая значимость пути ( $p$ ) соответствовала вероятности случайного пересечения экспериментальных данных с метаболитами конкретного метаболического пути (тест Фишера). Пути, ассоциированные с патологией, считали статистически значимыми при частоте ложноположительных результатов (false discovery rate, FDR) < 0,05.

Для оценки возможности классификации пациентов по группам на основе аминокислотного профиля плазмы крови и фолликулярной жидкости были разработаны модели логистической регрессии. Для этого рассматривали все возможные комбинации аминокислот в качестве независимых переменных, а принадлежность пациентки к одной из групп — в качестве зависимой переменной. Качество моделей оценивали при помощи ROC-анализа, а также расчета чувствительности и специфичности. Из всех моделей выбирали четыре с наибольшей площадью под ROC-кривой (AUC). Для каждой модели определяли критерий Уальда, 95%-й доверительный интервал (ДИ), отношение шансов (ОШ) и его доверительный интервал.

Для статистической обработки данных ВЭЖХ-МС использовали скрипты, разработанные на языке R в программе RStudio [8]. Перед проведением целевого сравнительного метаболомного анализа данных в исследуемых группах определяли вид распределения данных (тест Колмогорова–Смирнова, графический анализ данных).

При нормальном виде распределения данных определяли среднее значение со стандартным отклонением  $M$  (SD), для оценки различий в группах —  $t$ -тест. При отсутствии нормального распределения данные были представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом  $Me$  ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ), сравнение уровней аминокислот проводили с помощью непараметрического критерия

Таблица 1. Клиническая характеристика женщин, включенных в исследование

Показатели	Группа 1 СОР (n = 50)***	Группа 2 НОР (n = 65)***	p*
Возраст, лет*	38,2 (6,18)	37,4 (4,6)	0,27
Возраст менархе, лет*	13,2 (1,2)	13,6 (1,4)	0,2
Длительность менструального цикла, дней*	27,5 (1,99)	28,8 (1,7)	0,002
КАФ*	4,6 (2,9)	13,0 (7,3)	< 0,001
АМГ, нг/мл**	0,65 (0,32; 0,92)	2,7 (1,9; 4,6)	< 0,001
ЛГ, мМЕ/мл**	5,8 (4,1–13,4)	4,1 (3,4–9,4)	0,2
ФСГ, мМЕ/мл**	8,3 (7,9–12,6)	6,5 (5,1–7,6)	0,1
ДГЭА-С, мкмоль/л**	3,8 (1,9; 5,4)	5,1 (4,1; 6,9)	0,14
Андростендион, нмоль/л**	4,5 (2,8; 7,8)	9,2 (7,9; 9,9)	0,09

Примечание: \* — M (SD), t-тест; \*\* — тест Манна–Уитни; \*\*\* — медиана (интерквартильный интервал).

Уилкоксона–Манна–Уитни. Величину порогового уровня значимости  $p$  принимали равной 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-anamnestическая и гормональная характеристики исследуемых представлена в табл. 1. Все пациентки были сопоставимы по возрасту и антропометрическим показателям, имели регулярный менструальный цикл, средний возраст составил  $37,2 \pm 5,3$  лет. Значимых различий по частоте гинекологической и соматической патологии выявлено не было. У пациенток с СОР был отмечен статистически значимо более короткий менструальный цикл, меньшее число антральных фолликулов и меньший уровень АМГ. При анализе эндокринного профиля отмечена тенденция к повышению уровня ФСГ и снижению уровней андрогенных стероидов: андростендиона и ДГЭА-С.

При исследовании аминокислотного профиля в группе СОР обнаружено значимое снижение уровней саркозина и триптофана в плазме крови и фенилаланина, триптофана, метионина, аспарагина, аргинина и лизина в фолликулярной жидкости. Подробные результаты анализа опубликованы ранее [6]. Был осуществлен анализ

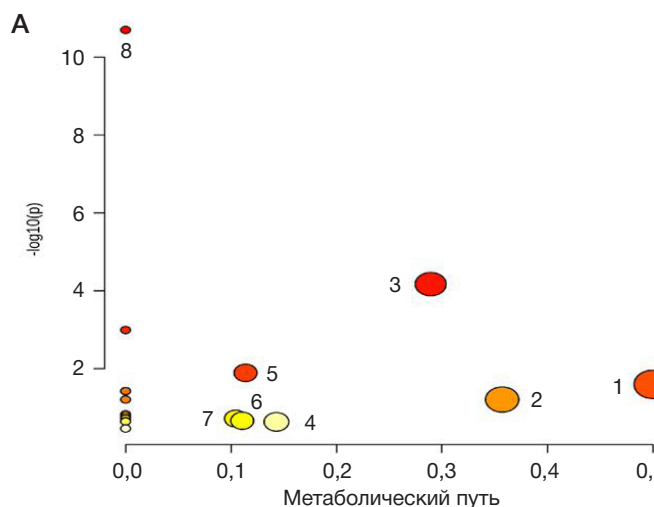
метаболических путей, в которые вовлечены аминокислоты со статистически значимо более низкими уровнями.

