

ISSN 2413-4864

Acta medica Eurasica

Медицинский вестник Евразии

№ 2 2021

Научный журнал

Основан в июле 2015 г.

Учредитель:
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»

Главный редактор

Голенков Андрей Васильевич, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Заместитель главного редактора

Диомидова Валентина Николаевна, доктор медицинских наук, доцент (Россия, Чебоксары)

Члены редакционной коллегии

Алексеева Ольга Поликарповна, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Нижний Новгород)

Атдурев Вагиф Ахмедович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Нижний Новгород)

Балькова Лариса Александровна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Саранск)

Волков Владимир Егорович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Гилязева Виктория Викторовна, доктор медицинских наук (Россия, Чебоксары)

Гунин Андрей Германович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Денисова Тамара Геннадьевна, доктор медицинских наук (Россия, Чебоксары)

Долгов Игорь Юрьевич, доктор медицинских наук (Россия, Чебоксары)

Енкоян Константин Борисович, доктор биологических наук, профессор (Армения, Ереван)

Иванова Ирина Евгеньевна, доктор медицинских наук, доцент (Россия, Чебоксары)

Карзакова Луиза Михайловна, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Козлов Вадим Авернирович, доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, доцент (Россия, Чебоксары)

Лазебник Леонид Борисович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Москва)

Мартьянов Анатолий Иванович, действительный член (академик) РАН, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Москва)

Московский Александр Владимирович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Мухамеджанова Любовь Рустемовна, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Казань)

Николаев Николай Станиславович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Павлова Светлана Ивановна, доктор медицинских наук, доцент (Россия, Чебоксары)

Паштаев Николай Петрович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Пыков Михаил Иванович, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Москва)

Родионов Владимир Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Сапожников Сергей Павлович, доктор медицинских наук, доцент (Россия, Чебоксары)

Сергеев Валерий Николаевич, доктор медицинских наук (Россия, Москва)

Стручко Глеб Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор (Россия, Чебоксары)

Тарасова Лариса Владимировна, доктор медицинских наук, доцент (Россия, Сургут)

Трухан Дмитрий Иванович, доктор медицинских наук, доцент (Россия, Омск)

Фазылов Акрам Акмалович, доктор медицинских наук, профессор (Узбекистан, Ташкент)

Фанарджян Рубен Викторович, доктор медицинских наук, профессор (Армения, Ереван)

Ответственный секретарь

Н.И. Завгородняя

Адрес редакции: 428015, Чебоксары, Московский пр., 15,
тел. (8352) 45-20-96, 58-33-63 (доб. 2030)
e-mail: vestnik210@mail.ru
<http://acta-medica-eurasica.ru>

О БРЕДЕ КОРОНАВИРУСНОГО САМОПРЕЗРЕНИЯ

Ключевые слова: COVID-19, стресс, страх (тревога), депрессивное состояние, бредовые (сверхценные) идеи, попытки (постгомицидного) самоубийства.

На основании наблюдения из судебно-психиатрической практики и обзора литературы нами впервые описывается бред «коронавирусного (само)презрения». Пожилой больной после перенесенной инфекции COVID-19 стал считать себя вместе с женой распространителем коронавирусной инфекции, представляющим опасность для заражения окружающих. На фоне страха смерти он испытывал чувство позора, стыда и самопрезрения к себе и ожидал негативного отношения со стороны окружающих вплоть до дискриминации, поэтому был готов совершить самоубийство. Под воздействием этих бредовых идей пытался убить свою жену и себя, но по счастливой случайности все фигуранты дела остались живы. На судебно-психиатрической экспертизе был признан невменяемым. Бред коронавирусного (само)презрения является чувственным бредом, развивается на фоне сильного стресса (либо депрессии), напоминая по условиям формирования (характера, переживания, среды) сенситивный бред отношения. Обсуждается участие в этом психопатологическом феномене явления самостигматизации (стигмы и дискриминации), влияния COVID-19 на развитие и патопластику бредовых (сверхценных) идей.

Вспышка COVID-19 впервые возникла в Китае в конце 2019 г. Эпидемия коронавирусной инфекции охватила все страны и континенты. Миллионы людей заболели COVID-19 [9–18].

Как свидетельствуют данные литературы, инфицированные пациенты подвержены риску развития психических расстройств, в первую очередь таких, как тревожные, депрессивные и нарушения сна [11, 18]. Нередко встречаются психозы, которые сопровождаются помрачением сознания, галлюцинациями и бредом, аффективными нарушениями, развитием кататонических включений [10, 17]. Причем содержание бредовых идей может быть подвержено влиянию COVID-19. Так, через три недели после начала этой инфекции в Испании (февраль 2020) был зарегистрирован первый случай высказывания больной с маниакально-бредовым синдромом патологических идей, связанных со вспышкой коронавируса. Она с ужасом объясняла, что вокруг нее все изменилось: люди стали другими и ведут себя не так, как обычно, мир какой-то «нереальный, движется к зомби-апокалипсису, поскольку вирус превращает инфицированных людей в зомби» [15]. Похожие случаи влияния COVID-19 на содержание бредовых идей обнаружены и в других странах мира [12].

Мы наблюдали больного 69 лет, который после перенесенной коронавирусной инфекции средней степени тяжести на фоне бессонницы и тревожно-депрессивного состояния стал высказывать бредовые идеи о том, что он и его жена теперь «заразные («прокаженные»), а окружающие люди будут их осуждать и подвергать дискриминации (остракизму). Поэтому он предложил жене убить его. После того как супруга отказалась это делать, сам попытался убить ее (нанес ушиб головного мозга тяжелой степени и многочисленные оскольчатые переломы костей черепа, потом облил ее горячей жидкостью

и попытался поджечь), а потом и себя путем самосожжения, чтобы «не переживать по поводу такого позора и не мучиться от предстоящей мучительной смерти». По счастливому стечению обстоятельств жена и больной (ее муж) остались живы, но было возбуждено уголовное дело по статье «Покушение на убийство». Был признан невменяемым и направлен на принудительное лечение в психиатрический стационар общего типа [2].

Данный случай представляется нам очень показательным и позволяет назвать психопатологические особенности бредом коронавирусного (само)презрения. Рассмотрим основные характеристики этого нарушения, его структуру и факторы, участвующие в его формировании.

Согласно словарю С.И. Ожегова: «Презрение – глубоко пренебрежительное отношение к кому-чему-нибудь» [7]. Другой авторитетный филолог Д.Н. Ушаков уточняет, что «презрение – такое отношение к кому-чему-нибудь, которое вызывается признанием кого-чего-нибудь подлым, морально низким, ничтожным» [8]. «Самопрезрение как качество личности – склонность презирать самого себя, пренебрежительно думать и относиться к себе; заведомо уничижительно, крайне неуважительно относиться к самому себе» [3]. По аналогии с другими опасными заболеваниями (например, лепрой, больной использует для описания своего состояния слова «прокаженные» [4]) больные, стыдясь «позорного» COVID-19, замыкаются в себе, перестают общаться с окружающими людьми, не обращаются за медицинской, социальной и другими видами помощи, могут совершать агрессивные деликты и самоубийства [13–15].

По клинике описанные бредовые идеи следует отнести к синдромам преимущественно чувственного бреда [1]. Здесь возможны два варианта – бредовый психогенный синдром и голотимный (кататимный) аффективный бред [5]. В наблюдаемом нами случае генез бреда связан с психогенно-травмирующим фактором, которым выступает коронавирусная инфекция с относительно тяжелым течением. На фоне соматических осложнений (полисегментарная пневмония вирусной этиологии с 40% поражением легких, дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность) нарушается сон, появляются тревога и страх смерти. Наблюдаются симптомы бредового настроения и бредового восприятия с последующим бредовым толкованием происходящих событий (инфекция неизлечима – «почти все легких поражены... болезнь заразная и они вместе с женой являются носителями этого вируса. После завершения лечения (отмены капельниц) подумал – выписывают домой умирать!». Замечал в поведении и мимике медработников подтверждения, что он «заразный и скоро умрет». Считал, что члены семьи также обречены на смерть и это будет позором для всех. Выбрасывал свою одежду и вещи в мусорный контейнер, не позволял до себя дотрагиваться. Активно высказывал мысли о самоубийстве). Все это в конце концов приводит к бредовому поведению с гомицидно-суицидальными намерениями [2].

Из литературы известно, что необходимы три условия для формирования сенситивного бреда отношения – характера, переживания и среды [6]. У больного имеются сенситивно-шизоидные черты характера и возрастная ригидность вследствие органических (сосудистых) расстройств, которая способствует «застойности аффекта». Переживания в виде страха смерти с ощущениями стыда и «заразности» в условиях продолжающегося карантина способствуют формированию бреда коронавирусного само(презрения). В отличие от сенситивного бреда отношения, который является стойким и резистентным

к терапии [6], бред коронавирусного самопрезрения сопровождается аффектом страха и поэтому несистематизированный, значительно лучше поддается лечению (у нашего больного бредовые идеи полностью дезактуализировались на фоне относительно короткого приема нейролептиков и антидепрессантов, назначенных в невысоких дозах; если больные с(после) COVID-19 плохо реагируют на проводимую терапию, может проводиться электросудорожная терапия, в первую очередь при наличии психотической депрессии [9]). Кроме описанного варианта психогенно-аффективного бреда, связанного с психотравмирующим фактором, можно предполагать развитие случаев кататимного (голотимного) бреда коронавирусного самопрезрения.

Определено, что в формировании этой фабулы бреда участвует самостигматизация (стигма), связанная с коронавирусной инфекцией. Самостигматизация – это навешивание на себя каких-либо постыдных качеств с ожидаемым негативным отношением к себе и со стороны окружающих. Наш больной считал себя «заразным» и поэтому лишенным права на общение с людьми, заслуживающим ограничений и в других сферах деятельности, лишения возможности вести полноценную общественную жизнь (из-за неизлечимости своей болезни считал, что не сможет получить действенную медицинскую помощь и будет умирать в страшных мучениях). Доказано, что риск суицида может возрасти из-за стигмы по отношению к людям с COVID-19 и их близких [14]. В основе стигмы и самостигматизации лежат не совсем правильные представления о коронавирусной инфекции, ее клинической картине, течении и прогнозе.

В литературе нам встретился случай, по-видимому, сверхценных идей коронавирусного (само)презрения [15]. Больной, находящийся на лечении по поводу коронавирусной инфекции, предпринял в стационаре попытку самоубийства (ввел себя в брюшную полость ртутный градусник), так как считал себя виновным в заражении нескольких членов своей семьи COVID-19. Из-за этого испытывал сильное чувство вины и беспокойство о дискриминации со стороны общества. После оперативного вмешательства по извлечению инородного тела, получал сеансы психотерапии и психокоррекции с консультациями старшего психолога и специалиста по сестринскому уходу, которые способствовали его выздоровлению (дезактуализации идей коронавирусного самопрезрения). Антидепрессантов и других психотропных средств больной не получал. Авторы рекомендуют психотерапию (своевременное и эффективное психологическое консультирование пациентов) как важное средство лечения пациентов с COVID-19 без выраженных (психотических) психических расстройств, которые характеризуются приписыванием себе нанесения «серьезного социального вреда» в виде распространения инфекции (заражения окружающих людей) [15].

Зачастую квалифицировать возможные психические расстройства и их психопатологическую структуру не представляется возможным, поскольку проведение аутопсии постгомичидных самоубийств представляется затруднительной, а порой и невозможной. Однако связь с коронавирусной инфекцией и (ауто)агрессивным поведением четко просматривается в ряде публикаций. В частности, M.D. Griffiths, M.A. Mamin описывают «пакты о самоубийстве», которые заключают супружеские пары (партнеры) из-за боязни заразиться или заразить коронавирусной инфекцией других людей, умереть в мучениях, быть преследуемыми (подвергаться гонениям) со стороны других людей. Так,

в США мужчина 54 лет убил свою подругу 58 лет, которая страдала от серьезных проблем с дыханием, а потом застрелился сам. Считал, что они оба болеют COVID-19 и должны скоро умереть. Вскрытие показало, что ни один из них не был инфицирован этим вирусом. В Индии семейная пара отравилась по схожей причине (испытывали сильное «напряжение» из-за COVID-19), оставив предсмертную записку. В другом случае, муж и жена повесились на дереве (чувствовали безнадежность и отсутствие выхода из сложившейся ситуации), так как соседи заставляли их покинуть деревню в связи с возможным заражением COVID-19. Признаки инфекции не были обнаружены ни в одном из этих случаев [13].

Таким образом, наши наблюдения и краткий обзор литературы показывают, что нынешняя пандемия COVID-19 тесно связана с развитием разнообразной психической патологии, агрессивным и суицидальным поведением. По мере того как ситуация с COVID-19 превращается в предмет беспокойства среди населения в целом, она все чаще включается в фабулу переживаний (бредовых и сверхценных идей) пациентов с психическими расстройствами. Больные с актуальными идеями коронавирусного (само)презрения могут представлять опасность как для самих себя, так и для окружающих их людей, поэтому нуждаются в своевременной и адекватной психиатрической помощи.

Литература

1. *Голенков А.В.* Основы психиатрии: синдромы и психотропные средства. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2019. 104 с.
2. *Голенков А.В., Орлов Ф.В., Деомидов Е.С., Булыгина И.Е.* Попытка постгомицидного самоубийства больного с психотической депрессией после перенесенной коронавирусной инфекции (клинический случай) // *Суицидология*. 2021. № 12(1). С. 137-148. DOI: 10.32878/suiciderus.21-12-01(42)-137-148 .
3. *Ковалев П.* Самопрезрение [Электронный ресурс]. URL: <https://podskazki.info/samoprezrenie>.
4. *Колесников Ф.Н.* Лепра: из тени на свет. Очерк о загадочной болезни // *Universum: медицина и фармакология*. 2018. № 1 (46). С. 4–11.
5. *Рыбальский М.И.* Бред. М.: Медицина, 1993. 368 с.
6. *Тёлле Р.* Психиатрия с элементами психотерапии. Минск: Вышэйшая школа, 1999. 496 с.
7. Толковый словарь Ожегова онлайн. URL: <https://slovarozhegova.ru/word.php?wordid=23462>.
8. Толковый словарь Ушакова онлайн. URL: <https://ushakovdictionary.ru/word.php?wordid=56285>.
9. *Boland X., Dratcu L.* Electroconvulsive Therapy and COVID-19 in Acute Inpatient Psychiatry: More Than Clinical Issues Alone. *JECT*, 2020, vol. 36(3), pp. 223–224. DOI: 10.1097/YCT.0000000000000708.
10. *Caan M.P., Lim C.T., Howard M.* A Case of Catatonia in a Man With COVID-19. *Psychosomatics*, 2020, vol. 61(5), pp. 556–560. DOI: 10.1016/j.psych.2020.05.021.
11. *Deng J., Zhou F., Hou W., Silver Z, Wong C.Y., Chang O., Huang E., Zuo Q.K.* The prevalence of depression, anxiety, and sleep disturbances in COVID-19 patients: a meta-analysis. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2021, vol. 1486(1), pp. 90–111. DOI: 10.1111/nyas.14506.
12. *Girasek H., Gazdag G.* The impact of the COVID-19 epidemic on the content of the delusions. *Psychiatr. Hung.*, 2020, vol. 35(4), pp. 471–475.
13. *Griffiths M.D., Mamun M.A.* COVID-19 suicidal behavior among couples and suicide pacts: Case study evidence from press reports. *Psychiatry Res.*, 2020, Jul. 289: 113105. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.113105.
14. *Gunnell D., Appleby L., Arensman E., Hawton K., John A., Kapur N., Khan M., O'Connor R.C., Pirkis J.* COVID-19 Suicide Prevention Research Collaboration. Suicide risk and prevention during the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry*, 2020, vol. 7(6), pp. 468–471. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30171-1.
15. *Liu Y., Cao L., Li X., Jia Y., Xia H.* Awareness of mental health problems in patients with coronavirus disease 19 (COVID-19): A lesson from an adult man attempting suicide. *Asian J. Psychiatr.*, 2020, vol. 51: 102106. DOI: 10.1016/j.ajp.2020.102106.
16. *Ovejero S., Baca-García E., Barrigón M.L.* Coronavirus infection as a novel delusional topic. *Schizophr. Res.*, 2020, vol. 222, pp. 541–542. DOI: 10.1016/j.schres.2020.05.009.

17. Sarli G., Polidori L., Lester D., Pompili M. COVID-19 related lockdown: a trigger from the pre-melancholic phase to catatonia and depression, a case report of a 59 year-old man. *BMC Psychiatry*, 2020, vol. 20(1), p. 558. DOI: 10.1186/s12888-020-02978-2.

18. Sher L. Are COVID-19 survivors at increased risk for suicide? *Acta Neuropsychiatr.*, 2020, vol. 32(5), p. 270. DOI: 10.1017/neu.2020.21.

ГОЛЕНКОВ АНДРЕЙ ВАСИЛЬЕВИЧ – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой психиатрии, медицинской психологии и неврологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (golenkovav@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3799-0736>).

Andrei V. GOLENKOV

ABOUT THE DELIRIUM OF CORONAVIRUS SELF-CONTEMPT

Key words: COVID-19, stress, fear (anxiety), depressed state, delusional (super-valuable) ideas, attempts of (post-homicidal) suicide.

Based on observations from forensic psychiatric practice and the review of the literature, we describe for the first time the delirium of the "coronavirus (self)contempt". An elderly patient after coming through COVID-19 infection began to consider himself and his wife a distributor of the coronavirus infection, constituting himself a danger to the public. Against the background of feeling of impending doom, he felt the sense of disgrace, shame and self-contempt for himself and expected a negative attitude from others, including discrimination, so he was ready to commit suicide. Under the influence of these delusional ideas, he tried to kill his wife and himself, but by a lucky chance all the defendants in the case remained alive. The forensic psychiatric examination recognized him insane. Delirium of the coronavirus (self)contempt is a sensual delusion that develops against the background of a severe stress (or depression), by the conditions of formation (character, experience, environment) it resembles sensitive reference delusion. The paper discusses the involvement of self-stigmatization (stigma and discrimination) phenomena, the influence of COVID-19 on the development and pathoplasty of delusional (super-valuable) ideas in this psychopathological phenomenon.

References

1. Golenkov A.V. *Osnovy psikhiiatrii: sindromy i psikhotropnye sredstva* [The basics of psychiatry: syndromes and psychotropic drugs]. Cheboksary, Chuvash University Publ., 2019, 104 p.
2. Golenkov A.V., Orlov F.V., Deomidov E.S., Bulygina I.E. *Popytka postgomitsidnogo samoubiistva bol'nogo s psikhoticheskoi depressiei posle perenesennoi koronavirusnoi infektsii (klinicheskii sluchai)* [Attempted post-homicidal suicide of a patient with psychotic depression after suffering a coronavirus infection (clinical case)]. *Suitsidologiya*, 2021, no. 12 (1), pp. 137-148. DOI: [org/10.32878/suiciderus.21-12-01\(42\)-137-148](https://doi.org/10.32878/suiciderus.21-12-01(42)-137-148).
3. Kovalev P. *Samoprezrenie* [Self-contempt]. Available at: <https://podskazki.info/samoprezrenie>.
4. Kolesnikov F.N. *Lepra: iz teni na svet. Ocherk o zagadochnoi bolezni* [Lepra: from shadow to light. Essay on a mysterious disease]. *Universum: meditsina i farmakologiya*, 2018, no. 1(46), pp. 4–11.
5. Rybal'skii M.I. *Bred* [Delirium]. Moscow, Meditsina Publ., 1993, 368 p.
6. Telle R. *Psikhiiatriya s elementami psikhoterapii* [Psychiatry with elements of psychotherapy]. Minsk, Vyshaya shkola Publ., 1999, 496 p.
7. *Tolkovyi slovar' Ozhegova onlain* [Ozhegov's explanatory dictionary online]. Available at: <https://slovarozhegova.ru/word.php?wordid=23462>.
8. *Tolkovyi slovar' Ushakova onlain* [Ushakov's explanatory dictionary online]. Available at: <https://ushakovdictionary.ru/word.php?wordid=56285>.
9. Boland X., Dratcu L. Electroconvulsive Therapy and COVID-19 in Acute Inpatient Psychiatry: More Than Clinical Issues Alone. *JECT*, 2020, vol. 36(3), pp. 223–224. DOI: 10.1097/YCT.0000000000000708.
10. Caan M.P., Lim C.T., Howard M. A Case of Catatonia in a Man With COVID-19. *Psychosomatics.*, 2020, vol. 61(5), pp. 556–560. DOI: 10.1016/j.psym.2020.05.021.
11. Deng J., Zhou F., Hou W., Silver Z, Wong C.Y., Chang O., Huang E., Zuo Q.K. The prevalence of depression, anxiety, and sleep disturbances in COVID-19 patients: a meta-analysis. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2021, vol. 1486(1), pp. 90–111. DOI: 10.1111/nyas.14506.

12. Girasek H., Gazdag G. The impact of the COVID-19 epidemic on the content of the delusions. *Psychiatr. Hung.*, 2020, vol. 35(4), pp. 471–475.
13. Griffiths M.D., Mamun M.A. COVID-19 suicidal behavior among couples and suicide pacts: Case study evidence from press reports. *Psychiatry Res.*, 2020, Jul. 289: 113105. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.113105.
14. Gunnell D., Appleby L., Arensman E., Hawton K., John A., Kapur N., Khan M., O'Connor R.C., Pirkis J. COVID-19 Suicide Prevention Research Collaboration. Suicide risk and prevention during the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry*, 2020, vol. 7(6), pp. 468–471. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30171-1.
15. Liu Y., Cao L., Li X., Jia Y., Xia H. Awareness of mental health problems in patients with coronavirus disease 19 (COVID-19): A lesson from an adult man attempting suicide. *Asian J. Psychiatr.*, 2020, vol. 51: 102106. DOI: 10.1016/j.ajp.2020.102106.
16. Ovejero S., Baca-García E., Barrigón M.L. Coronavirus infection as a novel delusional topic. *Schizophr. Res.*, 2020, vol. 222, pp. 541–542. DOI: 10.1016/j.schres.2020.05.009.
17. Sarli G., Polidori L., Lester D., Pompili M. COVID-19 related lockdown: a trigger from the pre-melancholic phase to catatonia and depression, a case report of a 59 year-old man. *BMC Psychiatry*, 2020, vol. 20(1), p. 558. DOI: 10.1186/s12888-020-02978-2.
18. Sher L. Are COVID-19 survivors at increased risk for suicide? *Acta Neuropsychiatr.*, 2020, vol. 32(5), p. 270. DOI: 10.1017/neu.2020.21.