Изменения аминокислотного профиля плазмы крови и фолликулярной жидкости при бесплодии и СОР оказывают наибольшее влияние на биосинтез фенилаланина, тирозина и триптофана (влияние = 0,5,  $p = 0,026$ ). Также выявлено значимое влияние на биосинтез аргинина (влияние = 0,289,  $p < 0,001$ ), метаболизм аспартата (влияние = 0,25,  $p = 0,027$ ), метаболизм аланина, аспартата и глутамата (влияние = 0,114,  $p = 0,013$ ) (рис. 1; табл. 2).

По результатам ВЭЖХ-МС-анализа аминокислотного профиля были разработаны модели логистической регрессии, позволяющие различать образцы венозной плазмы и фолликулярной жидкости пациенток группы СОР и группы контроля. Для построения моделей использовали все возможные комбинации аминокислот. Для каждой из моделей выполнили ROC-анализ и выбрали четыре модели, характеризующиеся наибольшей площадью под ROC-кривой (AUC).

Наибольшее значение AUC (0,82) было у модели, построенной на показателях возраста и уровнях серина, тирозина и фенилаланина. Специфичность и чувствительность составили 94 и 68% соответственно, пороговое значение — 0,69. Во все построенные модели

## KEGG



## SMPDB

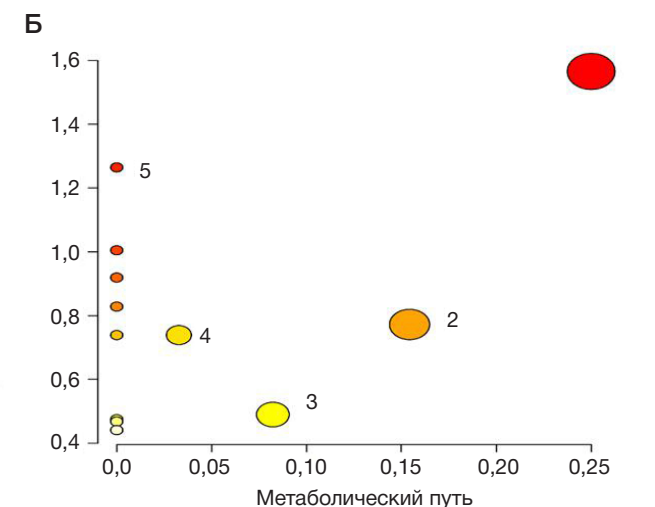


Рис. 1. Карта задействованности метаболических путей аминокислот со статистически значимыми различиями уровней в плазме крови и фолликулярной жидкости между группами (база данных KEGG, от англ. Kyoto encyclopedia of genes and genomes): 1 — биосинтез фенилаланина, тирозина и триптофана; 2 — метаболизм фенилаланина; 3 — биосинтез аргинина; 4 — метаболизм триптофана; 5 — метаболизм аланина, аспартата и глутамата; 6 — метаболизм аргинина и пролина; 7 — метаболизм цистеина и метионина; 8 — биосинтез аминокислот-тРНА. База данных SMPDB (от англ. small molecule pathway database): 1 — метаболизм аспартата; 2 — цикл мочевины; 3 — метаболизм аргинина и пролина; 4 — переработка аммиака; 5 — метаболизм биотина. Ось ординат и цвет узла отражают уровень статистической значимости вовлеченности выявленных аминокислот в соответствующие метаболические пути; ось абсцисс и радиус узла отражают уровень влияния рассматриваемых метаболитов на путь

Таблица 2. Вовлеченность в метаболические пути аминокислот, характеризующих SOP

Путь	Всего	Маркеры	$p$	FDR	Влияние
KEGG					
Биосинтез фенилаланина, тирозина и триптофана	4	1	0,026	0,0429	0,5
Метаболизм фенилаланина	10	1	0,063	0,5866	0,357
Биосинтез аргинина	14	3	< 0,001	0,0029	0,289
Метаболизм триптофана	41	1	0,236	1	0,143
Метаболизм аланина, аспартата и глутамата	28	2	0,013	0,0272	0,114
Метаболизм аргинина и пролина	38	1	0,22	1	0,111
Метаболизм цистеина и метионина	33	1	0,194	1	0,104
Биосинтез аминоксил-tRNA	48	8	< 0,001	1,68E-09	0
HMDB (Human metabolome database)					
Метаболизм аспартата	34	2	0,027	1	0,25
Цикл мочевины	23	1	0,169	1	0,154
Метаболизм аргинина и пролина	48	1	0,324	1	0,082
Метаболизм аммиака	25	1	0,18	1	0,033
Метаболизм биотина	7	1	0,054	1	0

Примечание: FDR (false discovery rate) — частота ложных обнаружений.

вошли значения возраста и уровня фенилаланина (рис. 2; табл. 3).

Для фолликулярной жидкости были также построены модели логистической регрессии аналогично описанным ранее. Все модели имели одинаковую площадь под кривой (AUC = 0,88). Модели 1 и 2 характеризовались большей чувствительностью (84%), а модели 3 и 4 — большей специфичностью (88%). Во все построенные модели вошел фенилаланин — очевидно, как аминокислота, содержание которой наиболее различалось между группами (рис. 2; табл. 3).

Для уточнения влияния возраста на аминокислотный профиль пациентки обеих групп были разбиты на две подгруппы: младше 35 и старше 35 лет. В группе SOP позднего репродуктивного возраста (старше 35 лет) в плазме крови выявлено статистически значимое снижение уровней лизина, глутамина, серина, глицина, треонина, тирозина, лейцина, триптофана, глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также повышение пролина (рис. 3А). Однако в фолликулярной жидкости возраст-

ассоциированных изменений аминокислотного профиля при бесплодии и SOP с возрастом не выявлено (рис. 3Б). Также у женщин с нормальным овариальным резервом как в плазме крови, так и в фолликулярной жидкости не было выявлено значимых возраст-ассоциированных изменений аминокислотного профиля (рис. 3В, Г).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные свидетельствуют о значимых изменениях метаболизма аминокислот в патогенезе SOP. По нашим результатам, SOP характеризуется изменением биосинтеза фенилаланина, тирозина и триптофана — ароматических аминокислот, являющихся предшественниками нейротрансмиттеров, серотонина и катехоламинов (дофамина, норадреналина и адреналина), дефицит которых может привести к оксидативному стрессу, оказывающему токсическое влияние на процессы фолликуло- и оогенеза [10]. Фенилаланин играет значительную роль в формировании третичной структуры белка и стабилизации белковых структур [11].

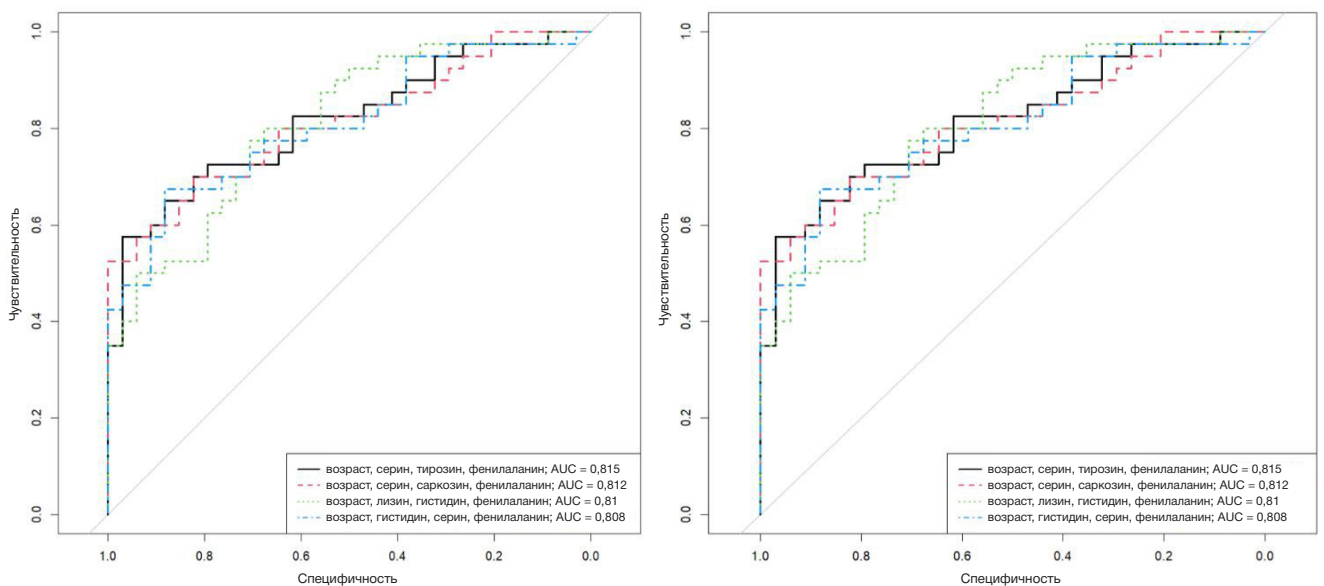


Рис. 2. Результаты ROC-анализа моделей логистической регрессии определения SOP по аминокислотному составу плазмы крови и фолликулярной жидкости