ANDREI V. GOLENKOV – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Psychiatry, Medical Psychology and Neurology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (golenkovav@inbox.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3799-0736>).

Формат цитирования: Голенков А.В. О бреде коронавирусного самопрезрения [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 2. – С. 1–6. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/1>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-1-6.

В.А. КОЗЛОВ, С.П. САПОЖНИКОВ, П.Б. КАРЫШЕВ,
А.И. ФУФАЕВА, В.Ю. АЛЕКСАНДРОВА, Ю.В. ВАСИЛЬЕВА

ТОНЗИЛОГЕННЫЙ АМИЛОИДОЗ

Ключевые слова: небная миндалина, амилоидоз, конго, трехцветное окрашивание.

В связи с сообщением, что амилоид является функциональным антимикробным веществом, возможно частью врожденного иммунитета, мы предположили, что амилоид может образовываться в небных миндалинах при хроническом тонзиллите. Тридцати двум больным в возрасте от 19 до 52 лет было проведено хирургическое лечение клинически доказанного хронического тонзиллита.

Цель исследования – обнаружение факта формирования амилоидного поражения миндалин при хронических тонзиллитах.

Гистологическое исследование тонзиллэктомированного материала, зафиксированного в 10% растворе формалина и залитого в парафин на 4-микронных гистологических срезах: 1) по обычной методике, окрашенных гематоксилин-эозином, 2) окрашивание конго красным и 3) собственным оригинальным трехцветным методом (двухчасовая инкубация парафиновых срезов в ацидин-пелсине, последовательное окрашивание пикрофуксином по Ван Гизону, гематоксилином Карацци, конго красным по Н.Н. Venhold, пикро-индигокармином).

У всех 32 больных выявлена картина хронического тонзиллита без обострения со склерозом стромы и атрофией лимфатического аппарата железы. Локальный амилоидоз миндалин выявлен в 10 случаях из 32. В результате трехцветного окрашивания неизменённые соединительнотканые волокна прокрашивались в зелёный цвет, изменённые (гиалиноз или амилоидоз) в различные оттенки от желтого, желто-оранжевого до красного, кроме того, в тканях миндалин отчетливо выявлялись лимфоциты, нейтрофилы и тучные клетки. Для сравнения был взят секционный материал небной миндалин у мужчины 49 лет, покончившего жизнь самоубийством через повешенье, но без хронического тонзиллита. Судебно-медицинский диагноз: механическая асфиксия через повешенье. Макроскопически: миндалины не увеличены, складчатые, размеры одной из них вместе с мягкими тканями составляли 2,5×1,5×1 см. Тем не менее в срезах миндалин суицидента обнаружено конгоположительное вещество.

Сделан вывод, что значительное число случаев амилоидоза, не приведших к тяжёлым поражениям жизненно важных органов, остается неучтенным в связи с отсутствием информированности специалистов и, как следствие, рекомендаций к скрининговому исследованию на наличие амилоидоза. Как минимум у 30% больных с хроническим тонзиллитом наблюдается, по крайней мере, локальный амилоидоз миндалин. Амилоидное поражение миндалин может встречаться даже при клинически неизменённых миндалинах.

Введение. Приобретенный амилоидоз традиционно считается осложнением таких длительно протекающих хронических инфекций, как туберкулез, либо системных заболеваний, которые развиваются на протяжении длительного времени. Между тем из материала некоторых зарубежных исследований следует, что амилоидоз встречается при более чем тридцати заболеваниях, патогенез которых ранее никак не ассоциировался с первичным локальным амилоидозом, например, таких, как сахарный диабет II типа (амилоидоген – амилин), открытоугольная глаукома и т.д. [9]. Кроме того, появились не лишённые оснований предположения, что амилоид является функциональным веществом, возможно, частью врожденного иммунитета [12]. По этой причине у нас возникло предположение, что амилоид может образовываться в небных миндалинах при их хроническом инфекционном поражении. Это может быть

либо локальным, возможно защитным, процессом, либо представлять собой более тяжелую проблему при генерализации процесса и поступлении амилоида из миндалин в кровоток. Гистологически выраженный амилоидоз небных миндалин нами был обнаружен в 30% случаев хронического тонзиллита. Более того, к нашему крайнему удивлению, амилоид нами был найден в препаратах небных миндалин практически здорового суицидента 49 лет. Но сведений о локальном амилоидозе миндалин при хроническом тонзиллите ни в отечественной, ни в зарубежной литературе нами не найдено.

Таким образом, существует значительный пробел в понимании механизмов формирования как минимум вторичного амилоидоза, который, судя по нашим данным, может начинаться с локального процесса в небных миндалинах, как пограничных иммунокомпетентных органах, наиболее уязвимых к инфекционному повреждению. При наличии соответствующих условий (хронический воспалительный процесс внутренних органов) локальный амилоидоз может генерализовываться с формированием амилоидных депозитов в органах-мишенях.

Цель исследования – закрепление приоритета обнаружения факта формирования амилоидного поражения миндалин как в результате формирования хронического тонзиллита, так и без видимых причин.

Материал и методы исследования. Краткая характеристика группы больных. В условиях отделения оториноларингологии бюджетного учреждения Чувашской Республики «Больница скорой медицинской помощи» Министерства здравоохранения Чувашской Республики по поводу декомпенсированного хронического тонзиллита обследовано 32 человека в возрасте от 19 до 52 лет, средний возраст – $32,0 \pm 10,3$ года. Женщин – 20 человек, средний возраст – $31,4 \pm 10,7$ года. Мужчин – 12 человек, средний возраст – $32,9 \pm 10,7$ года. Целью обследования являлась подготовка к плановой тонзиллэктомии. Из них не имели сопутствующего диагноза – четыре человека, все женщины. Осложнение тонзиллита в виде ревматического порока сердца имела только одна женщина в возрасте 32 лет. Гломерулонефрит – один мужчина в возрасте 41 года. Двадцать восемь человек имели сопутствующие диагнозы, не связанные с хроническим тонзиллитом, но у всех 32 обследованных наблюдались нарушения процессов реполяризации миокарда и в одном случае у мужчины 51 года – экстрасистолия. В одном случае у женщины 34 лет наблюдался паратонзиллярный абсцесс, все остальные больные прооперированы в период ремиссии.

Кроме того, для сравнения был взят секционный материал небной миндалины у практически здорового соматически мужчины 49 лет, покончившего жизнь самоубийством через повешенье, но без хронического тонзиллита.

Гистологический материал был зафиксирован в 10%-ном растворе формалина и залит в парафин по обычной методике. В предварительном гистологическом исследовании для подтверждения или исключения диагноза «хронический тонзиллит» все 4-микронные парафиновые срезы исследуемых органов были окрашены гематоксилином Карацци с последующим докрасиванием эозином по обычной методике.

На втором этапе исследования часть срезов после перекрашивания гематоксилином Карацци была докрасена 1%-ным раствором конго красного по Н.Н. Venhooold и заделана в прозрачную среду. Другая часть парафиновых срезов тканей была предварительно частично депротенинирована путем инкубации в течение 2 ч в растворе ацидин-пепсина (две таблетки аптечного препарата на 100 мл воды, каждая таблетка содержит 50 мг протеолитического фермента

пепсина и 200 мг беталаина, pH = 4) при комнатной температуре (20°C), затем смонтирована на предметные стекла и депарафинирована, после чего срезы были последовательно окрашены: 1) пикрофуксином по Ван Гизону, промыты в воде, 2) докрашены гематоксилином, промыты в воде, дифференцированы в подкисленном 70° спирте, промыты в воде, 3) окрашены конго красным, дифференцированы в 70° спирте, промыты в воде и 4) окрашены пикро-индигокармином, промыты водой, обезвожены и заделаны в прозрачную среду [2].

Гистологическое исследование осуществляли на кафедре медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова». Микроскопирование осуществляли в проходящем белом свете от светодиодного излучателя 7000 К на микроскопе ЛОМО. Микрофотографии получены с помощью цифровой камеры Levenhuk C800 NG 8M, USB 2.0. Полученные микрофотографии были исследованы морфометрическими методами. Относительную площадь в процентах от общей площади микрофотографии в пикселях измеряли в программе LevenhukLite.

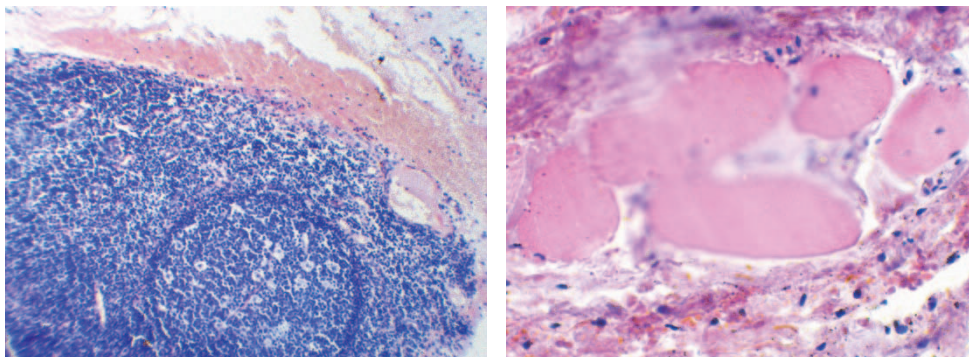
Оптическую плотность участков отложения конго положительного вещества на срезах, окрашенных конго красным по Н.Н. Venhoold, измеряли с помощью флуоресцентного микроскопа «Люмам-4» в соответствии с рекомендациями Л.С. Агроскина и Г.В. Папаяна (1977) [1]. Фотометрию в проходящем белом свете от светодиодного осветителя осуществляли с помощью микролюциметра ФМЭЛ-1А, запирающий светофильтр ЗС2. Электрические параметры на всех замерах определялись следующими параметрами: входное напряжение 900 В, сопротивление усилителя 106 Ом. В насадке был установлен зонд 0,5. Для измерения использовали ФЭУ-39, показания снимали с цифрового вольтметра, данные представлены в единицах оптической плотности.

Полученный цифровой материал обработан методами дескриптивной статистики в табличном редакторе Excel 2007. Различия средних определены с помощью метода χ^2 . Корреляционные отношения рассчитаны по методу Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение. На рис. 1, а, б показаны окрашенные конго красным препараты миндалина человека, резецированной по поводу хронического декомпенсированного тонзиллита. Отложения амилоида наблюдаются в области, непосредственно прилегающей к лимфоидному узелку (рис. 1, а). Наблюдается как образование амилоидных депозитов (рис. 1, б), так и диффузное отложение амилоида на волокна соединительной ткани вокруг депозитов. В результате предварительного гистологического исследования с помощью окрашивания конго красным по Н.Н. Venhold было установлено, что в 10% случаев тонзиллэктомированный материал вне зависимости от возраста больных и сопутствующих заболеваний содержит амилоидные депозиты. В связи с чем было принято решение изучить эти препараты с помощью трехцветной окраски.

На рис. 2 показаны микрофотографии срезов, окрашенных трехцветным способом. На рис. 2, а, б показан край миндалина с подкапсульным слоем и эпителием, инфильтрированным лимфоцитами. Капсула миндалина содержит диффузные отложения амилоида – окрашена конго. Подкапсульный слой, содержащий ретикулиновые волокна, окрашивается индигокармином в сине-зеленые цвета, в нем видны сосуды (артерии), стенки которых содер-

жат амилоидные депозиты. Эпителий, инфильтрированный лимфоцитами, не содержит ретикулиновых волокон и амилоидных депозитов. Ядра лимфоциты окрашены в оттенки сине-фиолетового цвета. Обнаруживается единичная тучная клетка красно-коричневого цвета, фибробласты и отдельные лимфоциты, окрашенные в сине-фиолетовый цвет.

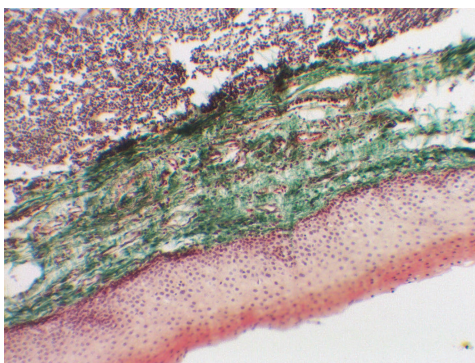


а – участок небной миндалины – граница лимфоидного узелка и диффузной лимфоидной ткани, пораженной амилоидозом. Конго красный. Ув. $\times 100$

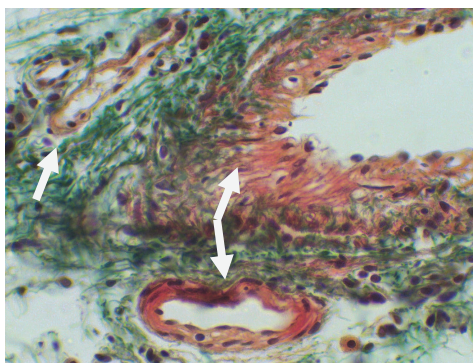
б – участок небной миндалины с амилоидными депозитами. Конго красный. Ув. $\times 400$

Рис. 1. Амилоидоз миндалины человека на фоне хронического декомпенсированного тонзиллита. Фиолетовым цветом окрашены – ядра, красным – амилоидные депозиты.

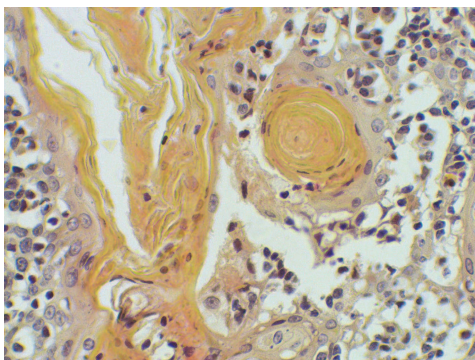
На рис. 2, *в* показаны гиалиновые отложения в строме миндалины, окрасившиеся пикрином в желтый цвет, что можно расценивать как гиалиновые отложения. На рис. 2, *г* в строме миндалины видны множественные тучные клетки с хорошо различимой зернистостью и клеточными ядрами, а также лимфоцитами различной степени зрелости и фибробласты. Как и на рис. 2, *в*, цитоплазма тучных клеток окрашена в красный цвет, возможно, такое окрашивание обусловлено тем, что тучные клетки поглощают амилоидные массы, которые в цитоплазме тучных клеток распределяются равномерно. На рис. 2, *д* в центре обнаруживается сегментоядерный нейтрофил, на периферии тучные клетки и два лимфоцита с округлыми ядрами темно-синего цвета. На рис. 2, *е* показан лимфоидный узелок миндалины, содержащий множество лимфоцитов с ядрами, окрашенными в сине-фиолетовые цвета. У обследованного суицидента, к нашему глубокому удивлению, при отсутствии видимых признаков хронического тонзиллита, тем не менее, были выявлены участки амилоидных отложений (рис. 3, *а*). При трехцветном окрашивании (рис. 3, *б*) было установлено, что отложения амилоида накладываются на участки гиалиноза (желтое окрашивание). Отложения амилоида более выражены в области диффузной лимфоидной ткани и стенках артерий, тогда как лимфоидные узелки поражены в меньшей степени. Как и в остальных случаях, при трехцветной окраске видно, что слой рыхлой соединительной ткани, окрашивающийся в цвета индигокармина (сине-зеленые оттенки), практически не содержит амилоидных отложений, тогда как при окрашивании Н.Н. Venhold эти участки связывают конго красный, что, ориентируясь на трехцветный способ окраски, можно расценивать как неспецифичное окрашивание.



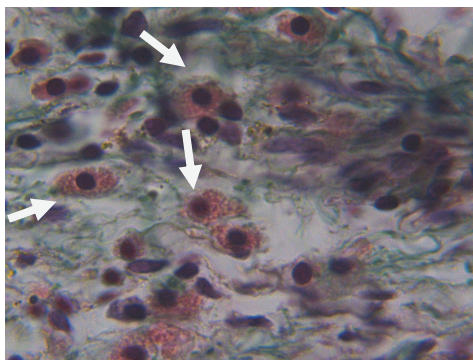
а – край миндалины со слизистой оболочкой, инфильтрированной лимфоцитами и диффузными отложениями конго положительного вещества, подслизистый слой окрашен индиго-кармином (зеленый цвет), лимфоидный узелок – в сине-фиолетовые цвета. Ув. $\times 100$



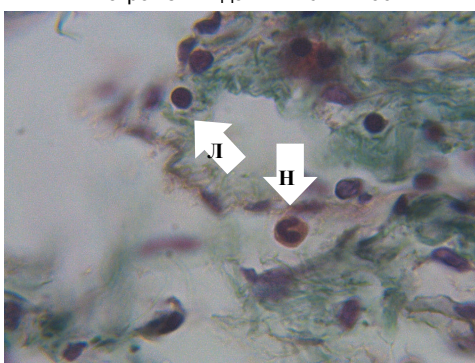
б – сосуды эластического типа с амилоидными отложениями и вена (показана стрелкой) в подкапсульном слое миндалины. Ув. $\times 400$



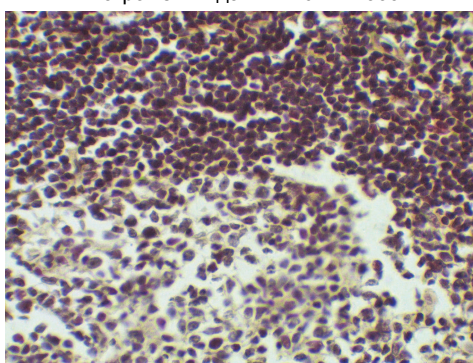
в – гиалиновые отложения (желтый цвет) в строме миндалины. Ув. $\times 400$



г – тучные клетки (показаны стрелкой) в строме миндалины. Ув. $\times 1000$



д – нейтрофил (показан стрелкой) в строме миндалины с лимфоцитами различной степени зрелости и фибробластами. Ув. $\times 1000$

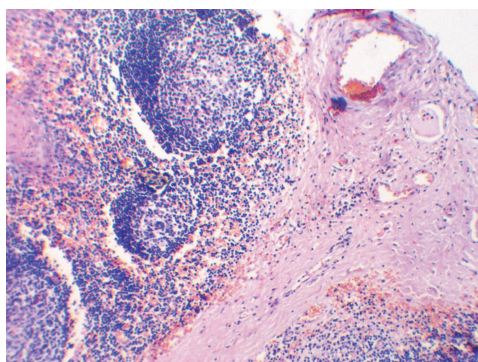


е – лимфоидный узелок миндалины. Ув. $\times 400$

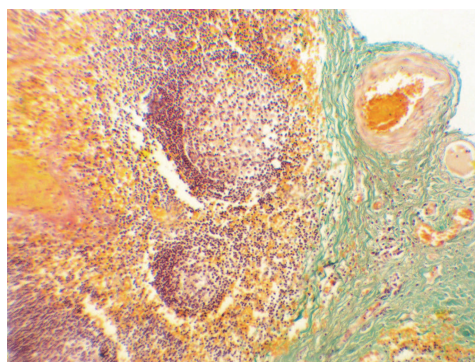
Рис. 2. Амилоидоз миндалины человека на фоне хронического декомпенсированного тонзиллита. Фиолетовый цвет – ядра, сине-зеленый – волокна, не связанные с амилоидом, красно-оранжевый – коллагеновые волокна, связанные с амилоидом, и амилоидные депозиты, желтый – гиалиноз.

Тучные клетки (г) окрашены в цвета конго. Трехцветная окраска по В.А. Козлову и др.

Оптическая плотность амилоидных отложений, измеренная на срезах, окрашенных конго красным по Н.Н. Venhoold, составляла $0,58 \pm 0,18$ ($0,36 \div 0,92$) (зонд 0,5, увеличение 400). То есть, несмотря на то, что интенсивность окрашивания конго визуально кажется достаточно равномерной, объективно обнаруживается различие плотности отложений конго более чем в 1,5 раза. Видимо по этой причине при сравнении последовательных срезов, окрашенных трехцветным способом и конго красным (рис. 3, а, б), площадь, окрашенная конго сильно различается: конго – $26,4 \pm 0,1\%$ (от общей площади среза при увеличении 400), трехцветная окраска – $18,2 \pm 0,1\%$ ($p = 0,002$, χ^2). Оптическая плотность цитоплазмы тучных клеток (рис. 2, а) при увеличении 1000 и зонде 0,1 составила $0,05 \pm 0,001$. Коэффициент корреляции между оптической плотностью конго положительных участков и возрастом больных, миндалины которых содержали амилоидные отложения, составил $-0,37$ ($p = 0,05$), что может свидетельствовать об отсутствии связи между выраженностью амилоидного поражения и длительностью протекания хронического тонзиллита.