Таблица 3. Модели логистической регрессии, построенной по уровням аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости

Плазма крови				
Модель	AUC	Пороговое значение	Чувствительность	Специфичность
Возраст, серин, тирозин, фенилаланин	0,82	0,69	0,68 (0,48; 0,88)	0,94 (0,68; 1)
Возраст, серин, саркозин, фенилаланин	0,81	0,75	0,65 (0,42; 0,85)	0,94 (0,71; 1)
Возраст, лизин, гистидин, фенилаланин	0,81	0,5	0,8 (0,45; 0,98)	0,76 (0,5; 1)
Возраст, гистидин, серин, фенилаланин	0,81	0,61	0,7 (0,48; 0,85)	0,88 (0,71; 1)
Фолликулярная жидкость				
Модель	AUC	Пороговое значение	Чувствительность	Специфичность
Метилгистидин, серин, аланин, фенилаланин	0,88	0,45	0,88 (0,62; 0,97)	0,84 (0,69; 1)
Возраст, орнитин, серин, фенилаланин	0,88	0,47	0,88 (0,59; 0,97)	0,84 (0,69; 1)
Орнитин, серин, аланин, фенилаланин	0,88	0,55	0,84 (0,69; 0,97)	0,88 (0,69; 0,97)
Орнитин, серин, валин, фенилаланин	0,88	0,57	0,84 (0,66; 0,97)	0,88 (0,66; 1)

Сниженные уровни фенилаланина у женщин с СОР в нашем исследовании согласуются с результатами других авторов [12]. Роль фенилаланина в патогенезе СОР также подтверждается в нашем исследовании включением фенилаланина во все модели логистической регрессии с наибольшей значимостью.

При снижении уровня фенилаланина, являющегося основным субстратом синтеза тирозина в организме, снижается его доступность для производства тирозина [13], который служит основой для синтеза медиаторов и гормонов аминной природы: катехоламинов, серотонина, мелатонина. Все метаболиты тирозина способствуют правильной и последовательной работе всех систем организма для обеспечения репродуктивной функции. Тирозин, как и его предшественник, необходим для синтеза структуры бензохинона, которая входит в состав кофермента Q10 — антиоксиданта, обладающего способностью нейтрализовать свободные радикалы, ингибировать перекисное окисление липидов в биологических мембранах и защищать митохондриальные белки и ДНК от окислительного повреждения, а также участвующего в синтезе АТФ в митохондриях в качестве переносчика электронов [14]. Описана также антиоксидантная способность тирозина в исследовании семенной плазмы [15].

Участие триптофана неопределимо во многих физиологических процессах, например, при поддержании роста клеток и регуляции иммунной функции, а также в синтезе серотонина и мелатонина, снижение которых приводит к нарушению этапов раннего эмбрионального развития [16].

В нашем исследовании у женщин с СОР позднего репродуктивного возраста снижение уровней тирозина и триптофана коррелирует с ухудшением результатов программ ЭКО, что подтверждает их роль в возрастных изменениях оогенеза и раннего эмбрионального развития и согласуется с данными зарубежных коллег [17].

Биосинтез аргинина, значимое изменение которого выявлено в нашем исследовании, играет решающее значение для синтеза оксида азота (NO). Последний является фактором релаксации сосудов, оптимизирующим кровоснабжение тканей [18] и способствующим нормальному росту эндометрия [19], регуляции стероидогенеза и фолликулогенеза [20]. Применение препаратов с высоким содержанием аргинина при бедном овариальном ответе в программе ЭКО приводит к повышению уровней аргинина, цитруллина и NO в плазме

крови и фолликулярной жидкости и ассоциировано с улучшением маточного и яичникового кровоснабжения, увеличением частоты оплодотворения и наступления беременности и снижением частоты осложнений беременности (ранних репродуктивных потерь, задержки внутриутробного развития и преэклампсии) [21].