а – амилоидоз небной миндалины.
Конго красный. Ув. $\times 400$



б – амилоидоз небной миндалины.
Тот же участок, что и на рис. а, но окрашенный
трехцветным методом. Ув. $\times 400$

Рис. 3. Амилоидоз миндалины у соматически практически здорового суицидента 49 лет

Из результатов анализа полученного нами гистологического материала миндалин, удаленных по медицинским показаниям в связи с наличием хронического тонзиллита, а также материала, полученного от относительно здорового суицидента, однозначно следует, что как минимум у 10% обследованных на фоне хронического воспаления миндалин с соответствующими морфологическими изменениями вне зависимости от возраста наблюдается локальный амилоидоз миндалин. Обнаруженный факт, особенно наличие обратной отрицательной корреляционной связи между возрастом больных и оптической плотностью участков отложения амилоида, можно объяснить тем, что склерозирование миндалин при хроническом тонзиллите вызвано персистенцией в их глубоких отделах микстной инфекции: энтерококки, мезофилы, *Candida* и их ассоциации со стрептококками, стафилококками и микрококками [4]. По крайней мере, некоторые из этих возбудителей производят внеклеточный амилоид, необходимый им для образования биопленок – *Candida* sp. [10], либо амилоид является структурным элементом их органоидов движения – пилей и курлей [3]. Таким образом, допустимо сделать предположение, что об-

наруженный нами в миндалинах амилоид имеет бактериальное и/или грибковое происхождение. Это предположение хорошо объясняет причину развития амилоидоза, осложняющего такие хронические бактериальные инфекции, как туберкулез.

Амилоид представляет собой супрамолекулярную структуру – одноосевой кристалл – нанотрубку, образованную мономерными 38–42 аминокислотными последовательностями [5–7, 10]. Будучи кристаллом, эта нанотрубка обладает способностью к самостоятельному росту с обоих концов. Достигнув предела прочности при определенной длине, она ломается как минимум на две части, которые продолжают рост [8]. Поскольку амилоиды образуются из однотипных аминокислотных последовательностей, входящих в состав как минимум тридцати белков, имеющих у человека, то не имеет значения – белок какого происхождения явился причиной образования амилоидной закладки [11]. Однажды образовавшись, он будет самовоспроизводиться дальше, аналогично прионам [8].

На основании сравнения гистологического материала, окрашенного разными способами – конго красным и разработанным нами трехцветным способом, следует вывод, что трехцветное окрашивание, очевидно, более информативный метод изучения амилоидного поражения органов, чем окраска по Н.Н. Venhoold в различных известных модификациях. Данный метод окрашивания позволяет на одном препарате одновременно оценить степень амилоидного поражения ткани, а также дифференцировать клеточный состав и осуществить морфометрический анализ. Кроме того, он позволяет точно дифференцировать амилоидное и гиалиновое поражение и показывает, что эти два процесса могут протекать параллельно. Примененное нами трехцветное окрашивание позволяет получить срезы с хорошим цветовым контрастом, что меньше утомляет зрение при анализе срезов.

Выводы. Из полученных нами данных очевидным образом следует вывод, что наше предположение о том, что миндалины, как пограничный орган иммунной системы, постоянно контактирующий с патогенной и условно-патогенной микрофлорой, часть которой является продуцентом функционального амилоида, подвергается амилоидному поражению. Поскольку наша относительно малая выборка была абсолютно случайной, можно предположить, что частота локального амилоидоза миндалин, связанного с формированием хронического тонзиллита, составляет не менее 10% от числа больных хроническим тонзиллитом. Факт случайного обнаружения амилоидного поражения миндалин у относительно здорового суицидента, не имевшего изменений миндалин, характерных для хронического тонзиллита, позволяет предположить, что даже однократный контакт с микрофлорой, продуцирующей амилоид, может приводить к локальному амилоидозу в силу инфекционности самого амилоида, как супрамолекулярной структуры, способной к самовоспроизведению. Кроме того, из наших данных следует, что какое-то число амилоидозов в силу отсутствия значительного поражения жизненно значимых органов (сальная почка, сальная печень и т.п.) может протекать бессимптомно или малосимптомно и не отражаться в медицинской статистике. Данное обстоятельство требует разработки и внедрения в клиническую практику методов экспресс-диагностики амилоидоза.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Литература

1. Аероскин Л.С., Папаян Г.В. Цитофотометрия. Аппаратура и методы анализа клеток по светопоглощению. Л.: Наука, 1977. 295 с.
2. Козлов В.А., Сапожников С.П., Карышев П.Б. Трехцветная окраска на амилоид // Цитология. 2017. Т. 59, № 9. С. 623–627.
3. Рекстина В.В., Горковский А.А., Безсонов Е.Е., Калебина Т.С. Амилоидные белки поверхности микроорганизмов: структура, свойства и значение для медицины // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2016. № 1. С. 4–13.
4. Цыркунов В.М., Рыбак Н.А., Васильев А.В., Рыбак Р.Ф. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита // Инфекционные болезни. 2016. Т. 14. № 1. С. 42–47. doi: 10.20953/1729-9225-2016-1-42-47.
5. Baldwin A.J., Knowles T.P., Tartaglia G., Fitzpatrick A., Devlin G., Shammas S., Waudby C.A., Mossuto M.F., Gras S.L., Christodoulou J., Anthony-Cahill S.J., Barker P.D., Vendruscolo M., Dobson C.M. Metastability of native proteins and the phenomenon of amyloid formation. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011. vol. 133, no. 36, pp. 14160–14163. DOI: 10.1021/ja2017703.
6. Knowles T.P.J., Vendruscolo M., Dobson C.M. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nature Reviews Mol. Cell Biol.*, 2014, vol. 15, no. 6, pp. 384–396. DOI: 10.1038/nrm3810.
7. Krebs M.R., Bromley E.H., Donald A.M. The binding of thioflavin-T to amyloid fibrils: localization and implications. *J. Struct. Biol.*, 2005, vol. 149(1), pp. 30–37.
8. Li Y.R., King O.D., Shorter J., Gitler A.D. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J. Cell Biol.*, 2013, vol. 201, no. 3, pp. 361–372. DOI: 10.1083/jcb.201302044.
9. Luheshi L., Dobson C.M. Bridging the gap: from protein misfolding to protein misfolding diseases. *FEBS Lett.*, 2009, vol. 583, no. 16, pp. 2581–2586.
10. Perutz M.F., Finch J.T., Berriman J., Lesk A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 8, pp. 5591–5595.
11. Sipe J.D., Benson M.D., Buxbaum J.N., Ikeda S., Merlini G., Saraiva M.J., Westermark P. Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. Amyloid fibril protein nomenclature: 2012 recommendations from the Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid*, 2012, vol. 19, no. 4, pp. 167–170. DOI: 10.3109/13506129.2012.734345.
12. Soscia S.J., Kirby J.E., Washicosky K.J., Tucker S.M., Ingelsson M., Hyman B., Burton M.A., Goldstein L.E., Duong S., Tanzi R.E., Moir R.D. The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 3, p. e9505. DOI: 10.1371/journal.pone.0009505.

КОЗЛОВ ВАДИМ АВЕИРОВИЧ – доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (pooh12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-1240>).

САПОЖНИКОВ СЕРГЕЙ ПАВЛОВИЧ – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (adaptagon@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0967-7192>).

КАРЫШЕВ ПАВЕЛ БОРИСОВИЧ – лаборант кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (pkarmol@mail.ru).

ФУФАЕВА АЛЕНА ИГОРЕВНА – врач отделения оториноларингологии и челюстно-лицевой хирургии, БУ «Республиканская детская клиническая больница» Минздрава Чувашии, Россия, Чебоксары (priffetik@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4771-7562>).

АЛЕКСАНДРОВА ВЕРА ЮРЬЕВНА – студентка VI курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (verochka789@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5841-7373>).

ВАСИЛЬЕВА ЮЛИЯ ВАЛЕРЬЕВНА – студентка VI курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (yulya-cbx@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1503-8645>).

Vadim A. KOZLOV, Sergey P. SAPOZHNIKOV, Pavel B. KARYSHEV,
Alena I. FUFAYEVA, Vera Yu. ALEXANDROVA, Yulia V. VASILYEVA

TONSILOGENIC AMYLOIDOSIS

Key words: palatine tonsil, amyloidosis, Congo, trichromatic staining.

In connection with the report that amyloid is a functional antimicrobial substance, possibly a part of innate immunity, we suggested that amyloid may form in the palatine tonsils in chronic tonsillitis. Thirty-two patients aged 19 to 52 years underwent surgical treatment for clinically proven chronic tonsillitis.

The aim of the study was to detect the fact of amyloid tonsillar lesions formation in chronic tonsillitis.

We performed histological examination of tonsillo-ectomized material fixed in 10% formalin solution and filled in paraffin on 4-micron histological sections: 1) according to the conventional technique, stained with hematoxylin-eosin, 2) Congo red staining and 3) using our own original trichromatic method (two-hour incubation of paraffin sections in acidin-pepsin, sequential staining with picro-fuchsin according to Van Gieson, Caracci hematoxylin, Congo red according to H. H. Benhold, picro-indigocarmin).

All 32 patients showed a clinical presentation of chronic tonsillitis without exacerbation with stroma sclerosis and atrophy of the lymphatic glandular system. Local amyloidosis of the tonsils was detected in 10 out of 32 cases. As a result of trichromatic staining, unchanged connective tissue fibers stained green, changed tissues (hyalinosis or amyloidosis) stained in various shades from yellow, yellow-orange to red, in addition, lymphocytes, neutrophils and mast cells were clearly detected in the tissues of the amygdala. For comparison, a section of the palatine tonsil was taken from a 49-year-old man who committed suicide by hanging, who had no chronic tonsillitis. Forensic diagnosis: mechanical asphyxia by hanging. Macroscopically: the tonsils are not enlarged, folded, the size of one of them together with the soft tissues was 2.5×1.5×1 cm. Nevertheless, a Congo-positive substance was found in the sections of the suicider's tonsils.

It is concluded that a significant number of amyloidosis cases that did not lead to severe damage to the vital organs remain unaccounted for due to the lack of specialists' awareness and, as a result, recommendations for screening for the presence of amyloidosis. At least 30% of patients with chronic tonsillitis are observed to have at least local tonsillar amyloidosis. Amyloid damage to the tonsils can be seen even in clinically unchanged tonsils.

References

1. Agroskin L.S., Papayan G.V. Tsitofotometriya. Apparatura i metody analiza kletok po svetopogloshcheniyu [Cytophotometry. Equipment and methods for analyzing cells by light absorption] Leningrad, Nauka Publ., 1977, 295 p.
2. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Karyshev P.B. *Trekhtsvetnaya okraska na amiloid* [Trichrome staining for detection of amyloid]. *Tsitologiya*, 2017, vol. 59, no. 9, pp. 623–627.
3. Rekestina V.V., Gorkovskii A.A., Bezsonov E.E., Kalebina T.S. *Amiloidnye belki poverkhnosti mikroorganizmov: struktura, svoystva i znachenie dlya meditsiny* [Amyloid proteins of the surface of microorganisms: structure, properties and significance for medicine]. *Vestnik Rossiiskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2016, no. 1, pp. 4–13.
4. Tsykunov V.M., Rybak N.A., Vasil'ev A.V., Rybak R.F. *Mikrobiologicheskie i morfologicheskie aspekty khronicheskogo tonzillita* [Microbiological and morphological aspects of chronic tonsillitis] *Infektsionnye bolezni*, 2016, vol. 14, no 1, pp. 42–47. DOI: 10.20953/1729-9225-2016-1-42-47.
5. Baldwin A.J., Knowles T.P., Tartaglia G., Fitzpatrick A., Devlin G., Shammass S., Waudby C.A., Mossuto M.F., Gras S.L., Christodoulou J., Anthony-Cahill S.J., Barker P.D., Vendruscolo M., Dobson C.M. Metastability of native proteins and the phenomenon of amyloid formation. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011. vol. 133, no. 36, pp. 14160–14163. DOI: 10.1021/ja2017703.
6. Knowles T.P.J., Vendruscolo M., Dobson C.M. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nature Reviews Mol. Cell Biol.*, 2014, vol. 15, no. 6, pp. 384–396. DOI: 10.1038/nrm3810.
7. Krebs M.R., Bromley E.H., Donald A.M. The binding of thioflavin-T to amyloid fibrils: localization and implications. *J. Struct. Biol.*, 2005, vol. 149(1), pp. 30–37.
8. Li Y.R., King O.D., Shorter J., Gitler A.D. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J. Cel. Biol.*, 2013, vol. 201, no. 3, pp. 361–372. DOI: 10.1083/jcb.201302044.
9. Luheshi L., Dobson C.M. Bridging the gap: from protein misfolding to protein misfolding diseases. *FEBS Lett.*, 2009, vol. 583, no. 16, pp. 2581–2586.

10. Perutz M.F., Finch J.T., Berriman J., Lesk A. Amyloid fibers are water-filled nanotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 8, pp. 5591–5595.

11. Sipe J.D., Benson M.D., Buxbaum J.N., Ikeda S., Merlini G., Saraiva M.J., Westermark P. Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. Amyloid fibril protein nomenclature: 2012 recommendations from the Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid*, 2012, vol. 19, no. 4, pp. 167–170. DOI: 10.3109/13506129.2012.734345.

12. Soscia S.J., Kirby J.E., Washicosky K.J., Tucker S.M., Ingelsson M., Hyman B., Burton M.A., Goldstein L.E., Duong S., Tanzi R.E., Moir R.D. The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 3, p. e9505. DOI: 10.1371/journal.pone.0009505.

VADIM A. KOZLOV – Doctor of Biological Sciences, Candidate of Medical Sciences, Professor of the Department of medical biology with course of Microbiology and Virology, Chuvash state University, Russia, Cheboksary (pooh12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7488-1240>).

SERGEY P. SAPOZHNIKOV – Doctor of Medical Sciences, Head of Department of Medical Biology with course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (adaptagon@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0967-7192>).

PAVEL B. KARYSHEV – Laboratory Assistant, Department of Medical Biology with Course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (pkarmol@mail.ru).

ALENA I. FUFAYEVA – Physician, Department of Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery, Republican Children's Clinical Hospital, Russia, Cheboksary ((priffetik@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4771-7562>).

VERA Yu. ALEXANDROVA – Student of Medical Faculty, Chuvash state University, Russia, Cheboksary (verochka789@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5841-7373>).

YULIA V. VASILYEVA – Student of Medical Faculty, Chuvash state University, Russia, Cheboksary (yulya-cbx@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1503-8645>).

Формат цитирования: Козлов В.А., Сапожников С.П., Карышев П.Б., Фуфаева А.И., Александрова В.Ю., Петрова Ю.В. Тонзилгенный амилоидоз [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 2. – С. 7–16. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/2>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-7-16.

А.Н. КУЗНЕЦОВ, А.Н. БЕЛОВА, М.Г. ВОЛОВИК,
О.В. ВОРОБЬЕВА, М.Е. ХАЛАК**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ СОЦИАЛЬНОГО ВНИМАНИЯ
ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА
МЕТОДОМ АЙТРЕКИНГА
(предварительные результаты)***

Ключевые слова: расстройство аутистического спектра (РАС), аутизм, айтрекинг, стимульный материал, социальное внимание.

Развитие социальных навыков является важнейшим условием абилитации детей, страдающих расстройствами аутистического спектра (РАС). Метод айтрекинга (АТ) открывает большие возможности для изучения социального внимания у этого контингента лиц с ограниченными возможностями. Цель исследования – формирование набора стимульных материалов для динамического АТ-тестирования паттернов движений глаз, чувствительных к изменениям уровня социального внимания, у детей с РАС дошкольного возраста. Подбор стимульного контента включал определение требований к качеству предъявляемых изображений, хранение и кодирование стимулов, разработку порядка процедуры предъявления стимулов, методику обработки АТ-данных. Произведена апробация стимульного материала на группе здоровых лиц взрослого возраста. Разрабатываемый подход к формированию стандартизированного стимульного контента для тестирования социального внимания детей с РАС методом айтрекинга учитывает уровень внимания детей к изображениям, степень отличий результатов АТ, полученных у детей типичного развития и у детей с РАС, а также выраженность динамики АТ показателей при улучшении клинических показателей у детей с РАС.

Актуальность. Расстройства аутистического спектра (РАС) представляют собой группу дезинтегративных нарушений психического развития и характеризуются отсутствием способности человека к социальному взаимодействию и коммуникации [2]. Одним из базовых проявлений РАС является дефицит сенсорно-перцептивной обработки внешних стимулов, который нарушает способность обращать внимание на социальные стимулы и оценивать их значение, точно и быстро реагировать на динамично меняющуюся социально значимую информацию [26]. Нарушение восприятия тонких невербальных сигналов от окружающих, а также проблемы с переключением/концентрацией внимания приводят к тому, что социальное взаимодействие пациентов с РАС становится неэффективным или ошибочным [13]. К внешним признакам нарушения социализации у детей с РАС относятся в том числе слабый зрительный контакт, отсутствие интереса к инициации социальных взаимодействий, отсутствие совместного внимания, нарушение способности к имитации и распознаванию эмоций [14].

Развитие социальных навыков является важнейшим условием абилитации детей с аутизмом и членов их семей [23]. В последние годы происходит активное развитие методов и технологий, позволяющих осуществлять «тренинг социальных навыков» (social skills therapy, англ.) [10], однако нередко новые методы имеют слабую доказательную базу. Поэтому так актуальны

* Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 056-00057-20-02.

исследования, направленные на оценку эффективности социальной абилитации детей с РАС.

В последние годы для оценки социального функционирования при РАС все чаще используют метод айтрекинга (АТ) – технологию регистрации глазодвигательных (окуломоторных) реакций и их характеристик (время фиксации, траектория взгляда и пр.) при рассматривании объектов [1, 11]. С помощью АТ возможно исследовать стратегию визуального восприятия предъявляемых изображений и оценивать функцию внимания к объектам социального характера. Это делает метод ценным вспомогательным инструментом не только для изучения патофизиологии и ранней диагностики РАС [24], но и для контроля эффективности абилитации лиц с аутизмом [25]. Однако в настоящее время отсутствуют стандартизированные сценарии АТ-исследований при РАС, что затрудняет унифицированную оценку результатов использования различных реабилитационных технологий [20, 22]. Стандартизация АТ-технологий, в свою очередь, требует разработки валидных стимульных материалов, позволяющих объективизировать выраженность динамики социальных навыков детей с РАС. Валидизация стимульного контента представляется первоочередной задачей, без решения которой невозможно успешно применять метод АТ в исследованиях РАС.

На базе Университетской клиники ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России в течение нескольких лет проводятся исследования по разработке методик оценки динамики состояния пациентов с РАС детского возраста в процессе комплексной медицинской реабилитации.

Целью настоящего исследования, являющегося фрагментом государственного задания № 056-00057-20-02, было формирование набора стимульных материалов для динамического АТ-тестирования паттернов движений глаз, чувствительных к изменениям уровня социального внимания, у детей с РАС дошкольного возраста (4–7 лет). Задачами первого этапа исследования явились формирование стимульного материала для АТ-тестирования социального внимания (предварительный отбор стимульного контента: определение требований к качеству предъявляемых изображений; хранение и кодирование стимулов; разработка порядка процедуры предъявления стимулов; методика обработки АТ-данных), а также апробация стимульного материала на группе здоровых лиц взрослого возраста.

Формирование стимульного материала для АТ-тестирования социального внимания

Предварительный отбор стимульного контента. Стимульный АТ-материал формируется в соответствии с одной из парадигм, выбор которой определяется задачей исследования. В АТ-исследованиях аутизма наиболее часто используются следующие парадигмы: идентификация лиц; распознавание эмоций по выражению лица; слежение за взглядом другого лица и привлечение внимания другого лица к объекту с помощью собственного взгляда («совместное внимание»); диадическое взаимодействие с участником обследования с использованием юмора; чередование интересных для участника несоциальных изображений и социальных стимулов; натуралистические сцены социальных взаимодействий; парадигма выбора (одновременное представление статичных или движущихся абстрактных фигур на одной половине экрана и изображений людей, занимающихся какой-либо деятельностью, на другой половине) [3–9, 12, 15, 16, 18, 21, 27]. На основе анализа литературных данных, ка-

сающихся изучения социального внимания при аутизме, нами были сформированы 4 блока стимульного материала. Поскольку, согласно литературным данным, качественные характеристики стимула (схематичный черно-белый рисунок/цветной рисунок/фото) не оказывают влияния на эффект, нами были выбраны в качестве оптимальных стимулы в формате фото- (видео-) изображений (наиболее приближенные к реальной действительности).

Блок 1 («эмоции») – исследует зрительную реакцию на эмоциональные проявления человека. Первоначально были отобраны 36 фотографий детей целевого возраста (4–7 лет), выражающих ряд основных эмоций (радость/удивление/страдание/гнев).

Предусмотрены 2 варианта предъявляемых изображений: (1) в кадре помимо человека присутствуют неодушевленные предметы («альтернативный фон») (рис. 1, а) и (2) фото человека расположено на однородном нейтральном фоне, другие одушевленные либо неодушевленные объекты в кадре отсутствуют (рис. 1, в). В подборке имелось не менее двух стимулов каждого варианта (с однородным и с альтернативным фоном).

Блок 2 («взаимодействия») – исследует зрительную активность при наблюдении за взаимодействием одушевленных объектов. Были выбраны 34 сцены социальных взаимодействий и совместной деятельности (животные, люди, человек и животное), а также сцены взаимодействия человека с разным количеством неодушевленных объектов. Люди были выбраны предпочтительно целевого возраста (4–7 лет). В варианте 1 (с однородным фоном) использован естественный природный фон без резко выделяющихся объектов, в варианте 2 (с альтернативным фоном) – на заднем плане присутствуют четко видимые неодушевленные (несоциальные) объекты (транспорт, здания, техника и т.д.). Взаимодействие человека с предметами выступает как альтернативный фон на стимулах с несколькими социальными объектами. В подборке имеются не менее двух стимулов каждого варианта (с однородным и с альтернативным фоном).

Блок 3 («несоциальные стимулы») – содержит статичные изображения геометрических фигур различной сложности, а также экспозиции с изображением неодушевленных объектов (бытовые предметы, здания, автомобили) на однородном фоне и на условно-альтернативном (например, паровоз на фоне гор). Число объектов в кадре варьирует от 1 до 4. Всего первоначально было отобрано 20 фигур и экспозиций.

Блок 4 («прямая речь») – исследует зрительную реакцию на обращение к испытуемому (прямой взгляд и интонирование как приглашение к участию, взаимодействию). Отобрано 8 видеозаписей незнакомой женщины-актрисы, представленной крупным планом, которая обращается к испытуемому жестами и голосом (приветствует, указывает на объекты в кадре, рассказывает о них).

Определение требований к качеству предъявляемых АТ изображений. Качество изображения, его расположение и прочие характеристики стимулов должны учитывать физиологию зрительного восприятия [1]. Нами было подобрано разрешение 1920×1080 (Full HD), формат видео AVI, целевые объекты были легко различимыми и идентифицируемыми. Каждый кадр или видео вставляется в неизменное рабочее поле. При черной окантовке рабочей зоны по периметру уменьшается вероятность отвлечения от монитора. На экране монитора фото целевого объекта занимало не менее 30% площади, видеоизображение – не менее 50%. Время экспозиции фотоизображений составляло 5 с, видеороликов – 5–10 с.

Архивирование файлов и кодирование стимулов. Для удобства архивирования файлов и использования все стимулы классифицированы и закодированы в соответствии с данными таблицы.

Классификация и кодировка стимулов

Block	Emotion [E] Эмоции	Interaction [I] Взаимодействия	Non-social [N] Несоциальные	Speech [S] Прямая речь
Тип [Type]	статика [S]	статика [S]	статика [S]	динамика [D]
Класс [Class]	радость/удивление/ страдание/гнев [A, B, C, D]	животные/человек и животное/люди [A, B, C]	абстрактные фигуры/ бытовые предметы/ транспорт/здания [A, B, C, D]	приветствие/указание на объект в кадре, рассказ [A, B, C]
Численность [num]	1	1/2/3/4+	1/2/3/4+	1,2
Фон [back]	однородный*/альтернативный** [h/a]	однородный/альтернативный [h/a]	однородный/альтернативный [h/a]	однородный [h]

Примечание. * – однородный фон – размытый/однородный или без движущихся и выделяющихся объектов; ** – альтернативный (насыщенный) фон – фон за основными объектом, содержащий альтернативные объекты (не социальные, транспорт, механизмы и т.д.).

Каждый стимул представляет отдельный файл с названием согласно формуле кодировки, которая выглядит следующим образом: Block*Type*Class*num*back-[id]. Например, стимул блока взаимодействия, статичный, включающий взаимодействия 2 животных на однородном фоне (типа саванны) будет обозначаться так: ISA2h-1, где «ISA2m» обозначение вида стимула, а «1» в конце – порядковый номер стимула в рамках вида.

Процедура предъявления АТ стимулов. Разработанная нами процедура АТ-тестирования включала последовательное предъявление испытуемому четырех блоков стимулов, начиная с первого (номера блоков соответствуют последовательности их предъявления), с небольшими переходными вставками между ними в виде яркого видеосюжета (мультфильма) со звуком (мелодия/песенка) для удержания внимания к экрану. В каждом блоке стимулы шли друг за другом, появление очередного стимула всегда предваряется одинаковым коротким звуком.

Методика обработки АТ-данных. Принцип оценки уровня нарушения социального внимания методом АТ основан на сопоставлении степени отклонения паттернов фиксации взгляда пациента и типичных паттернов социальных реакций, полученных в группы нормы (детей типичного развития). Поэтому очень важное значение уделяется методике обработки АТ данных, полученных при просмотре видеоряда.

Для изучения специфики просмотра стимулов и количественного анализа на каждом изображении нами выделялись зоны интереса (Area of Interest – AOI). Стимулы с однородным фоном содержат только социальный объект (человек), который обозначается как AOI 3 (зона интереса 3). Стимулы с альтернативным фоном помимо социального содержат также альтернативный (не социальный) объект, обозначенный как AOI 4 (зона интереса 4). Помимо разделения на социальный объект (человека) и альтернативный объект, на всех стимулах также отмечались зоны глаз (AOI 1) и лица в целом (AOI 2) – как обособленные части зоны AOI 3.

Для каждой из названных зон оценивались следующие параметры: фиксации (количество); время от начала просмотра видеоряда до фиксации взора; время фиксации (суммарное); первая фиксация (сек); возвраты (количество); среднее время фиксации; все фиксации (количество).

Апробация стимульного материала в группе здоровых лиц взрослого возраста являлась важным этапом формирования стимульного АТ-контента, поскольку взрослый человек, в отличие от ребенка, может дать объективную оценку содержательной валидности предъявляемых видеоизображений. Поэтому первоначально отобранные стимулы каждого блока прошли апробацию в группе взрослых здоровых добровольцев, не имеющих когнитивных и психических нарушений (12 человек в возрасте от 21 года до 35 лет, 8 мужчин и 4 женщины).

Оценка содержательной валидности стимулов для отбора оптимального контента осуществлялась на основе анализа зрительной активности испытуемого во время АТ-теста и самоотчета испытуемого (рис. 1).



Рис. 1. Примеры изображений с разными вариантами фона из блока 1 («Эмоции») и сводная карта оculoмоторных реакций по 12 испытуемым.
а, б – эмоция: радость (альтернативный фон); в, г – эмоция: радость (однородный фон);
а, в – зоны интереса (AOI); б, г – трекинг и фокусировки

После прохождения АТ-теста все испытуемые проходили опрос, в котором должны были описать степень своего понимания каждого изображения и субъективные ощущения от просмотра. Например, для блока «Эмоции» испытуемым предлагалось еще раз последовательно просмотреть стимулы и ответить на вопрос «Какая эмоция здесь изображена?». Ответы испытуемых регистрировались. После просмотра остальных блоков испытуемых также просили еще раз просмотреть стимулы и оценить степень понятности изо-

бражения («да» – понятно, «нет» – непонятно). Кроме того, испытуемых просили сообщать о возникновении неприятных ощущений при просмотре (из-за визуальных особенностей изображения или личных ассоциаций). Негативные отзывы регистрировались отдельно по каждому стимулу.

По полученным АТ-данным построены диаграммы для однородного и альтернативного фона (рис. 2) по показателям «Фиксации и возвраты», «Количество фиксаций», «Временные показатели» и «Время фиксации». Диаграммы позволяют произвести сравнение окуломоторных характеристик при просмотре картинок с разными вариантами фона (однородным и альтернативным).

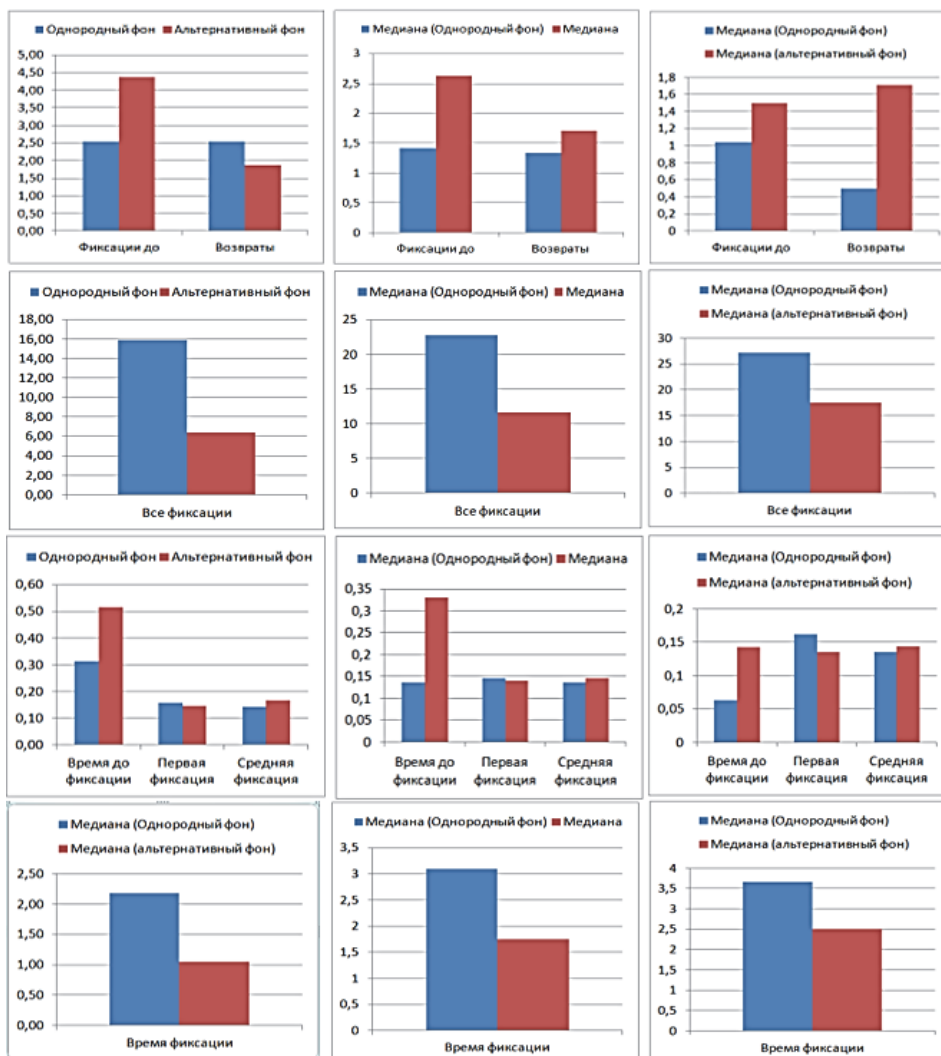


Рис. 2. Сравнение окулографических показателей зон социального внимания на стимульных изображениях с однородным и альтернативным вариантами фона. Верхний ряд – фиксации и возвраты. Второй ряд – количество фиксаций. Третий ряд – временные показатели. Нижний ряд – время фиксации. Левая колонка – лицо. Средняя колонка – глаза. Правая колонка – социальный объект

По результатам апробации стимульного АТ материала у взрослых лицами были отобраны те стимулы, в ответ на предъявление которых испытуемые правильно называли эмоцию или близкое к ней состояние. Кроме того, из набора стимульного материала были удалены стимулы, получившие критические замечания от испытуемых в отношении их качества или неприятного психологического воздействия.

После коррекции общее число предъявляемых стимулов сократилось до 50, общая продолжительность тестирования составила 4 мин 30 с, что вполне приемлемо для детей с РАС [17, 19]. В дальнейшем мы предполагаем по результатам апробации на группе детей с РАС сократить итоговое число стимулов до 30–35, чтобы длительность процедуры тестирования уменьшилась до 3–4 мин.

Кроме того, у здоровых взрослых людей получены достоверные различия показателей фиксации взора при предъявлении социальных стимулов на однородном и на альтернативном фоне. Например, изображенные на рис. 1, а считается альтернативным, поскольку зонтик на нем представляет собой крупный и четкий различимый несоциальный объект. На изображении, представленном на рис. 1, в, фон размыт, альтернативных объектов нет (однородный фон). Трекинг (рис. 1, б, в) демонстрирует, что на зоне зонтике фокусировали взгляд все испытуемые. В то же время при использовании однородного фона лишь 3 испытуемых из 12 смотрели мимо лица, представленного на фото, причем делали это без четкой фокусировки взгляда (рис. 1, в). Достоверные различия ($p = 0,03$), согласно критерию Манна–Уитни, получены для следующих АТ показателей: среднее время фиксации на области лица; количество фиксаций на области лица; суммарное время фиксации на социальном объекте; количество возвратов к социальному объекту; количество фиксаций на социальном объекте.

Таким образом, нам удалось доказать, что предъявление фотографий людей, демонстрирующих различные эмоции, с использованием однородного и альтернативного фона, не уступает по своей информативности «классическому» варианту, когда на экране монитора испытуемому одновременно предъявляются два окна, в одном из которых размещены социальные стимулы, во втором – несоциальные [28].

Выводы. Нами сформирован набор стимульного материала для динамического АТ-тестирования паттернов движений глаз, который, предположительно, будет чувствительным к изменениям уровня социального внимания у детей с РАС. На следующем этапе нашего исследования планируется апробация сформированного контента в группах детей типичного развития и детей с РАС, по результатам которой будет произведен итоговый отбор наиболее эффективных стимулов. В процессе дальнейшего отбора сценариев будет учитываться уровень внимания детей к изображениям, степень отличий результатов АТ, полученных у детей типичного развития, и у детей с РАС, а также выраженность динамики АТ показателей при улучшении клинических показателей у детей с РАС. Для определения валидности, чувствительности и надежности методики АТ планируется использование полуструктурированных опросников и тестов, которые применяются при оценке состояния детей с РАС.

Литература

1. Барабанщиков В.А., Жезалло А.В. Айттрекинг: методы регистрации движений глаз в психологических исследованиях и практике. М.: Когито-Центр, 2014. 126 с.

2. Симашкова Н.В., Макушкин Е.В. Расстройства аутистического спектра: диагностика, лечение, наблюдение. Клинические рекомендации (протокол лечения) / Российское общество психиатров. М., 2015. 50 с.
3. Aresti-Bartolome N., Garcia-Zapirain B. Cognitive rehabilitation system for children with autism spectrum disorder using serious games: A pilot study. *Biomed. Mater. Eng.*, 2015, vol. 26, suppl. 1, pp. S811-S824. DOI: <https://doi.org/10.3233/BME-151373>.
4. Avni I., Meiri G., Bar-Sinai A. et al. Children with autism observe social interactions in an idiosyncratic manner. *Autism Res.*, 2020, vol. 13(6), pp. 935–946. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.2234>.
5. Bacon E.C., Courchesne E., Barnes C.C. et al. Rethinking the idea of late autism spectrum disorder onset. *Dev. Psychopathol.*, 2018, vol. 30(2), pp. 553–569. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954579417001067>.
6. Bird G., Press C., Richardson D.C. The role of alexithymia in reduced eye-fixation in autism spectrum conditions. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2011, vol. 41(11), pp. 1556–1564. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-011-1183-3>.
7. Chawarska K., Macari S., Shic F. Context modulates attention to social scenes in toddlers with autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 2012, vol. 53(8), pp. 903–913. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2012.02538.x>.
8. Chita-Tegmark M. Social attention in ASD: A review and meta-analysis of eye-tracking studies. *Res. Dev. Disabil.*, 2016, vol. 48, pp. 79–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2015.10.011>.
9. Dawson G., Sun J.M., Davlantis K.S. et al. Autologous cord blood infusions are safe and feasible in young children with autism spectrum disorder: results of a single-center phase I open-label trial. *Stem Cells Transl. Med.*, 2017, vol. 6(5), pp. 1332–1339. DOI: <https://doi.org/10.1002/sctm.16-0474>.
10. DiPietro J., Kelemen A., Liang Y., Sik-Lanyi C. Computer- and Robot-Assisted Therapies to Aid Social and Intellectual Functioning of Children with Autism Spectrum Disorder. *Medicina (Kaunas)*, 2019, vol. 55(8), p. 440. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina55080440>.
11. Duchowski A.T. *Eye Tracking Methodology: Theory and Practice*, 3rd ed. Clemson, Clemson University, 2017, 418 p.
12. Fletcher-Watson S., Leekam S.R., Benson V. et al. Eye-movements reveal attention to social information in autism spectrum disorder. *Neuropsychologia*, 2009, vol. 47(1), pp. 248–257.
13. Frazier T.W., Strauss M., Klingemier E.W. et al. A Meta-Analysis of Gaze Differences to Social and Nonsocial Information between Individuals with and without Autism. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*, 2017, vol. 56(7), pp. 546–555. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2017.05.005>.
14. Frye R.E. Social Skills Deficits in Autism Spectrum Disorder: Potential Biological Origins and Progress in Developing Therapeutic Agents. *CNS Drugs*, 2018, vol. 32(8), pp. 713–734. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40263-018-0556-y>.
15. Guimard-Brunault M., Hernandez N., Roché L. et al. Back to basic: do children with autism spontaneously look at screen displaying a face or an object? *Autism Res. Treat.*, 2013, vol. 2013, 835247. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/835247>.
16. Hanley M., McPhillips M., Mulhern G., Riby D.M. Spontaneous attention to faces in Asperger syndrome using ecologically valid static stimuli. *Autism.*, 2013, vol. 17(6), pp. 754–761. DOI: <https://doi.org/10.1177/1362361312456746>.
17. Hendry A., Jones E.J.H., Bedford R. et al. Developmental change in look durations predicts later effortful control in toddlers at familial risk for ASD. *J. Neurodev. Disord.*, 2018, vol. 10(1), p. 3. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11689-017-9219-4>.
18. Klin A., Lin D.J., Gorrindo P. et al. Two-year-olds with autism orient to non-social contingencies rather than biological motion. *Nature*, 2009, vol. 459(7244), pp. 257–261. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature07868>.
19. Kou J., Le J., Fu M., Lan C., Chen Z., Li Q., Zhao W., Xu L., Becker B., Kendrick K.M. Comparison of three different eye-tracking tasks for distinguishing autistic from typically developing children and autistic symptom severity. *Autism Res.*, 2019, vol. 12(10), pp. 1529–1540. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.2174>.
20. McPartland J.C., Bernier R.A., Jeste S.S. et al. The Autism Biomarkers Consortium for Clinical Trials (ABC-CT): Scientific Context, Study Design, and Progress Toward Biomarker Qualification. *Front. Integr. Neurosci.*, 2020, vol. 14, p. 16. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnint.2020.00016>.
21. Nadig A., Lee I., Singh L. et al. How does the topic of conversation affect verbal exchange and eye gaze? A comparison between typical development and high-functioning autism. *Neuropsychologia*, 2010, vol. 48(9), pp. 2730–2739. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2010.05.020>.
22. Ness S.L., Manyakov N.V., Bangarter A. et al. JAKE® Multimodal Data Capture System: Insights from an Observational Study of Autism Spectrum Disorder. *Front. Neurosci.*, 2017, vol. 11, p. 517. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00517>.
23. Pennisi P., Tonacci A., Tartarisco G., Billeci L., Ruta L., Gangemi S., Pioggia G. Autism and Social Robotics: A Systematic Review. *Autism Res.*, 2016, vol. 9, pp. 165–183.

24. Richey J.A., Damiano C.R., Sabatino A. et al. Neural Mechanisms of Emotion Regulation in Autism Spectrum Disorder. *J. Autism Dev. Disord.*, 2015, vol. 45(11), pp. 3409–3423. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-015-2359-z>.

25. Strobl M.A.R., Lipsmeier F., Demenescu L.R., Gossens C., Lindemann M., De Vos M. Look me in the eye: evaluating the accuracy of smartphone-based eye tracking for potential application in autism spectrum disorder research. *Biomed. Eng. Online.*, 2019, vol. 18(1), p. 51. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12938-019-0670-1>.

26. Tsang V., Chu P.C.K. Comparing Eye-tracking Data of Children with High-functioning ASD, Comorbid ADHD, and of a Control Watching Social Videos. *J. Vis. Exp.*, 2018, no. 142. DOI: [10.3791/58694](https://doi.org/10.3791/58694). <https://doi.org/10.3791/58694>.

27. Stagg S.D., Linnell K.J., Heaton P. Investigating eye movement patterns, language, and social ability in children with autism spectrum disorder. *Development and Psychopathology*, 2014, no. 26(02), pp. 529–537.

28. Wang Q., Chang J., Chawarska K. Atypical Value-Driven Selective Attention in Young Children with Autism Spectrum Disorder. *JAMA Netw Open.*, 2020, vol. 3(5), e204928. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.4928>.

КУЗНЕЦОВ АЛЕКСЕЙ НИКОЛАЕВИЧ – младший научный сотрудник отделения функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (metall.sy@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1889-1297>).

БЕЛОВА АННА НАУМОВНА – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (anbelova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9719-6772>).

ВОЛОВИК МИХАИЛ ГРИГОРЬЕВИЧ – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отделения функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (afanassy@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3230-6990>).

ВОРОБЬЕВА ОЛЬГА ВИКТОРОВНА – младший научный сотрудник отделения функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (olgushka1@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7225-8842>).

ХАЛАК МАРИЯ ЕВГЕНЬЕВНА – кандидат психологических наук, ассистент кафедры общей и клинической психологии, психолог университетского центра психологии и развития детей, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (m-e-h@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1897-8894>).

Alexey N. Kuznetsov, Anna N. Belova, Mikhail G. Volovik, Olga V. Vorob'eva, Maria E. Khalak

DEVELOPMENT OF THE METHODOLOGY FOR STUDYING THE SOCIAL ATTENTION OF CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS BY THE EYE TRACKING METHOD (preliminary results)

Key words: *autism spectrum disorder (ASD), autism, eye tracking, stimulus material, social attention.*

Development of social skills is an essential condition for the habilitation of children suffering from autism spectrum disorders (ASD). The method of eye tracking (ET) opens up great opportunities for studying social attention in this contingent of people with disabilities. The aim of the study is to form a set of stimulus materials for dynamic ET-testing of eye movement patterns that are sensitive to changes in the level of social attention in preschool-age children with ASD. The selection of stimulus content included the definition of requirements for the quality of the images presented, storage and encoding of stimuli, the development of the procedure for presenting stimuli and the methodology for processing the ET-data. The stimulus material was tested on a group of healthy adults. The developed approach to the formation of standardized stimulus content for testing the social attention of children with ASD by the eye tracking method takes into account the level of children's attention to images, the degree of differences in the results of ET obtained in children of typical development and in children with ASD, as well as the intensity of the dynamics in ET indicators in improvement of clinical indicators in children with ASD.