Анализ вовлеченности аминокислот в метаболические пути продемонстрировал статистически значимое изменение метаболизма аланина, аспартата и глутамата. Аспартат и глутамат являются возбуждающими медиаторами ЦНС, участвуя в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Аспартат, по данным нашего исследования, присутствует в более высоких концентрациях в фолликулярной жидкости у женщин раннего репродуктивного возраста, по сравнению с женщинами позднего репродуктивного возраста, что также подтверждено в одном из исследований наличием прямой корреляционной взаимосвязи уровня D-аспарагиновой кислоты в фолликулярной жидкости с морфологией ооцитов, их созреванием, процентом зрелых ооцитов и скоростью оплодотворения [22]. Из аспарагиновой кислоты образуется метионин, участвующий в синтезе полиаминов, посттрансляционной модификации белков и регуляции процессов считывания ДНК. В эксперименте на животных ограничение пищевого потребления метионина снижало в плазме крови уровни инсулиноподобного фактора роста 1, тиреоидных гормонов и снижало фертильность [23].

В нашем исследовании отмечен высокий прогностический потенциал фолликулярной жидкости у женщин с СОР наравне с плазмой крови, что согласуется с результатами других исследований, подтверждающими роль метаболизма аминокислот в фолликулярной жидкости как функционального показателя качества ооцитов у женщин позднего репродуктивного возраста в программах ЭКО/ИКСИ [24]. Вероятное снижение доступности аминокислот в фолликулярной жидкости может приводить к увеличению их потребления ооцитами в культуральной среде в программе ЭКО.

Важная роль антиоксидантной системы в ооцитах и связанный с возрастными изменениями дисбаланс между прооксидантной активностью и системами антиоксидантной защиты в ооцитах [25] провоцируют развитие митохондриальной дисфункции, способствуют увеличению частоты анеуплоидии ооцитов/эмбрионов и снижению частоты наступления беременности [26]. Полученные нами данные о выраженных изменениях аминокислотного профиля при СОР у женщин позднего

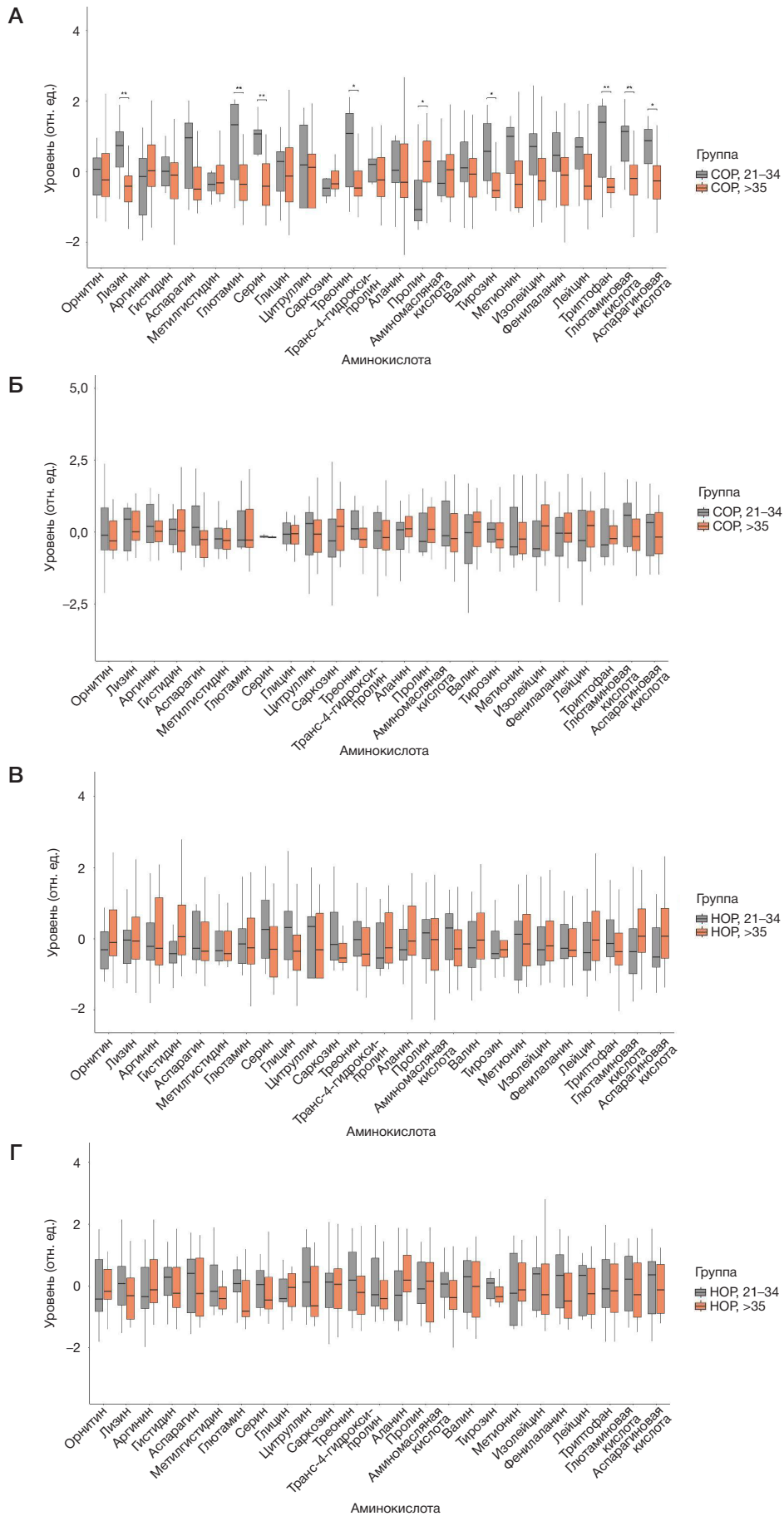


Рис. 3. Сравнение аминокислотного профиля плазмы крови (А, В) и фолликулярной жидкости (Б, Г) групп COP 21–34, COP >35 (А, Б), HOP 21–34 и HOP >35 (В, Г)

репродуктивного возраста подтверждают общее снижение обмена аминокислот с возрастом, связанное в том числе со снижением их антиоксидантной способности, и могут быть использованы для оценки овариального резерва. Актуальным остается дальнейшее исследование применения аминокислот в клинической практике для улучшения исходов программ ЭКО/ИКСИ как *in vitro*, при их добавлении в эмбриологические среды, так и *in vivo*, при приеме препаратов с высоким содержанием необходимых аминокислот [27, 28].

## ВЫВОДЫ

Значимое изменение метаболизма аминокислот в плазме крови и фолликулярной жидкости при бесплодии и СОР,

в том числе фенилаланина, тирозина и триптофана, задействованных в реализации антиоксидантной защиты в тканях яичника, синтезе нейромедиаторов, катехоламинов и гормонов, оказывает непосредственное влияние на репродуктивную систему, изменяя клеточный энергетический метаболизм. На основании найденных различий при использовании методов целевой полуколичественной метаболомики были предложены модели, позволяющие с вероятностью 82% в плазме крови и 88% — в фолликулярной жидкости подтверждать СОР по аминокислотному профилю. Данные о возраст-ассоциированном изменении уровней аминокислот при СОР подтверждают актуальность исследований применения предварительной терапии препаратами, содержащими аминокислоты с целью улучшения исходов программ ЭКО.