References

1. Barabanshchikov V.A., Zhegallo A.V. *Aytreking: metody registratsii dvizheny glaz v psikhologicheskikh issledovaniyakh i praktike* [Eye tracking: methods of registering eye movements in psychological research and practice]. Moscow, Kogito-Tsentr Publ., 2014, 126 p.
2. Simashkova N.V., Makushkin Ye.V. *Rasstroystva autisticheskogo spektra: diagnostika, lecheniye, nablyudeniye. Klinicheskiye rekomendatsii (protokol lecheniya)* [Autism spectrum disorders: diagnosis, treatment, observation. Clinical recommendations (treatment protocol)]. Moscow, 50 p.
3. Aresti-Bartolome N., Garcia-Zapirain B. Cognitive rehabilitation system for children with autism spectrum disorder using serious games: A pilot study. *Biomed. Mater. Eng.*, 2015, vol. 26, suppl. 1, pp. S811-S824. DOI: <https://doi.org/10.3233/BME-151373>.
4. Avni I., Meiri G., Bar-Sinai A. et al. Children with autism observe social interactions in an idiosyncratic manner. *Autism Res.*, 2020, vol. 13(6), pp. 935–946. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.2234>.
5. Bacon E.C., Courchesne E., Barnes C.C. et al. Rethinking the idea of late autism spectrum disorder onset. *Dev. Psychopathol.*, 2018, vol. 30(2), pp. 553–569. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954579417001067>.
6. Bird G., Press C., Richardson D.C. The role of alexithymia in reduced eye-fixation in autism spectrum conditions. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2011, vol. 41(11), pp. 1556–1564. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-011-1183-3>.
7. Chawarska K., Macari S., Shic F. Context modulates attention to social scenes in toddlers with autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 2012, vol. 53(8), pp. 903–913. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2012.02538.x>.
8. Chita-Tegmark M. Social attention in ASD: A review and meta-analysis of eye-tracking studies. *Res. Disabil.*, 2016, vol. 48, pp. 79–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2015.10.011>.
9. Dawson G., Sun J.M., Davlantis K.S. et al. Autologous cord blood infusions are safe and feasible in young children with autism spectrum disorder: results of a single-center phase I open-label trial. *Stem Cells Transl. Med.*, 2017, vol. 6(5), pp. 1332–1339. DOI: <https://doi.org/10.1002/sctm.16-0474>.
10. DiPietro J., Kelemen A., Liang Y., Sik-Lanyi C. Computer- and Robot-Assisted Therapies to Aid Social and Intellectual Functioning of Children with Autism Spectrum Disorder. *Medicina (Kaunas)*, 2019, vol. 55(8), p. 440. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina55080440>.
11. Duchowski A.T. *Eye Tracking Methodology: Theory and Practice*, 3rd ed. Clemson, Clemson University, 2017, 418 p.
12. Fletcher-Watson S., Leekam S.R., Benson V. et al. Eye-movements reveal attention to social information in autism spectrum disorder. *Neuropsychologia*, 2009, vol. 47(1), pp. 248–257.
13. Frazier T.W., Strauss M., Klingemier E.W. et al. A Meta-Analysis of Gaze Differences to Social and Nonsocial Information between Individuals with and without Autism. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*, 2017, vol. 56(7), pp. 546–555. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2017.05.005>.
14. Frye R.E. Social Skills Deficits in Autism Spectrum Disorder: Potential Biological Origins and Progress in Developing Therapeutic Agents. *CNS Drugs*, 2018, vol. 32(8), pp. 713–734. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40263-018-0556-y>.
15. Guimard-Brunault M., Hernandez N., Roché L. et al. Back to basic: do children with autism spontaneously look at screen displaying a face or an object? *Autism Res. Treat.*, 2013, vol. 2013, 835247. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/835247>.
16. Hanley M., McPhillips M., Mulhern G., Riby D.M. Spontaneous attention to faces in Asperger syndrome using ecologically valid static stimuli. *Autism*, 2013, vol. 17(6), pp. 754–761. DOI: <https://doi.org/10.1177/1362361312456746>.
17. Hendry A., Jones E.J.H., Bedford R. et al. Developmental change in look durations predicts later effortful control in toddlers at familial risk for ASD. *J. Neurodev. Disord.*, 2018, vol. 10(1), p. 3. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11689-017-9219-4>.
18. Klin A., Lin D.J., Gorrindo P. et al. Two-year-olds with autism orient to non-social contingencies rather than biological motion. *Nature*, 2009, vol. 459(7244), pp. 257–261. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature07868>.
19. Kou J., Le J., Fu M., Lan C., Chen Z., Li Q., Zhao W., Xu L., Becker B., Kendrick K.M. Comparison of three different eye-tracking tasks for distinguishing autistic from typically developing children and autistic symptom severity. *Autism Res.*, 2019, vol. 12(10), pp. 1529–1540. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.2174>.
20. McPartland J.C., Bernier R.A., Jeste S.S. et al. The Autism Biomarkers Consortium for Clinical Trials (ABC-CT): Scientific Context, Study Design, and Progress Toward Biomarker Qualification. *Front. Integr. Neurosci.*, 2020, vol. 14, p. 16. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmint.2020.00016>.
21. Nadig A., Lee I., Singh L. et al. How does the topic of conversation affect verbal exchange and eye gaze? A comparison between typical development and high-functioning autism. *Neuropsychologia*, 2010, vol. 48(9), pp. 2730–2739. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2010.05.020>.

22. Ness S.L., Manyakov N.V., Bangerter A. et al. JAKE® Multimodal Data Capture System: Insights from an Observational Study of Autism Spectrum Disorder. *Front. Neurosci.*, 2017, vol. 11, p. 517. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00517>.
23. Pennisi P., Tonacci A., Tartarisco G., Billeci L., Ruta L., Gangemi S., Pioggia G. Autism and Social Robotics: A Systematic Review. *Autism Res.*, 2016, vol. 9, pp. 165–183.
24. Richey J.A., Damiano C.R., Sabatino A. et al. Neural Mechanisms of Emotion Regulation in Autism Spectrum Disorder. *J. Autism Dev. Disord.*, 2015, vol. 45(11), pp. 3409–3423. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10803-015-2359-z>.
25. Strobl M.A.R., Lipsmeier F., Demenescu L.R., Gossens C., Lindemann M., De Vos M. Look me in the eye: evaluating the accuracy of smartphone-based eye tracking for potential application in autism spectrum disorder research. *Biomed. Eng. Online.*, 2019, vol. 18(1), p. 51. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12938-019-0670-1>.
26. Tsang V., Chu P.C.K. Comparing Eye-tracking Data of Children with High-functioning ASD, Comorbid ADHD, and of a Control Watching Social Videos. *J. Vis. Exp.*, 2018, no. 142. DOI: [10.3791/58694](https://doi.org/10.3791/58694).
27. Stagg S.D., Linnell K.J., Heaton P. Investigating eye movement patterns, language, and social ability in children with autism spectrum disorder. *Development and Psychopathology*, 2014, no. 26(02), pp. 529–537.
28. Wang Q., Chang J., Chawarska K. Atypical Value-Driven Selective Attention in Young Children with Autism Spectrum Disorder. *JAMA Netw Open.*, 2020, vol. 3(5), e204928. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.4928>.

ALEXEY N. KUZNETSOV – Minor Researcher of Departments of Functional Diagnostics, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (metall.sy@mail.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1889-1297>).

ANNA N. BELOVA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Departments of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (anelova@mail.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9719-6772>).

MIKHAIL G. VOLOVIK – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of Departments of Functional Diagnostics, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (afanassy@mail.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3230-6990>).

OLGA V. VOROB'EVA – Minor Researcher of Departments of Functional Diagnostics, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (olgyska1@yandex.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7225-8842>).

Khalak Maria E. – Candidate of Psychological Sciences, Assistant Lecturer, Department of General and Clinical Psychology, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (m-e-h@yandex.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1897-8894>).

Формат цитирования: Кузнецов А.Н., Белова А.Н., Воловик М.Г., Воробьева О.В., Халак М.Е. Разработка методики исследования социального внимания детей с расстройствами аутистического спектра методом Айтрекинга (предварительные результаты) [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica.* – 2021. – № 2. – С. 17–27. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/3>. DOI: [10.47026/2413-4864-2021-2-17-27](https://doi.org/10.47026/2413-4864-2021-2-17-27).

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛИКВИРИТИГЕНИНА НА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ HEL4, PC-3, MCF-7

Ключевые слова: изоликивиритигенин, флавоноид, халкон, противоопухолевая активность, антипролиферативная активность, линии опухолевых клеток.

В 2020 г. наиболее распространенным видом злокачественных новообразований явился рак молочной железы. По данным ВОЗ, в 2020 г. на данный вид рака пришелся каждый восьмой новый случай рака в мире и каждый четвертый – среди женщин: это заболевание диагностировали у 2,3 млн. Одним из факторов, влияющих на высокий уровень смертности среди пациентов с данным диагнозом, является повышение уровня резистентности опухолевых клеток к используемым химиотерапевтическим препаратам, поэтому на сегодняшний день крайне актуален поиск новых препаратов, обладающих высокой специфичностью в отношении злокачественных новообразований, низкой токсичностью и доступностью для пациентов. В связи с этим большое внимание исследователей привлекают соединения природного происхождения, в частности группа флавоноидов, к которой относится изоликивиритигенин. По результатам современных исследований данное соединение может обладать противоопухолевой активностью *in vitro* и *in vivo*, воздействуя на молекулярные механизмы регуляции роста и выживания опухолевых клеток. Целью настоящей статьи явилось изучение противоопухолевой антипролиферативной активности изоликивиритигенина на линиях опухолевых клеток HeLa, PC-3, MCF-7 *in vitro*. Оценка антипролиферативной активности осуществлялась с помощью МТТ-теста с экспозицией клеток с исследуемым соединением в течение 72 ч. В результате исследования изоликивиритигенин показал дозозависимый антипролиферативный эффект на человеческих опухолевых линиях PC-3, MCF-7 в диапазоне концентраций 10^{-4} – $2,5 \times 10^{-5}$ моль/л.

Актуальность. Злокачественные новообразования являются одной из основных причин смерти в мире. Так, в 2020 г. от различных злокачественных опухолей умерли около 10 млн человек. Во всем мире уровень летальности от рака молочной железы характеризуется крайне высокими показателями: в 2020 г. этот показатель составил 685 000 случаев [4]. Кроме того, среди наиболее распространенных видов рака (по количеству новых случаев) ВОЗ констатировал в 2020 г. рак молочной железы (2,26 млн случаев) и рак предстательной железы (1,41 млн случаев), что подтверждает актуальность разработки более активных методов профилактики и лечения злокачественных новообразований.

На сегодняшний день в схемах противоопухолевой фармакотерапии наряду с цитотоксическими противоопухолевыми химиотерапевтическими средствами (классические цитостатики) используют таргетные лекарственные препараты. Таргетные препараты – это лекарства, нацеленные в опухолевых клетках на определенные молекулярные мишени, которые отвечают за их рост и прогрессирование. По сравнению с классическими цитостатиками таргетные препараты характеризуются меньшей гематотоксичностью, но, к сожалению, они также имеют свои недостатки, такие как специфическая токсичность, необходимость выявления диагностических маркеров эффек-

тивности у конкретного больного, а также высокая стоимость курса терапии большинства биотехнологических противоопухолевых таргетных средств.

Поиски эффективных, безопасных и экономически выгодных таргетных препаратов активно продолжаются. В последнее время внимание исследователей обращено на группы полифенолов растительного происхождения. Одним из таковых является халкон изоликвиригенин (20,40,4-тригидроксиалкон), обладающий разнообразной биологической активностью и потенциальными механизмами воздействия на ключевые молекулы, играющие роль в росте и выживании опухолевых клеток [1, 2]. Настоящее исследование посвящено изучению эффектов изоликвиригенина (ИЛГ), его цель – оценка противоопухолевой активности ИЛГ на различных линиях человеческих опухолевых клеток.

Материалы и методы исследования

Тестируемый агент. В данном исследовании изучали антипролиферативную активность ИЛГ (Xi'An Yiyang Bio-Tech Co, Китай). Для этого ИЛГ растворяли в диметилсульфоксиде (Panreac, Испания), матричные растворы хранили при комнатной температуре в темноте. ИЛГ тестировали *in vitro* в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-6} моль/л, добавляя в контрольные лунки соответствующие объемы растворителя так, чтобы конечная концентрация диметилсульфоксида не превышала 1%.

Опухолевые клетки. Эксперименты проведены на линиях опухолевых клеток (таблица), любезно предоставленных научными сотрудниками Научно-образовательного центра фармацевтики (руководитель – профессор Ю.Г. Штырлин, Казань).

Характеристика опухолевых линий

Наименование	Происхождение	Клеточная морфология	Характеристика роста
HeLa (ATCC® CCL-2™)	аденокарцинома шейки матки	эпителиальные клетки	адгезирующая к подложке
PC-3(ATCC® CRL-1435™)	рак предстательной железы	эпителиальные клетки	адгезирующая к подложке
MCF-7(ATCC® HTB-22™)	рак молочной железы	эпителиальные клетки	адгезирующая к подложке

Культивирование опухолевых клеток. Опухолевые линии растили в пластиковых флаконах для клеточных культур (Corning Costar, США), используя питательную среду RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% телячьей сыворотки (ПанЭко, Россия), глутамина и антибиотиков (100 Ед/мл пенициллина и 100 Ед/мл стрептомицина) при температуре 37°C, 5% CO₂, 100% влажности. При достижении монослоя клеток на дне флакона производилось пассирование клеток (1 раз в 3-4 дня) с использованием раствора трипсина (0,25%)-ЭДТА (ПанЭко, Россия), что приводило к «отлипанию» клеток со дна флакона и переходу их в суспензию. Все этапы проводились в условиях стерильного ламинарного потока (Lamsystems, Россия).

Подсчет абсолютного количества клеток. Для подсчета абсолютного числа клеток использовались камера Горяева и световой микроскоп (Микромед-1, Россия) с применением общепринятой стандартной методики. Для проведения эксперимента после подсчета клетки засеивали в концентрации 10^4 на 1 лунку.

МТТ-тест. Оценка противоопухолевой активности ИЛГ проводилась МТТ-методом [2]. Клетки высевали в 96-луночные плоскодонные планшеты (Corning Costar, США) в концентрации 10^4 клеток в 200 мкл суспензии на лунку, через 24 ч инкубирования в термостате вносили различные концентрации ИЛГ, по 3 лунки на каждую концентрацию. Клетки культивировали в присутствии ИЛГ в течение 72 ч. После этого за 4 ч до окончания инкубации в лунки вносили 20 мкл раствора МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (Sigma, США)) с концентрацией 5 мг/мл. По истечении времени автоматической пипеткой отбирали содержимое лунок и добавляли в каждую 100 мкл ДМСО. Заключительным этапом данного метода являлась оценка результатов с помощью измерения оптической плотности на ИФА-ридере при длине волны 492 нм (Immunochem 2100, США). Подсчитывали долю жизнеспособных клеток в процентах к контролю.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью пакета анализа данных программного обеспечения «Microsoft Excel 2018» путем подсчета средней арифметической (M) и средней ошибки средней арифметической (m). Для оценки достоверных различий использовали t -критерий Стьюдента, разницу считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Данная работа посвящена исследованию противоопухолевой активности ИЛГ по отношению к опухолевым клеткам *in vitro*. Противоопухолевый эффект ИЛГ изучался в отношении человеческих опухолевых линий эпителиального происхождения: HeLa, PC-3, MCF-7 в МТТ-тесте. На рис. 1–3 представлены гистограммы зависимости доли жизнеспособных клеток после 72 ч экспозиции опухолевой линии HeLa, PC-3, MCF-7 с различными концентрациями ИЛГ. Жизнеспособность клеток выражена в процентах к контрольным значениям. Уровень жизнеспособных «контрольных» клеток, не обработанных препаратом, соответствует горизонтальной линии на уровне 100% по оси ординат.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что выраженность противоопухолевого ростиингибирующего эффекта ИЛГ проявлялась в разной степени. В отношении опухолевой линии HeLa в концентрации ИЛГ 10^{-4} моль/л отмечался максимальный эффект (рис. 1), который выражался в уменьшении доли жизнеспособных клеток в сравнении с контролем на 38% ($p < 0,05$), в концентрациях $2,5 \times 10^{-5}$ – 5×10^{-5} моль/л наблюдалась статистически незначимая тенденция к ингибированию роста опухолевых клеток на 8–9%, в концентрациях 10^{-5} – 10^{-6} моль/л данный эффект не отличался от контрольных значений.

По данным литературы, предполагаемый механизм антипролиферативного действия ИЛГ в отношении клеток аденокарциномы шейки матки может быть связан с индукцией апоптоза и остановкой роста опухолевых клеток в S или G2/M фазах клеточного цикла [8]. Молекулярные механизмы действия ИЛГ коррелировали со снижением экспрессии белка Bcl2 и повышением экспрессии каспаз. ИЛГ также индуцировал другие пути апоптоза в раковых клетках HeLa за счет увеличения генерации активных форм кислорода [4–6].

Результаты исследований в отношении опухолевой линии PC-3 свидетельствуют о том, что ИЛГ подавляет пролиферацию в концентрациях 10^{-4} – $2,5 \times 10^{-5}$ моль/л дозозависимо на 37%, 28% и 15%, соответственно, ($p < 0,05$) в сравнении с контрольными значениями (рис. 2). В концентрациях 10^{-5} – 5×10^{-5} моль/л была только лишь недостоверная тенденция к ростиингибирующей активности ИЛГ по отношению к опухолевым клеткам рака простаты *in vitro* на 13%, 27% и 2%, соответственно, в концентрациях 10^{-6} моль/л данный эффект не проявлялся.

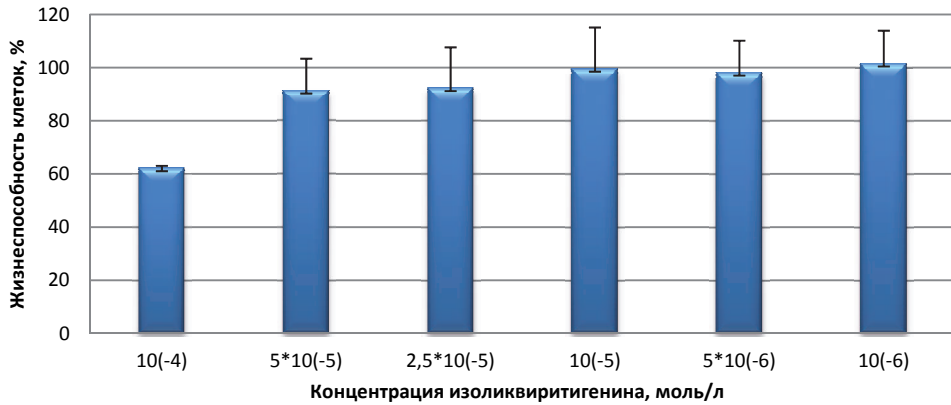


Рис. 1. Влияние изоликвиригенина на жизнеспособность клеток опухолевой линии Hela

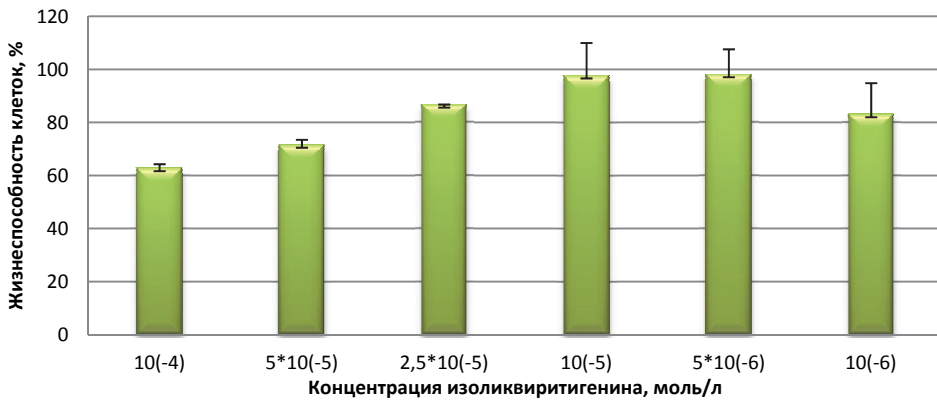


Рис. 2. Влияние изоликвиригенина на жизнеспособность клеток опухолевой линии PC-3

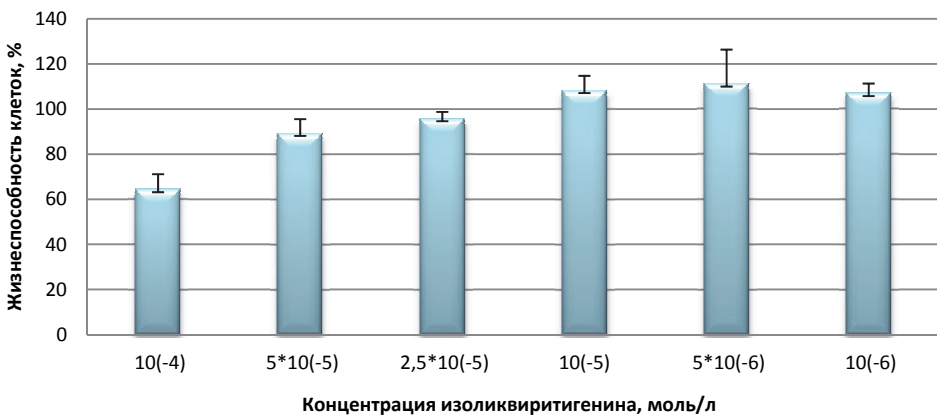


Рис. 3. Влияние изоликвиригенина на жизнеспособность клеток опухолевой линии PC-3

Исследование ИЛГ в отношении клеток рака молочной железы (опухолевая линия MCF-7) показало достоверный дозозависимый антипролиферативный эффект ИЛГ в концентрациях 10^{-4} – 5×10^{-5} моль/л, который составил 36% и 11%, соответственно, ($p < 0,05$) к контрольным значениям (рис. 3). В концентрации $2,5 \times 10^{-5}$ моль/л наблюдалась незначительная тенденция (4%) к антипролиферативной активности, в концентрациях 5×10^{-6} – 10^{-6} моль/л данный эффект практически не выражен.