## Литература

- Hu S. Perinatal outcome in young patients with diminished ovarian reserve undergoing assisted reproductive technology / S. Hu, B. Xu, L. Jin // *Fertility and Sterility*. 2020; 114 (1): 118–124.e1.
- Collado-Fernandez E, Picton HM, R. Dumollard Collado-Fernandez E. Metabolism throughout follicle and oocyte development in mammals. *The International Journal of Developmental Biology*. 2012; 56 (10-11-12): 799–808.
- Dillin A, Gottschling DE, T. Nyström Dillin A. The good and the bad of being connected: the integrons of aging. *Current Opinion in Cell Biology*. 2014; 26: 107–12.
- Yang J, Feng T, Li S, et al. Human follicular fluid shows diverse metabolic profiles at different follicle developmental stages. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2020; 18 (1): 74.
- Moslehi N, Mirmiran P, Marzbani R. et al. Serum metabolomics study of women with different annual decline rates of anti-Müllerian hormone: an untargeted gas chromatography–mass spectrometry-based study. *Human Reproduction*. 2021; 36 (3): 721–33.
- Shevtsova SMA, Gavisova GAA, Krasnova KNA, et al. Amino acid profile of blood plasma and follicular fluid in women with infertility and diminished ovarian reserve. *Akusherstvo i ginekologija*. 2024; 2 (2024): 79–88.
- Клинические рекомендации «Женское бесплодие». 2021.
- RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA; 2016. Available from: <http://www.rstudio.com/>.
- Misra BB. Data normalization strategies in metabolomics: Current challenges, approaches, and tools. *European Journal of Mass Spectrometry*. 2020; 26 (3): 165–74.
- Zhang X, Yoshihara K, Miyata N, et al. Dietary tryptophan, tyrosine, and phenylalanine depletion induce reduced food intake and behavioral alterations in mice. *Physiology & Behavior*. 2022; 244: 113653.
- Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction. *Circulation*. 2007; 115 (10): 1285–95.
- Li J, Zhang Z, Wei Y, et al. Metabonomic analysis of follicular fluid in patients with diminished ovarian reserve. *Frontiers in Endocrinology*. 2023; 14. DOI: 10.3389/fendo.2023.1132621.
- Ross AC, Caballero BH, Cousins RJ, et al. *Modern nutrition in health and disease*: Eleventh edition. Wolters Kluwer Health Adis (ESP). 2012; 1616 p.
- Rasmussen DD, Ishizuka B, Quigley ME, Yen SSC. Effects of tyrosine and tryptophan ingestion on plasma catecholamine and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid concentrations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1983; 57 (4): 760–3.
- van Overveld F. W. P. C., Haenen G. R. M. M., Rhemrev J, et al. Tyrosine as important contributor to the antioxidant capacity of seminal plasma. *Chemico-Biological Interactions*. 2000; 127 (2): 151–61.
- Dubé F, Amireault P. Local serotonergic signaling in mammalian follicles, oocytes and early embryos. *Life Sciences*. 2007; 81 (25–26): 1627–37.
- Liu A, Shen H, Li Q, et al. Determination of tryptophan and its indole metabolites in follicular fluid of women with diminished ovarian reserve. *Scientific Reports*. 2023; 13 (1): 17124.
- DuPont JJ, Farquhar WB, Townsend RR, Edwards DG. Ascorbic acid or L-arginine improves cutaneous microvascular function in chronic kidney disease. *Journal of Applied Physiology*. 2011; 111 (6): 1561–7.
- Takasaki A, Tamura H, Miwa I, et al. Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. *Fertility and Sterility*. 2010; 93 (6): 1851–8.
- Luo Y, Zhu Y, Basang W, et al. Roles of nitric oxide in the regulation of reproduction: a review. *Frontiers in Endocrinology*. 2021; 12.
- Kopets R, Kuibida I, Chernyavska I, et al. Dietary supplementation with a novel L-carnitine multi-micronutrient in idiopathic male subfertility involving oligo-, astheno-, teratozoospermia: a randomized clinical study. *Andrology*. 2020; 8 (5): 1184–93.
- D'Aniello G, Grieco N, Di Filippo MA, et al. Reproductive implication of D-aspartic acid in human pre-ovulatory follicular fluid. *Human Reproduction*. 2007; 22 (12): 3178–83.
- Expansion of liver cancer stem cells during aging in methionine adenosyltransferase 1A-deficient mice. Rountree CB, Senadheera S, Mato JM, et al. *Hepatology*. 2007; 47 (4): 1288–97.
- Akamine K, Mekaru K, Gibo K, et al. Impact of the one-carbon metabolism on oocyte maturation, fertilization, embryo quality, and subsequent pregnancy. *Reproductive Medicine and Biology*. 2021; 20 (1): 76–82.
- Tatone C, Amicarelli F. The aging ovary — the poor granulosa cells. *Fertility and Sterility*. 2013; 99 (1): 12–17.
- Chappel S. The role of mitochondria from mature oocyte to viable blastocyst. *Obstetrics and Gynecology International*. 2013; 2013: 1–10.
- Youssef M. A. F. M., Abdelmoty HI, Elashmwi HA, et al. Oral antioxidants supplementation for women with unexplained infertility undergoing ICSI/IVF: Randomized controlled trial. *Human Fertility*. 2015; 18 (1): 38–42.
- Anchordoquy JP, Lizarraga RM, Anchordoquy JM, et al. Effect of cysteine, glutamate and glycine supplementation to *in vitro* fertilization medium during bovine early embryo development. *Reproductive Biology*. 2019; 19 (4): 349–55.

## References

- Hu S. Perinatal outcome in young patients with diminished ovarian reserve undergoing assisted reproductive technology / S. Hu, B. Xu, L. Jin // *Fertility and Sterility*. 2020; 114 (1): 118–124.e1.
- Collado-Fernandez E, Picton HM, R. Dumollard Collado-Fernandez E. Metabolism throughout follicle and oocyte development in mammals. *The International Journal of Developmental Biology*. 2012; 56 (10-11-12): 799–808.
- Dillin A, Gottschling DE, T. Nyström Dillin A. The good and the bad of being connected: the integrons of aging. *Current Opinion in Cell Biology*. 2014; 26: 107–12.
- Yang J, Feng T, Li S, et al. Human follicular fluid shows diverse metabolic profiles at different follicle developmental stages. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2020; 18 (1): 74.
- Moslehi N, Mirmiran P, Marzbani R. et al. Serum metabolomics study of women with different annual decline rates of anti-Müllerian hormone: an untargeted gas chromatography–mass spectrometry-based study. *Human Reproduction*. 2021; 36 (3): 721–33.
- Shevtsova SMA, Gavisova GAA, Krasnova KNA, et al. Amino acid profile of blood plasma and follicular fluid in women with infertility and diminished ovarian reserve. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2024; 2 (2024): 79–88.
- Klinicheskie rekomendacii "Zhenskoe besplodie". 2021.
- RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA; 2016. Available from: <http://www.rstudio.com/>.
- Misra BB. Data normalization strategies in metabolomics: Current challenges, approaches, and tools. *European Journal of Mass Spectrometry*. 2020; 26 (3): 165–74.
- Zhang X, Yoshihara K, Miyata N, et al. Dietary tryptophan, tyrosine, and phenylalanine depletion induce reduced food intake and behavioral alterations in mice. *Physiology & Behavior*. 2022; 244: 113653.
- Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction. *Circulation*. 2007; 115 (10): 1285–95.
- Li J, Zhang Z, Wei Y, et al. Metabonomic analysis of follicular fluid in patients with diminished ovarian reserve. *Frontiers in Endocrinology*. 2023; 14. DOI: 10.3389/fendo.2023.1132621.
- Ross AC, Caballero BH, Cousins RJ, et al. *Modern nutrition in health and disease: Eleventh edition*. Wolters Kluwer Health Adis (ESP). 2012; 1616 p.
- Rasmussen DD, Ishizuka B, Quigley ME, Yen SSC. Effects of tyrosine and tryptophan ingestion on plasma catecholamine and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid concentrations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1983; 57 (4): 760–3.
- van Overveld F. W. P. C., Haenen G. R. M. M., Rhemrev J, et al. Tyrosine as important contributor to the antioxidant capacity of seminal plasma. *Chemico-Biological Interactions*. 2000; 127 (2): 151–61.
- Dubé F, Amireault P. Local serotonergic signaling in mammalian follicles, oocytes and early embryos. *Life Sciences*. 2007; 81 (25–26): 1627–37.
- Liu A, Shen H, Li Q, et al. Determination of tryptophan and its indole metabolites in follicular fluid of women with diminished ovarian reserve. *Scientific Reports*. 2023; 13 (1): 17124.
- DuPont JJ, Farquhar WB, Townsend RR, Edwards DG. Ascorbic acid or L-arginine improves cutaneous microvascular function in chronic kidney disease. *Journal of Applied Physiology*. 2011; 111 (6): 1561–7.
- Takasaki A, Tamura H, Miwa I, et al. Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. *Fertility and Sterility*. 2010; 93 (6): 1851–8.
- Luo Y, Zhu Y, Basang W, et al. Roles of nitric oxide in the regulation of reproduction: a review. *Frontiers in Endocrinology*. 2021; 12.
- Kopets R, Kuibida I, Chernyavska I, et al. Dietary supplementation with a novel L-carnitine multi-micronutrient in idiopathic male subfertility involving oligo-, astheno-, teratozoospermia: a randomized clinical study. *Andrology*. 2020; 8 (5): 1184–93.
- D'Aniello G, Grieco N, Di Filippo MA, et al. Reproductive implication of D-aspartic acid in human pre-ovulatory follicular fluid. *Human Reproduction*. 2007; 22 (12): 3178–83.
- Expansion of liver cancer stem cells during aging in methionine adenosyltransferase 1A-deficient mice. Rountree CB, Senadheera S, Mato JM, et al. *Hepatology*. 2007; 47 (4): 1288–97.
- Akamine K, Mekaru K, Gibo K, et al. Impact of the one-carbon metabolism on oocyte maturation, fertilization, embryo quality, and subsequent pregnancy. *Reproductive Medicine and Biology*. 2021; 20 (1): 76–82.
- Tatone C, Amicarelli F. The aging ovary — the poor granulosa cells. *Fertility and Sterility*. 2013; 99 (1): 12–17.
- Chappel S. The role of mitochondria from mature oocyte to viable blastocyst. *Obstetrics and Gynecology International*. 2013; 2013: 1–10.
- Youssef M. A. F. M., Abdelmoty HI, Elashmwi HA, et al. Oral antioxidants supplementation for women with unexplained infertility undergoing ICSI/IVF: Randomized controlled trial. *Human Fertility*. 2015; 18 (1): 38–42.
- Anchordoquy JP, Lizarraga RM, Anchordoquy JM, et al. Effect of cysteine, glutamate and glycine supplementation to in vitro fertilization medium during bovine early embryo development. *Reproductive Biology*. 2019; 19 (4): 349–55.