По данным литературы, механизм действия ИЛГ в отношении клеток рака молочной железы может быть связан также с ингибированием роста, подавлением пролиферации клеток, индукцией апоптоза и аутофагии. Продемонстрировано, что ИЛГ ингибирует в клетках рака предстательной железы ключевые молекулы PI3K/AKT-сигнального пути, а также изменяет экспрессию p62/каспаза-8 [7].

Таким образом, полученные в ходе исследования данные и анализ современной научной литературы позволяют с уверенностью сказать, что изоликирителигенин потенциально может являться дополнением к традиционной химиотерапии или использоваться в качестве таргетного химиотерапевтического средства против различных видов рака, однако это требует дальнейших как фундаментальных, так и клинических исследований.

Выводы. 1. В экспериментальных моделях *in vitro* с использованием человеческих опухолевых линий клеток рака предстательной железы и молочной железы, PC-3 и MCF-7, соответственно, изоликирителигенин обладал дозозависимой ростингибирующей активностью в диапазоне концентраций 10^{-4} – $2,5 \times 10^{-5}$ моль/л.

2. В результате исследования было выявлено, что в отношении линии клеток аденокарциномы шейки матки Hela изоликирителигенин обладал ростингибирующей активностью в концентрации 10^{-4} моль/л.

3. Концентрация ингибирующая рост опухолевых клеток на 50% составила более 10^{-4} моль/л для опухолевых линий Hela, PC-3 и MCF-7.

Литература

1. Белицкий Г.А., Курсанов К.И., Лесовая Е.А., Якубовская М.Г. Механизмы антиканцерогенного действия флавоноидов // Успехи молекулярной онкологии. 2014. № 1(1). С. 56–68.
2. Павлова С.И. Исследование экстракта корня солодки для повышения эффективности терапии злокачественных новообразований: дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. 106 с.
3. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / под ред. Ю.С. Тараховского, Ю.А. Ким, Б.С. Абдрасилова, Е.Н. Музафарова. Пушино: Synchronbook, 2013. 310 с.
4. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñeros M. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2020. Available at: <https://gco.iarc.fr/today>.
5. Mather J.P., Roberts P.E. Introduction to cell and tissue culture. Theory and technique. New York, Plenum Press, 1998, pp. 175–194.
6. Peng F., Du Q., Peng C., Wang N., Tang H., Xie X., Shen J., Chen J. A review: the pharmacology of isoliquiritigenin. *Phytotherapy Research*, 2015, no. 29, pp. 969–977.
7. Tian T., Sun J., Wang J., Liu Y., Liu H. Isoliquiritigenin inhibits cell proliferation and migration through the PI3K/AKT signaling pathway in A549 lung cancer cells. *Oncology letters*, 2018, vol. 16(5), pp. 6133–6139.
8. Wang K.L., Yu Y.C., Hsia S.M. Perspectives on the Role of Isoliquiritigenin in Cancer. *Cancers (Basel)*, 2021, vol. 13(1), p. 115. DOI: 10.3390/cancers13010115.

БОРТНИКОВА ОЛЬГА АЛЕКСАНДРОВНА – ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (stolga2502@mail.ru).

ПАВЛОВА СВЕТЛАНА ИВАНОВНА – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (flavonoid@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9976-7866>).

Olga A. BORTNIKOVA, Svetlana I. PAVLOVA

STUDY OF THE ANTITUMOR ACTIVITY OF ISOLIQURITIGENIN ON THE HELA, PC3, AND MCF-7 TUMOR CELL LINES

Key words: *isoliquiritigenin, flavonoid, chalcon, antitumor activity, antiproliferative activity, tumor cells lines.*

In 2020, the most common type of malignancy was breast cancer. According to WHO, in 2020, this type of cancer accounted for one in eight new cases of cancer in the world and one in four – among women: this disease was diagnosed in 2.3 million people. One of the factors influencing a high mortality rate among patients with this diagnosis can be attributed to an increase in the level of tumor cells resistance to the chemotherapeutic preparations used, so today it is extremely important to search for new preparations that have high specificity for malignant neoplasms, low toxicity and availability for patients. In this regard, a lot of researchers' attention is attracted by compounds of natural origin, in particular the group of flavonoids, which includes isoliquiritigenin. According to the results of modern studies, this compound can have antitumor activity in vitro and in vivo, affecting the molecular mechanisms of regulating the growth and survival of tumor cells. The aim of this article is to study the antitumor antiproliferative activity of isoliquiritigenin on the HELA, PC-3, and MCF-7 tumor cells lines in vitro. The antiproliferative activity was evaluated using the MTT test with the exposure of cells with the test compound for 72 hours. As a result of the study, isoliquiritigenin showed a dose-dependent antiproliferative effect on human tumor lines PC-3, MCF-7 in the concentration range 10^{-4} – $2,5 \times 10^{-5}$ mol/l.

References

1. Belitskii G.A., Kirsanov K.I., Lesovaya E.A., Yakubovskaya M.G. *Mekhanizmy antikantse-rogenogo deystviya flavonoidov* [Mechanisms of anticarcinogenic action of flavonoids]. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*, 2014, no. 1(1), pp. 56–68.
2. Pavlova S.I. *Issledovanie ekstrakta kornya solodki dlya povysheniya effektivnosti terapii zlokachestvennykh novoobrazovaniy: dis. ... kand. med. Nauk* [Research of licorice root extract to improve the effectiveness of treatment of malignant neoplasms. Cand. Diss.] Moscow, 2005, p. 106.
3. Tarakhovskii Yu.S., Kim Yu.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov E.N., eds. *Flavonoidy: biokhimiya, biofizika, meditsina* [Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine]. Pushchino, 2013, p. 310.
4. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñeros M. et al. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2020. Available at: <https://gco.iarc.fr/today>.
5. Mather J.P., Roberts P.E. *Introduction to cell and tissue culture. Theory and technique*. New York, Plenum Press, 1998, pp. 175–194.
6. Peng F., Du Q., Peng C., Wang N., Tang H., Xie X., Shen J., Chen J. A review: the pharmacology of isoliquiritigenin. *Phytotherapy Research*, 2015, no. 29, pp. 969–977.
7. Tian T., Sun J., Wang J., Liu Y., Liu H. Isoliquiritigenin inhibits cell proliferation and mi-gration through the PI3K/AKT signaling pathway in A549 lung cancer cells. *Oncolog. letters.*, 2018, vol. 16(5), pp. 6133–6139.
9. Wang K.L., Yu Y.C., Hsia S.M. Perspectives on the Role of Isoliquiritigenin in Cancer. *Cancers (Basel)*, 2021, vol. 13(1), p. 115. DOI: 10.3390/cancers13010115.

OLGA A. BORTNIKOVA – Assistant Lecturer, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Russia, [Cheboksary \(stolga2502@mail.ru\)](mailto:stolga2502@mail.ru).

SVETLANA I. PAVLOVA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (flavonoid@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9976-7866>).

Формат цитирования: *Бортникова О.А., Павлова С.И.* Изучение противоопухолевой активности изоликирителигена на клеточных линиях HeLa, PC-3, MCF-7 [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica.* – 2021. – № 2. – С. 28–33. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/4>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-28-33.

DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-34-43

УДК [546.28:613.31]:599.323.4-181-114.44-143.6

ББК [Е623.362.423.2*732.32*734.26*743.34]:725.9*23-641.9:Г124.2

Е.А. ГРИГОРЬЕВА, В.С. ГОРДОВА, В.Е. СЕРГЕЕВА, А.Т. СМОРОДЧЕНКО

РЕАКЦИЯ CD68-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС НА ПОСТУПЛЕНИЕ КРЕМНИЯ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ**Ключевые слова:** кремний, печень, селезенка, макрофаги, CD68-позитивные клетки.

В статье представлены данные о длительном влиянии (девять месяцев) поступающего с питьевой водой соединения кремния – девятиводного натрия метасиликата (10 мг/л в пересчете на кремний) – на CD68-позитивные макрофаги печени и селезенки лабораторных крыс. Были найдены изменения морфологических характеристик данной популяции клеток. Отмечалось уменьшение средней площади клеток (в печени контрольной группы крыс показатель средней площади макрофагов составлял $179,23 \pm 5,94$ мкм², а в группе крыс, получавших кремний с питьевой водой, – $117,04 \pm 3,35$ мкм²; в селезенке – $136,02 \pm 3,93$ мкм² и $103,44 \pm 2,8$ мкм², соответственно). Макрофаги в препаратах печени опытной группы крыс имели меньшее количество отростков и более темную цитоплазматическую мембрану. Количество макрофагов в печени на единицу площади было сопоставимо, для крыс контрольной группы составляло $18,78 \pm 1,24$, а для крыс, получавших воду с добавлением кремния, – $19,41 \pm 0,75$ клеток. CD68+ макрофаги красной пульпы селезенки лабораторных крыс, получавших кремний, также претерпевали следующие морфологические изменения: они располагались гуще и имели меньшее количество отростков, при этом количество макрофагов на единицу площади составляло $73,7 \pm 2,3$ для контрольной группы, $91,6 \pm 5,0$ – для опытной группы, соответственно. Расстояние между ними не изменялось. Изменялась интенсивность экспрессии CD68 на поверхности цитоплазматической мембраны и в цитоплазме макрофагов печени и селезенки. Данные изменения можно интерпретировать как адаптационную способность макрофагов печени и селезенки на введенный с питьевой водой кремний. С учетом неоднородности популяции макрофагов в печени и селезенке необходимы дальнейшие исследования с применением маркеров для различных субпопуляций макрофагов с целью выяснения их роли в реакции тканей на кремний, поступающий с питьевой водой.

Актуальность. Кремний – второй по распространенности химический элемент в природе. Организм человека содержит приблизительно 1 г кремния, который присутствует в различных тканях и органах. Соединительные ткани, включая аорту, кости, кожу (и ее придатки), сухожилия и трахея, содержат большую часть кремния, сосредоточенного в организме. Соединения кремний часто используется в составе биологически активных добавок для улучшения качества волос, ногтей и кожи, а также в лекарственных препаратах для профилактики остеопороза. В опытах *in vitro* доказано, что кремний увеличивает синтез коллагена I типа и остеокальцина, остеобластическую дифференцировку в остеобластоподобных клетках, ингибирует экспрессию фенотипических генов остеокластов, образование остеокластов, а также резорбцию костей [13]. Соединения кремния нашли также применение в медицине: диоксид кремния используется в фармацевтической промышленности для сохранения таблетированной формы лекарственного средства, а аморфный высокодисперсный нанокремнезем – в качестве энтеросорбента.

Соединения кремния, ранее считавшиеся биологически инертными, способны оказывать значительное влияние на органы и ткани человека, причем «мишенью» для них являются макрофаги [9, 11]. Так, соединения кремния, содержащиеся в пищевых продуктах, под действием соляной кислоты желуд-

ка могут расщепляться до биодоступной ортокремниевой кислоты (H_4SiO_4), которая способна диффундировать через мембраны и проникать в кровеносную систему. При этом точное место, где происходит всасывание кремниевой кислоты, до сих пор не установлено. В исследованиях *in vitro* было показано, что ортокремниевая кислота проникает через слизистую оболочку кишечника двумя путями: пассивной диффузией через параклеточный путь транспорта сквозь межклеточные плотные соединения, а также трансклеточно – путем облегченной диффузии, накапливаясь внутриклеточно [13, 14]. Биодоступными также являются и наночастицы кремния [15].

Нанодисперсный диоксид кремния (SiO_2) при длительном воздействии способен влиять на морфологическую структуру клеток печени, селезенки, желудка, тощей и ободочной кишки [6]. Введение микродисперсного диоксида кремния вызывает воспаление в желудочно-кишечном тракте, которое проявляется повышением содержания в крови С-реактивного белка и морфологическими изменениями в слизистой оболочке желудка, тощей и ободочной кишки [7].

CD68 является внутриклеточным гликопротеином, экспрессирующимся в лизосомах, фагосомах и цитоплазме большинства тканевых макрофагов. Он обеспечивает как внутриклеточное, так и внеклеточное взаимодействие этих клеток и играет важную роль в фагоцитарной активности, а именно связывается с лектинами и селектинами, располагающимися на определенных участках клеточной мембраны [10].

Наши предыдущие исследования, моделирующие поступление соединения кремния с питьевой водой в течение двух месяцев, выявили морфологические изменения в некоторых органах и их клеточных элементах, а также содержание в них нейромедиаторных биогенных аминов [1, 3]. Так, количество макрофагов, детектируемых специфическим микроглиальным маркером Iba-1, коркового вещества долек тимуса уменьшается, а в мозговом веществе – возрастает; параллельно увеличиваются средние размеры этих клеток как в корковом, так и в мозговом веществе долек тимуса [2]. В герминативных центрах лимфоидных узелков селезенки и подслизистых агрегированных солитарных лимфоидных узелков (Пейеровых бляшек) тонкой кишки отмечается увеличение количества клеток, презентующих антиген в комплексе с молекулой МНС-II [4]. Однако вопрос о реакции макрофагов, которые являются обязательными компонентами иммунного ответа, при данном виде воздействия в течение более длительного времени вызывает определенный интерес.

Цель исследования – изучение реакции макрофагов печени и селезенки крыс на поступление водорастворимого соединения кремния в их организм в течение девяти месяцев.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были проведены на 20 белых нелинейных крысах-самцах одного возраста массой 200–250 г. Животные были разделены на две группы: интактные (контрольная группа) крысы ($n = 10$), получавшие стандартизованную питьевую бутилированную воду, соответствующую требованиям ГОСТ Р 52109-2003, СанПиН 2.1.4.1116-02, опытная группа ($n = 10$), получавшая такую же воду с добавлением натрия метасиликата девятиводного ($Na_2SiO_3 \times 9H_2O$) в концентрации 10 мг/л в перерасчете на кремний (предельно допустимая концентрация кремния в питьевой воде согласно нормативам). Для идентификации макрофагов был выбран общеизвестный маркер CD68 [10]. Все действия, предусматривавшие контак-

ты с экспериментальными животными, проводились с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2008) и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986). Животные выводились из эксперимента в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», после чего извлекались селезенка и печень. Органы фиксировали в 4%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин. После депарафинизации срезы (10 μm толщиной) окрашивались общегистологическим методом гематоксилин-эозином.

Для выявления CD68-позитивных структур был применен иммуногистохимический метод с применением специфических антител. Демаскирование антигена проводили путем кипячения депарафинированных срезов в 10 mM растворе цитратного буфера (pH = 6) в течение 6 мин. Активность эндогенной пероксидазы нейтрализовалась инкубацией срезов в 3%-ном растворе пероксидазы (H_2O_2) в течение 30 мин. После промывки 0,1 M раствором фосфатного буфера проводился блок неспецифического связывания 10%-ной козьей сывороткой и пермеабиллизация 0,05%-ным раствором тритона X-100 (Sigma, Germany) в течение 1 ч при комнатной температуре. Далее срезы селезенки и печени инкубировали с первичными антителами к белкам CD68 (мышинные антитела против CD68, mouse anti-CB68, clone ED1, Abcam, Cambridge, UK) в разведении 1:100 в течение 18 ч при +4°C. После очередной промывки 0,1 M раствором фосфатного буфера были добавлены вторичные козы антитела, меченные биотилином (goat anti-mouse IgG (H+L), Vector Laboratories, USA). Для визуализации позитивного окрашивания срезы инкубировали с авидин-биотиновым комплексом (Vector Laboratories, USA) и диамино-бензидином (Sigma, Germany), последний придавал коричневую окраску структурам, экспрессирующим на своей поверхности CD68. Общеморфологическую характеристику органов и содержащихся в них макрофагов изучали в десяти случайных полях зрения ($\times 100$, $\times 400$) с использованием телеметрической установки, состоящей из светового микроскопа «Микмед-5», персонального компьютера и видеокамеры Amscope Real-Time Live Video Microscope Digital Camera. Измерения проводили на цифровых микрофотографиях в демоверсии программы Sigma Scan Pro5. Степень экспрессии CD68 оценивалась стандартизованным и ранее описанным нашей лабораторией методом [8], который позволяет судить об уровне CD68 по интенсивности светопропускания мембраны и цитоплазмы макрофагов печени и селезенки. Анализ полученных данных осуществлялся с помощью программы Microsoft Office Excel. Клетки распределяли на группы с помощью метода сигмальных отклонений ($< M - \sigma$ – малые, $M \pm \sigma$ – средние, $> M + \sigma$ – большие). Отклонение $M \pm \sigma$ указывало на то, что площадь клетки находится в пределах средних значений. Если площади макрофагов находились в пределах от -2σ до -1σ , то показатель считался ниже средних значений, а если площади находились в пределах от $+1\sigma$ до $+2\sigma$, то выше средней, соответственно. Все показатели средней величины представлены со стандартной ошибкой среднего значения (m) [1]. Статистическую значимость отличий определяли методами непараметрической статистики, разницу принимали как статистически значимую при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Анализ экспериментов, проведенных на лабораторных крысах, показал, что поступление водорастворимого кремния в течение девяти месяцев специфически влияет на микроморфологическое строение изучаемых органов. Макрофаги, экспрессирующие CD68 в печени и селезенки, имеют специфический сигнал от светло-

до темно-коричневого цвета и располагаются вдоль синусоидных капилляров. В печени крыс контрольной группы CD68⁺ макрофаги имеют разветвленные отростки. В печени крыс опытной группы печеночные балки расположены беспорядочно, центральные вены расширены, отмечается выраженная клеточная инфильтрация в области воротного канала, а также равномерное диффузное набухание синусоидных капилляров и отек перисинусоидального пространства (рис. 1, в и 2, а, б) [5]. В препаратах печени опытной группы крыс макрофаги имеют меньшее количество отростков и более темную цитоплазматическую мембрану (рис. 1, г. и 2, в–е). Количество макрофагов в печени на единицу площади сопоставимо, для крыс контрольной группы составляет $18,78 \pm 1,24$, а для крыс, получавших воду с добавлением кремния, – $19,41 \pm 0,75$ клеток. Расстояние между близлежащими клетками в печени крыс контрольной группы составляет $23,15 \pm 0,41$ мкм, а в печени крыс подопытной группы $35,96 \pm 0,89$ мкм ($p < 0,05$). Изменение расстояния между клетками связано с уменьшением средних размеров, а также изменением ширины балок. Так, в контрольной группе показатель средней площади макрофагов составляет $179,23 \pm 5,94$ мкм², а в опытной – $117,04 \pm 3,35$ мкм².

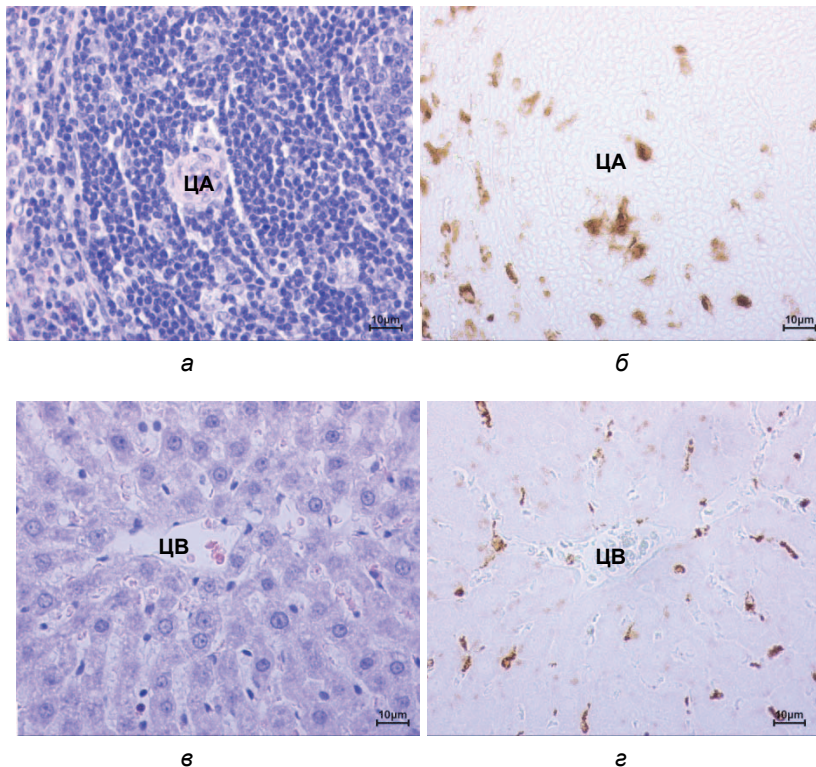


Рис. 1. Селезенка (а, б) и печень крыс (в, г), получавших кремний с питьевой водой в течение девяти месяцев. Морфологическая параллель. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Об. 40. Ок. 10.
а и в – окраска гематоксилин-эозином;
б и г – иммуногистохимический метод, выявляющий CD68.
ЦВ – центральная вена печени,
ЦА – центральная артерия белой пульпы селезенки

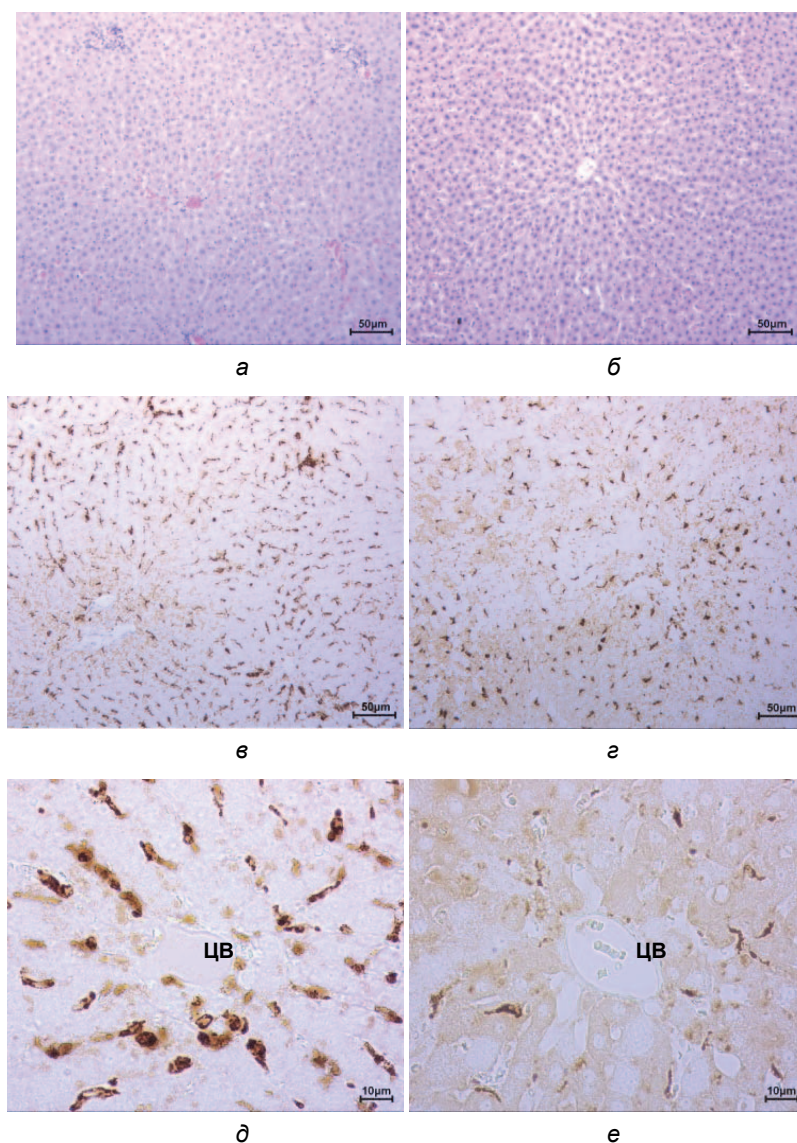


Рис. 2. Печень экспериментальных животных. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star: а, б, в и г – Об. 10. Ок. 10; д и е – Об. 40. Ок. 10; а, в и д – контрольная группа; б, г и е – группа, получавшая воду с кремнием; а и б – окраска гематоксилин-эозином; в, г, д и е – иммуногистохимический метод, выявляющий CD68. ЦВ – центральная вена печени

В селезенке крыс опытной группы наблюдается увеличение площадей лимфоидных узелков, а также тенденция к их слиянию (рис. 1, а и 3, а, б). CD68⁺ макрофаги красной пульпы селезенки лабораторных крыс, получавших кремний, также претерпевают морфологические изменения: они расположены гуще и имеют меньшее количество отростков (рис. 1, б и 3, в, г), при этом количество макрофагов на единицу площади составляет $73,7 \pm 2,3$ для контрольной группы, $91,6 \pm 5,0$ – для опытной группы, соответственно. Расстояние

между ними не изменяется. CD68⁺ макрофаги красной пульпы селезенки также уменьшаются в размере. В контрольной группе крыс средняя площадь макрофагов составляет $136,02 \pm 3,93 \text{ мкм}^2$, а в группе крыс, получавших кремний с питьевой водой, – $103,44 \pm 2,8 \text{ мкм}^2$.

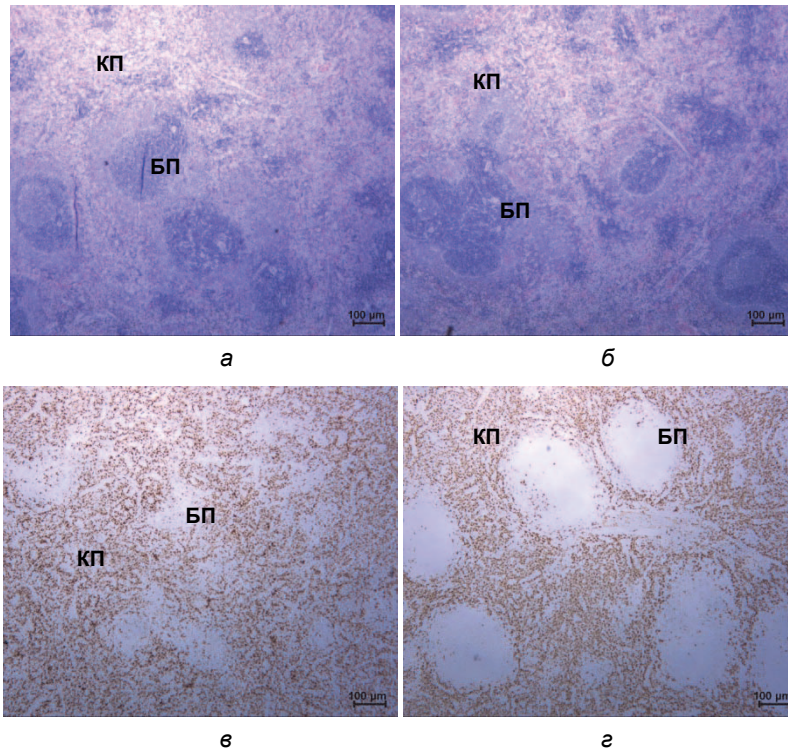


Рис. 3. Селезенка экспериментальных животных. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Об. 4. Ок. 10.
а и в – контрольная группа; б и г – группа, получавшая воду с кремнием;
а и б – окраска гематоксилин-эозином; в и г – иммуногистохимический метод, выявляющий CD68.
КП – красная пульпа, БП – белая пульпа селезенки

Интенсивность светопропускания цитоплазматической мембраны макрофагов печени составляет $110,20 \pm 11,06 \text{ у.е.}$ и $102,47 \pm 1,66 \text{ у.е.}$, цитоплазмы – $88,15 \pm 8,15 \text{ у.е.}$ и $83,96 \pm 1,82 \text{ у.е.}$ для контрольной и опытной групп. В селезенке: цитоплазматической мембраны – $146,64 \pm 1,52 \text{ у.е.}$ и $143,75 \pm 1,17 \text{ у.е.}$, цитоплазмы – $105,72 \pm 1,36 \text{ у.е.}$ и $111,36 \pm 1,05 \text{ у.е.}$ для контрольной и подопытной групп, соответственно. Таким образом, полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что на поверхности макрофагов как печени, так и селезенки увеличивается экспрессия CD68 на цитоплазматической мембране.

Распределение популяции CD68⁺ макрофагов по размеру клеток в печени и селезенке приведено в таблице.

Данные таблицы четко демонстрируют изменение средней площади макрофагов за счет появления большого количества малых макрофагов. CD68 – это антиген, который экспрессируется в клетках моноцитарно-макрофагальной линии, включая циркулирующие моноциты и резидентные тканевые макрофаги (клетки Купфера). Учитывая тот факт, что микродисперсный диоксид кремния

может вызывать воспаление в желудочно-кишечном тракте [7], мы предполагаем, что увеличение популяции малых макрофагов происходит за счет мигрированных из крови моноцитов. В печени статистически снижется доля средних и больших CD68⁺ макрофагов при их неизменном значении в селезенке.

Распределение популяций CD68⁺ макрофагов по размеру клеток, %
(по методу сигмальных отклонений)

Размеры CD68 ⁺ макрофагов (по методу сигмальных отклонений)	Печень			Красная пульпа селезенки		
	площадь, мкм ²	доля CD68 ⁺ макрофагов		площадь, мкм ²	доля CD68 ⁺ макрофагов	
		контроль, %	опыт, %		контроль, %	опыт, %
Малые макрофаги (< M – σ)	0–116,56	10	55,4*	0–86,31	10,2	19,5
Средние макрофаги (M±σ)	116,56–241,9	76,4	43,7*	86,31–185,73	79	74,2
Большие макрофаги (> M + σ)	241,9–367,26	13,6	0,9*	185,73–285,15	10,8	6,3

Примечание. * – разница по сравнению с контролем является статистически значимой ($p < 0,05$).

Поскольку уменьшение количества отростков приводит к изменению площади макрофагов, можно предположить снижение их фагоцитарной активности, вследствие незавершенного фагоцитоза, индуцируемого соединениями кремния. В свою очередь, незавершенный фагоцитоз активирует выработку биологически активных веществ и провоспалительных цитокинов с активными формами кислорода, которые принимают непосредственное и опосредованное участие в разрушении органов и тканей. Подобные изменения формы макрофагов могут свидетельствовать об увеличении ими синтеза интерлейкинов [12].

Повышение плотности популяции CD68⁺ макрофагов на поле зрения можно расценивать как адаптационную реакцию на уменьшение показателей их средних площадей. Данные результаты также сопоставимы с полученной морфологической картиной органов опытной группы крыс.

Выводы. Таким образом, длительное поступление кремния с питьевой водой отражается на морфологии и перераспределении по размерам CD68⁺ макрофагов печени и селезенки лабораторных крыс, а именно на увеличении популяции доли малых форм, средних площадей клеток и степени экспрессии CD68 на их поверхности. Все это можно интерпретировать как адаптационную способность макрофагов этих органов на введенный кремний. С учетом неоднородности популяции макрофагов в печени и селезенке необходимы дальнейшие исследования с применением маркеров для различных субпопуляций макрофагов с целью выяснения их роли в реакции тканей на введенный кремний.

Литература

1. Гордова В.С., Дьячкова И.М., Сергеева В.Е., Сапожников С.П., Смородченко А.Т. Морфофункциональная адаптация структур тимуса крыс на поступление кремния с питьевой водой // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 158, № 12. С. 786–790.

2. Гордова В.С., Григорьева Е.А., Прохорова А.И., Смородченко А.Т., Сергеева В.Е. Макрофаги лимфоидных органов в экспериментах с длительным поступлением кремния с питьевой водой // *Морфология*. 2018. Т. 153, № 3. С. 79.
3. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Коршунова А.И., Григорьева Е.А., Голенкова В.А., Смирнова С.С., Павлова О.В., Ястребова С.А., Карышев П.Б., Сапожников С.П. Гистаминсодержащие клетки лимфоидных органов лабораторных грызунов в эксперименте // *Вестник новых медицинских технологий*. 2018. Т. 25, № 3. С. 107–115.
4. Гордова В.С., Дьячкова И.М. Антигенпрезентирующие клетки лимфоидных органов // *Вестник Чувашского университета*. 2014. № 2. С. 217–224.
5. Григорьева Е.А. Морфологические особенности печени при воздействии водорастворимого соединения кремния // *Медицинский академический журнал*. 2016. Т. 16, № 4. С. 71–72.
6. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Довбыш А.А., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. Влияние наночастиц диоксида кремния на морфологию внутренних органов у крыс при пероральном введении // *Анализ риска здоровью*. 2016. № 4. С. 80–94.
7. Землянова М.А., Звездин В.Н., Довбыш А.А., Акафьева Т.И. Сравнительная оценка токсичности водной суспензии нано- и микродисперсного диоксида кремния в субхроническом эксперименте // *Анализ риска здоровью*. 2014. № 1. С. 74–82.
8. Москвичев Е.В., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н., Кострова О.Ю. Иммуногистохимическая характеристика акцидентальной инволюции тимуса после спленэктомии // *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова*. 2012. Т. 7, № 2. С. 40–43.
9. Сапожников С.П., Гордова В.С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // *Микроэлементы в медицине*. 2013. № 3. С. 3–13.
10. Ястребова С.А., Илларионова С.В., Зайцева Н.А., Сергеева В.Е. Реакция CD68 позитивных клеток селезенки и тимуса на введение иммуномодуляторов // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. № 4. С. 589–593.
11. Chen Q., Xue Y., Sun J. Kupffer cell-mediated hepatic injury induced by silica nanoparticles in vitro and in vivo. *International Journal of Nanomedicine*, 2013, no. 8, pp. 1129–1149.
12. Lefkowitz J.H., Haythe J.H., Regent N. Kupffer cell aggregation and perivenular distribution in steatohepatitis. *Modern Pathology*, 2002, vol. 15, no. 7, pp. 699–704.
13. Jurkić L.M., Сепанец I., Pavelić S.K., Pavelić K. Biological and therapeutic effects of orthosilicic acid and some ortho-silicic acid-releasing compounds: New perspectives for therapy. *Nutrition & Metabolism*, 2013, vol. 10:2.
14. Sergent, T., Croizet K., Schneider Yves-J. In Vitro Investigation of Intestinal Transport Mechanism of Silicon, Supplied as Orthosilicic Acid-Vanillin Complex. *Mol. Nutr. Food Res*, 2017, vol. 61, no. 2. DOI: 10.1002/mnfr.201600602.
15. Yang Y., Yang L., Wen W., Minghua J., Zhongjun D., Yanbo L., Junchao D., Yougbo Y., Zhiwei S. Acute toxicity of amorphous silica nanoparticles in intravenously exposed ICR mice. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 4, pp. e61346.

ГРИГОРЬЕВА ЕВГЕНИЯ АЛЕКСАНДРОВНА – аспирантка кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (shgrev@yandex.ru).

ГОРДОВА ВАЛЕНТИНА СЕРГЕЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины медицинского института, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Россия, Калининград (crataegi@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5109-9862>).

СЕРГЕЕВА ВАЛЕНТИНА ЕФРЕМОВНА – доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (kafedra-biology@yandex.ru).

СМОРОДЧЕНКО АЛИНА ТИХООНОВНА – доктор медицинских наук, профессор анатомии, Медицинский университет Гамбурга, Университет прикладных наук и медицины, Гамбург, Германия (alinasmogor@yahoo.de).

Evgeniia A. GRIGOREVA, Valentina S. GORDOVA,
Valentina E. SERGEEVA, Alina T. SMORODCHENKO

REACTION OF CD68-POSITIVE RAT LIVER AND SPLEEN CELLS ON SILICON INTAKE WITH DRINKING WATER

Key words: silicon, liver, spleen, macrophages, CD68-positive cells.

The article presents data on the long-term effect (nine months) of a silicon compound supplied with drinking water – nonahydrate sodium metasilicate (10 mg/l in terms of silicon), on CD68-

positive macrophages in the liver and spleen of laboratory rats. Changes in the morphological characteristics of this cell population were found. There was a decrease in the average cell area (in the liver of the control group of rats, the average macrophage area was 179.23 ± 5.94 microns², and in the group receiving silicon with drinking water – 117.04 ± 3.35 microns²; in the spleen – 136.02 ± 3.93 microns² and 103.44 ± 2.8 microns², respectively). Macrophages in the liver preparations of the experimental group of rats had a fewer processes and a darker cytoplasmic membrane. The number of macrophages in the liver per unit area was comparable, for the control group of rats it was 18.78 ± 1.24 , and for the rats that received with water with the addition of silicon – 19.41 ± 0.75 cells. CD68+ macrophages of the red splenic pulp in laboratory rats that received silicon also underwent the following morphological changes: they were located in a denser way and had fewer processes, while the number of macrophages per unit area was 73.7 ± 2.3 for the control group, 91.6 ± 5.0 for the experimental group, respectively. The distance between them did not change. There was a change in the intensity of CD68 expression on the surface of the cytoplasmic membrane and in the cytoplasm of liver and spleen macrophages. These changes can be interpreted as the adaptive ability of liver and spleen macrophages to silicon introduced with drinking water. Given the heterogeneity of the macrophage population in the liver and spleen, further studies using markers for different subpopulations of macrophages are needed to clarify their role in the response of tissues to silicon supplied with drinking water.

References

1. Gordova V.S., D'yachkova I.M., Sergeeva V.E., Sapozhnikov S.P., Smorodchenko A.T. *Morfofunktsional'naya adaptatsiya struktur timusa krysa na postuplenie kremniya s pit'evoi vodoi* [Morphofunctional adaptation of rat thymus structures to the intake of silicon with drinking water] // *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 2014, vol. 158, no. 12, pp. 786–790.
2. Gordova V.S., Grigor'eva E.A., Prokhorova A.I., Smorodchenko A.T., Sergeeva V.E. *Makrofagi limfoidnykh organov v eksperimentakh s dlitel'nym postupleniem kremniya s pit'evoi vodoi* [Macrophages of lymphoid organs in experiments with long-term intake of silicon with drinking water]. *Morfologiya*, 2018, vol. 153, no. 3, p. 79.
3. Gordova V.S., Sergeeva V.E., Korshunova A.I., Grigor'eva E.A., Golenkova V.A., Smirnova S.S., Pavlova O.V., Yastrebova S.A., Karyshev P.B., Sapozhnikov S.P. *Gistaminsoder-zhashchie kletki limfoidnykh organov laboratornykh gryzunov v eksperimente* [Histamine-containing cells of lymphoid organs of laboratory rodents in experiment]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii*, 2018, vol. 25, no. 3, pp. 107–115.
4. Gordova V.S., D'yachkova I.M. *Antigenprezentiruyushchie kletki limfoidnykh organov* [Antigen-presenting cells of lymphoid organs]. *Vestnik Chuvashskogo universiteta*, 2014, no. 2, pp. 217–224.
5. Grigor'eva E.A. *Morfologicheskie osobennosti pecheni pri vozdeistvii vodo-rastvorimogo soedineniya kremniya* [Morphological features of the liver when exposed to a water-soluble silicon compound]. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal*, 2016, vol. 16, no. 4, pp. 71–72.
6. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Gmshinskii I.V., Khotimchenko S.A. *Vliyanie nanochastits dioksida kremniya na morfologiyu vnutrennikh organov u krysa pri peroral'nom vvedenii* [Effect of silicon dioxide nanoparticles on the morphology of internal organs in rats after oral administration]. *Analiz riska zdorov'yu*, 2016, no. 4, pp. 80–94.
7. Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Akaf'eva T.I. *Sravnitel'naya otsenka toksichnosti vodnoi suspensii nano- i mikrodispersnogo dioksida kremniya v subkhronicheskom eksperimente* [Comparative evaluation of the toxicity of an aqueous suspension of nano- and microdispersed silicon dioxide in a subchronic experiment]. *Analiz riska zdorov'yu*, 2014, no. 1, pp. 74–82.
8. Moskvichev E.V., Merkulova L.M., Struchko G.Yu. et al. *Immunogistokhimicheskaya kharakteristika aksidental'noi involyutsii timusa posle splenektomii* [Immunohistochemical characterization of accidental evolution of the thymus after splenectomy]. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra im. N.I. Pirogova*, 2012, vol. 7, no. 2, pp. 40–43.
9. Sapozhnikov S.P., Gordova V.S. *Rol' soedinenii kremniya v razvitiio autoimmunnykh protsessov* [The role of silicon compounds in development of autoimmune processes (a review)]. *Mikroelementy v meditsine*, 2013, no. 3, pp. 3–13.
10. Yastrebova S.A., Illarionova S.V., Zaytseva N.A., Sergeyeva V.E. *Reaktsiya CD68 pozitivnykh kletok selezenki i timusa na vvedeniye immunomodulyatorov* [The reaction of CD68 positive cells of the spleen and thymus to the introduction of immunomodulators]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*, 2016, no. 4-3, pp. 589–593.
11. Chen Q., Xue Y., Sun J. Kupffer cell-mediated hepatic injury induced by silica nanoparticles in vitro and in vivo. *International Journal of Nanomedicine*, 2013, no. 8, pp. 1129–1149.
12. Lefkowitz J.H., Haythe J.H., Regent N. Kupffer cell aggregation and perivenular distribution in steatohepatitis. *Modern Pathology*, 2002, vol. 15, no. 7, pp. 699–704.

13. Jurkić L.M., Čepanec I., Pavelić S.K., Pavelić K. Biological and therapeutic effects of ortho-silicic acid and some ortho-silicic acid-releasing compounds: New perspectives for therapy. *Nutrition & Metabolism*, 2013, vol. 10:2.

14. Sergeant, T., Croizet K., Schneider Yves-J. In Vitro Investigation of Intestinal Transport Mechanism of Silicon, Supplied as Orthosilicic Acid-Vanillin Complex. *Mol. Nutr. Food Res*, 2017, vol. 61, no. 2, DOI: 10.1002/mnfr.201600602.

15. Yang Y., Yang L., Wen W., Minghua J., Zhongjun D., Yanbo L., Junchao D., Yougbo Y., Zhiwei S. Acute toxicity of amorphous silica nanoparticles in intravenously exposed ICR mice. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 4, pp. e61346.

EVGENIIA A. GRIGOREVA – Post-Graduate Student of Biology and Microbiology Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (shgrev@yandex.ru).

Valentina S. Gordova – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of Fundamental Medicine Department, I. Kant Baltic Federal University, Russia, Kaliningrad (crataegi@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5109-9862>).

VALENTINA E. SERGEEVA – Doctor of Biological Science, Professor, Medical Biology Department with the Microbiology and Virology course, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (kafedra-biology@yandex.ru).

ALINA T. SMORODCHENKO – Professor for Anatomy, MSH-Medical School Hamburg, University of Applied Sciences and Medical, Hamburg, Germany (alinasmor@yahoo.de).

Формат цитирования: Григорьева Е.А., Гордова В.С., Сергеева В.Е., Смородченко А.Т. Реакция CD68-позитивных клеток печени и селезенки крыс на поступление кремния с питьевой водой [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 2. – С. 34–43. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/5>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-34-43.

Н.Ю. ТИМОФЕЕВА, О.Ю. КОСТРОВА, И.С. СТОМЕНСКАЯ, Н.В. БУБНОВА

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ И КОАГУЛОГРАММЫ ПРИ ЛЕГКОМ ТЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Ключевые слова: периферическая кровь, коронавирусная инфекция, поражение легких, лейкоциты, коагулограмма, С-реактивный белок.

В 2020 г. пандемия новой коронавирусной инфекции охватила практически все страны мира. Опасность этой инфекции заключена в поражении легких, что может приводить к летальным исходам. Успех лечения во многом определяется ранней диагностикой заболевания и своевременным начатым лечением. С целью поисков способов ранней лабораторной диагностики коронавирусной инфекции в работе изучены изменения показателей периферической крови, коагулограммы и С-реактивный белок (СРБ) у 56 амбулаторных больных легкой формой коронавирусной инфекции, средний возраст которых составил 49 ± 2 года (среди них 23,2% мужчин и 66,8% женщин). У всех пациентов коронавирусная инфекция была подтверждена выявлением РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в мазках из носоглотки или ротоглотки. Признаки поражения легких выявлены у 66% пациентов по данным компьютерной томографии. Количество эритроцитов и уровень гемоглобина у всех больных были в норме. У 7% больных выявлена тромбоцитопения, у 5,3% пациентов – тромбоцитоз. Наиболее выраженные изменения обнаружены в лейкоформуле и показателях свертывающей системы крови. У 12,5% пациентов без признаков вирусной пневмонии выявлен лейкоцитоз. Все случаи лейкопении отмечены только на фоне поражения легких, при этом у 16% была найдена лимфопения, у 43% – относительный лимфоцитоз. В коагулограмме у более чем половины больных пневмониями отмечено укорочение свертывания крови в тесте активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), повышение протромбинового индекса (ПТИ) и содержания фибриногена. Уровень СРБ был повышен лишь у четверти пациентов с легкой формой поражения легких. Таким образом, изменения в лейкоформуле на фоне тенденции к гиперкоагуляции в показателях свертывания крови должны вызывать настороженность врачей при лечении пациента со сходной с COVID-19 клинической симптоматикой.

Введение. 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения объявила пандемией инфекцию, вызванную малоизвестным вирусом SARS-CoV-2. В мире более 100 млн человек заболели данной инфекцией, из них свыше 2 млн человек погибло [3].

Источником инфекции является больной человек, в том числе в инкубационном периоде, который составляет в среднем 2–14 дней. Основными путями передачи вируса являются воздушно-капельный и контактно-бытовой. Все это приводит к стремительному распространению заболевания [2, 3, 6].

Клиническая симптоматика коронавирусной инфекции соответствует клинике острых респираторных заболеваний. Так, для нее характерны повышение температуры тела, сухой кашель, общая слабость, головная боль, редко диарея. Кроме того, может быть временная потеря обоняния или вкуса, что характерно для многих респираторных заболеваний. Именно похожая клиническая картина вызывает затруднения в диагностике коронавирусной инфекции и дифференциации ее от остальных острых респираторных заболеваний.

Опасность коронавирусной инфекции заключена в поражении легких, что может обуславливать смертность от нее. Чаще всего тяжелые формы заболевания встречаются у пациентов старше 65 лет с хроническими заболеваниями эндокринной, сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Перечисленные особенности определяют необходимость исследования заболевания с целью ее ранней диагностики, своевременного лечения и предотвращения возникновения тяжелых осложнений. В этом, безусловно, помогают лабораторные и инструментальные методы исследования. Методом специфической лабораторной диагностики коронавирусной инфекции является выявление РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР. Основным видом биоматериала для лабораторного исследования является мазок из носоглотки или ротоглотки. Кроме того, биологическим материалом для исследования могут быть промывные воды бронхов, полученные при фибробронхоскопии (бронхоальвеолярный лаваж), мокрота, биопсийный или аутопсийный материал легких, цельная кровь, сыворотка, моча [3].

За период пандемии учеными были разработаны различные методы диагностики COVID-19 по тестам на антитела, однако диагностическая точность их составляет всего 60-70%. Наиболее часто используются лучевые методы исследования: компьютерная томография (КТ) и рентгенография легких. На сегодняшний день они практически стали скрининговыми методами срочной диагностики COVID-19.

При рентгенографии грудной клетки выявляют двусторонние сливные инфильтративные затемнения, чаще всего в базальных отделах легких. У некоторых пациентов определяется небольшой плевральный выпот.

Компьютерная томография легких является более чувствительным методом для диагностики вирусной пневмонии. Основными признаками пневмонии являются двусторонние инфильтраты в виде «матового стекла» или консолидации, имеющие преимущественную локализацию в нижних и средних долях легких.

Лучевые методы диагностики позволяют диагностировать повреждения легких, однако они не могут определить этиологию патологического процесса.

Актуальность темы не вызывает сомнений. На сегодняшний день заболеваемость и смертность от COVID-19 обсуждаются во всем мире. Коронавирусная инфекция является для человечества новой, не до конца изученной угрозой. Исследование изменений показателей крови человека при данной инфекции может помочь понять патогенез заболевания и систематизировать знания, необходимые для лечения и диагностики COVID-19.

Цель исследования – оценить изменения показателей периферической крови и коагулограммы пациентов с легкой формой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования явились результаты анализов крови 56 пациентов с лабораторно подтвержденной коронавирусной инфекцией методом ПЦР. Среди пациентов были 13 мужчин и 43 женщины в возрасте от 24 до 78 лет (средний возраст составил 49 ± 2 года). Все пациенты имели легкое течение коронавирусной инфекции и находились на амбулаторном лечении. У 66% пациентов ($n = 37$) были выявлены признаки поражения легких по данным компьютерной томографии. У всех пациентов определялись показатели общего анализа крови, коагулограммы и С-реактивного белка (СРБ). В общем анализе крови подсчитывалось количество эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрита, тромбоцитов и лейкоформула с окраской

мазков методом Романовского–Гимзы. В коагулограмме определялись стандартные коагуляционные тесты, включающие протромбиновое время (ПТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), подсчет международного нормализованного отношения (МНО), определение уровня фибриногена А. Отдельно определялся С-реактивный белок. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного пакета «Microsoft Excel 2007». Статистическую достоверность определяли с применением критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Общий анализ крови является наиболее часто назначаемым анализом в клинической практике. Это недорогой, малоинвазивный и относительно быстрый источник очень ценной информации. Современный гематологический анализатор, оценивая клеточный состав крови, позволяет составить полное представление об острых процессах, обострении хронических заболеваний, количественно описать системный воспалительный ответ и многие другие явления [4, 6].

При исследовании красной крови и тромбоцитов больных COVID-19 достоверно значимых изменений не было выявлено. Показатели эритроцитов и гемоглобина практически всех пациентов были в норме. У 7% больных ($n = 4$) выявлена тромбоцитопения, у 5,3% пациентов ($n = 3$) – тромбоцитоз.

В белой крови у 12,5% пациентов ($n = 7$) наблюдалась лейкопения, у 10,7% ($n = 6$) – лейкоцитоз. При этом все случаи лейкопении были выявлены у пациентов с вирусными пневмониями. Среднее количество лейкоцитов составило $5,91 \pm 0,27 \times 10^9/\text{л}$. У 42,8% человек ($n = 24$) в лейкоформуле обнаружен лимфоцитоз, у 16% ($n = 9$) – лимфопения. Среди пациентов с пневмониями у 16% ($n = 6$) была выявлена лимфопения, у 43% ($n = 16$) – лимфоцитоз.

Согласно данным литературы, в общем анализе крови при коронавирусной инфекции могут наблюдаться следующие изменения: лейкопения за счет лимфопении, снижение гемоглобина, повышение СОЭ [4, 5]. В нашей группе пациентов были разнонаправленные изменения в белой крови. Однако у всех пациентов с поражениями легких выявлялась лейкопения. Известно, что все виды лейкоцитов защищают организм от инфекционных агентов. В борьбе с вирусными инфекциями главную роль играют лимфоциты. Их снижение уменьшает защиту организма, что способствует развитию различных осложнений инфекции, в частности, возникновению вирусной пневмонии при COVID-19. Адекватным иммунным ответом организма на развитие коронавирусной инфекции следует считать лимфоцитоз, что наблюдалось у большинства пациентов с легким течением.

Наиболее значимые изменения были обнаружены при исследовании коагулограммы. У 39% пациентов ($n = 22$) выявлено снижение показателя АЧТВ, при этом 63,6% ($n = 14$) из них были с поражением легких. У 46% ($n = 26$) выявлено повышение ПТИ, при этом у 69% ($n = 18$) среди них были выявлены изменения в легких на КТ. 50% пациентов ($n = 28$) с коронавирусной инфекцией имели повышенный показатель фибриногена в крови, 78% ($n = 22$) которых – с пневмониями.

Данные изменения можно объяснить процессами, которые происходят в организме при заражении COVID-19. Вирус SARS-CoV-2, попадая в организм человека, в первую очередь приводит к гибели клеток органов-мишеней, при этом происходит высвобождение тканевого тромбопластина, который,

в свою очередь, вызывает быструю локальную активацию свертывания крови и образование микротромба. Это хорошо известная патологическая реакция, отграничивающая патогены от воздействия окружающей микросреды, в основном антител и макрофагов. Тромб обычно растворяется в течение 1–2 ч, но за это время патоген может размножиться. Понятно, что ситуация «одна погибшая клетка и микротромб» не опасна, но если одновременно гибнет много клеток, то и тромбоз будет больше. Собственно, этот механизм и является основой распространенного внутрисосудистого свертывания крови [1].

Уровень СРБ коррелирует с тяжестью течения, распространенностью воспалительной инфильтрации и прогнозом при пневмонии. В нашем исследовании уровень СРБ был повышен у 26,8% больных. Это, вероятно, связано с тем, что в исследуемой группе находились пациенты с легким течением коронавирусной инфекции. Кроме перечисленных анализов у пациентов с коронавирусной инфекцией могут быть определены и другие показатели. Биохимический анализ крови не дает какой-либо специфической информации, но обнаруживаемые отклонения могут указывать на наличие органной дисфункции, декомпенсацию сопутствующих заболеваний, помогают оценивать тяжесть патологического процесса и развития осложнений [4], имеют определенное прогностическое значение, оказывают влияние на выбор лекарственных препаратов или режим их дозирования. Исследования крови у больных с COVID-19 выявили увеличение уровня сывороточного ферритина, С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы [4, 5].

Выводы. Таким образом, нами выявлены изменения в общем анализе крови и в коагулограмме при легком течении коронавирусной инфекции. При этом больше значимых сдвигов в анализах наблюдалось у пациентов с поражениями легких. Это должно насторожить врача при лечении пациента со сходной с COVID-19 клинической симптоматикой, так как при проведении ПЦР на выявление РНК вируса более 40% результатов анализов дают ложноотрицательный ответ.

Литература

1. Воробьев П.А., Момот А.П., Зайцев А.А., Елыкомов В.А., Сычев Д.А., Краснова Л.С., Воробьев А.П., Васильев С.А., Воробьева Н.А. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови при инфекции COVID-19 // *Терапия*. 2020. № 5(39). С. 25–34. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/therapy.2020.5.25-34>.
2. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Миронов А.Ю., Забозлаев Ф.Г. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. М., 2020. 48 с.
3. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции 2019-nCoV. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации // *Пульмонология*. 2019. № 6(29). С. 655–672. DOI: <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2019-29-6-655-672>.
4. Садретдинов М.А., Тимербулатов Ш.В., Валишин Д.А., Тимербулатов В.М. Диагностика COVID-19: неиспользованные технологии – возможности общего анализа крови // *Медицинский вестник Башкортостана*. 2020. Т. 15, № 3 (87). С. 31–34.
5. Senthilnayagam B., Kumar T., Sukumaran J., M J., Rao K.R. Automated measurement of immature granulocytes: performance characteristics and utility in routine clinical practice. *Pathology research international*, 2012, vol. 2012 (2012): 483670. DOI: 10.1155/2012/483670.
6. Chen N, Zhon M, Dong X et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 Novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive Study. www.thelancet.com. Published online January 29, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/s01406736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/s01406736(20)30211-7).

ТИМОФЕЕВА НАТАЛЬЯ ЮРЬЕВНА – ассистент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (bla11blabla@yandex.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7596-0132>).

КОСТРОВА ОЛЬГА ЮРЬЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (evkbiz@yandex.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>).

СТОМЕНСКАЯ ИРИНА СТАНИСЛАВОВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (irina.stomenskaja@gmail.com; ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7332-4477>).

БУБНОВА НАТАЛЬЯ ВЛАДИМИРОВНА – ассистент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (natalia210485@yandex.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2505-0827>).

Natalia Yu. TIMOFEEVA, Olga Yu. KOSTROVA, Irina S. STOMENSKAYA, Natalia V. BUBNOVA

CHANGES IN THE INDICATORS OF THE GENERAL BLOOD TEST AND COAGULOGRAM IN A MILD COURSE OF CORONAVIRUS INFECTION

Key words: peripheral blood, coronavirus infection, lung damage, white blood cells, coagulogram, C-reactive protein.

In 2020 the pandemic of a new coronavirus infection spread in almost all countries of the world. The danger of this infection lies in the damage to the lungs, which can lead to fatal outcomes. The success of treatment is largely determined by the early diagnosis of the disease and its timely treatment. In order to find the ways of early laboratory diagnosis of coronavirus infection, we studied changes in peripheral blood indicators, coagulograms and C-reactive protein in 56 outpatient patients with mild course of coronavirus infection, whose average age was 49 ± 2 years (among them, 23.2% were men and 66.8% were women). In all patients, coronavirus infection was confirmed by the detection of SARS-CoV-2 RNA by polymerase chain reaction (PCR) in nasopharyngeal or oropharyngeal smears. Signs of lung damage were detected in 66% of patients according to computed tomography findings. The number of red blood cells and the level of hemoglobin in all patients were normal. In 7% of patients, thrombocytopenia was detected, in 5.3% of patients – thrombocytosis. The most pronounced changes are found in the leucoformula and indicators of the blood coagulation system. In 12.5% of patients without signs of viral pneumonia, leukocytosis was detected. All cases of leukopenia were noted only against the background of lung damage, at this, in 16% lymphopenia was found, 43% had relative lymphocytosis. The coagulogram of more than half of the patients with pneumonia showed shortening of blood clotting in the activated partial thromboplastin time (APTT) test, an increase in prothrombin index (PI) and the content of fibrinogen. The level of C-reactive protein was increased in only a quarter of patients with mild lung damage. Thus, changes in the leucoformula against the background of a tendency to hypercoagulation in blood clotting indicators should cause doctors' apprehensive attitude when treating a patient with clinical symptoms similar to COVID-19.

References

1. Vorob'ev P.A., Momot A.P., Zaitsev A.A., Elykomov V.A., Sychev D.A., Krasnova L.S., Vorob'ev A.P., Vasil'ev S.A., Vorob'eva N.A. *Sindrom disseminirovannogo vnutrisosudistogo svertyvaniya krovi pri infektsii COVID-19* [Disseminated intravascular coagulation syndrome in COVID-19 infection]. *Terapiya*, 2020, no. 5(39), pp. 25–34. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/therapy.2020.5.25-34>.
2. Nikiforov V.V., Suranova T.G., Mironov A. Yu., Zabozlaev F.G. *Novaya koronavirusnaya infektsiya (COVID-19): etiologiya, epidemiologiya, klinika, diagnostika, lechenie i profilaktika* [New Coronavirus Infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinic, diagnostics, treatment and prevention]. Moscow, 2020, 48 p.
3. The prevention, diagnosis and treatment of the new coronavirus infection 2019-nCoV. Temporary guidelines Ministry of Health of the Russian Federation. *Pulmonologiya*, 2019, no. 29(6), pp. 655–672. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2019-29-6-655-672>.
4. Sadretdinov M.A., Timerbulatov Sh.V., Valishin D.A., Timerbulatov V.M. *Diagnostika covid-19: neispol'zovannye tekhnologii – vozmozhnosti obshchego analiza krovi* [Diagnosis of COVID-19: unused technologies – the possibilities of a full blood count]. *Meditsinskii vestnik Bashkortostana*, 2020, vol. 15, no. 3(87), pp. 31–34.

5. Senthilnayagam B., Kumar T., Sukumaran J., M J., Rao K.R. Automated measurement of immature granulocytes: performance characteristics and utility in routine clinical practice. *Pathology research international*, 2012, vol. 2012 (2012): 483670. DOI: 10.1155/2012/483670.

6. Chen N, Zhong M, Dong X et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 Novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive Study. *www.thelancet.com*. Published online January 29, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/s01406736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/s01406736(20)30211-7).

NATALIA Yu. TIMOFEEVA – Assistant Lecturer, Department of Instrumental Diagnostics Department with a Course of Phthysiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (bla11blabla@yandex.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7596-0132>).

OLGA Yu. KOSTROVA – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor, Head of Department of the Instrumental Diagnostics with a Course of Phthysiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (evkbiz@yandex.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7057-9834>).

IRINA S. STOMENSKAYA – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor, Department of the Instrumental Diagnostics with a Course of Phthysiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (irina.stomenskaja@gmail.com; ORCID <https://orcid.org/0000-0001-7332-4477>).

NATALIA V. BUBNOVA – Assistant Lecturer, Department of Instrumental Diagnostics Department with a Course of Phthysiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (natalia210485@yandex.ru; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2505-0827>).

Формат цитирования: Тимофеева Н.Ю., Кострова О.Ю., Стоменская И.С., Бубнова Н.В. Изменения показателей общего анализа крови и коагулограммы при легком течении коронавирусной инфекции [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica*. – 2021. – № 2. – С. 44–49. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/6>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-44-49.

А.Н. БЕЛОВА, А.П. БАВРИНА, Н.Ю. ЛИТВИНОВА, А.В. БЕСПАЛОВА,
Ю.А. ИСРАЕЛЯН, В.О. СУШИН, А.М. РЕЗЕНОВА, М.А. ШАБАНОВА

**МЕТОД ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ
В ТЕРАПИИ МИОФАСЦИАЛЬНОГО БОЛЕВОГО СИНДРОМА:
НАРРАТИВНЫЙ ОБЗОР***

***Ключевые слова:** миофасциальная боль, миофасциальный болевой синдром, триггерная точка, фотобиомодуляция, низкоинтенсивная лазерная терапия.*

Миофасциальная боль представляет собой один из самых распространенных вариантов хронической скелетно-мышечной боли, который значительно снижает качество жизни пациентов, препятствует активной кинезотерапии и трудно поддается лечению. Перспективным методом терапии миофасциального болевого синдрома (МФБС) является метод фотобиомодуляции (ФБМ), использующий в лечебных целях неионизирующие источники света (лазеры, светодиоды) и излучение в видимом, инфракрасном и близком к инфракрасному спектральных диапазонах. В обзоре кратко рассматриваются общие представления о ФБМ и результаты исследований, посвященных эффективности ФБМ при МФБС, обсуждаются возможные механизмы терапевтического эффекта низкоинтенсивного оптического излучения и необходимость выбора оптимальных параметров воздействия. Эффективность, неинвазивность и безопасность позволяет использовать ФБМ у пациентов пожилого возраста.

Актуальность проблемы терапии миофасциальных болей. К числу самых распространенных медицинских проблем относится хронический болевой синдром, при этом среди болевых синдромов доминируют скелетно-мышечные боли, в частности миофасциальная боль (МФБ) [13, 45, 47, 49]. В возрастной группе 30–60 лет МФБ регистрируется у 37% мужчин и у 65% женщин, а среди лиц старше 65 лет распространенность МФБ составляет более 80% [13]. Источником МФБ являются скелетные мышцы и прилегающие фасции [5, 47, 48, 50]. МФБ характеризуется мышечной дисфункцией с формированием локальных болезненных уплотнений, так называемых триггерных точек (ТТ) в пораженных мышцах [9, 51, 54]. МФБ очень часто сопутствует остеоартрозу (ОА) [4, 19]. МФБ не только изнуряет пациентов и ухудшает качество их жизни, но и препятствует активным движениям в суставе, что, в свою очередь, может ускорять прогрессирование дегенеративных процессов в суставах и затруднять проведение кинезотерапии [4, 19].

МФБ может носить первичный либо вторичный характер. Первичная МФБ развивается на фоне хронической перегрузки скелетных мышц либо при их длительной иммобилизации. Вторичная МФБ обусловлена рефлекторным сокращением мышц на фоне соматической патологии: практически любая соматическая патология может сопровождаться миофасциальными болевыми синдромами (МФБС); болевая импульсация с пораженного висцерального органа или сустава приводит к защитному напряжению соответствующих

* Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 208.094.01 121130100281-9.

мышц для иммобилизации сустава или создания мышечного защитного напряжения вокруг больного органа [8, 9].

Хотя МФБ является не отдельной нозологической формой заболевания, а синдромом, международным сообществом разработаны *клинические диагностические критерии* этого патологического состояния. К основным клиническим критериям МФБ относятся: наличие в скелетной мышце пальпируемого «тугого» тяжа; обнаружение в области «тугого» тяжа участка повышенной чувствительности и характерного паттерна отраженной боли при стимуляции этого участка; осознание пациентом вызванной боли [43].

Патогенез МФБ до сих пор не вполне выяснен. Несмотря на то, что теория МФБ периодически подвергается критике [44], а в определениях понятия ТТ существует высокая вариабельность [18, 32], доминирует гипотеза, согласно которой начальным толчком в формировании ТТ служит острая или повторная перегрузка мышцы в условиях гипоперфузии и энергетического дефицита, которые обусловлены сдавлением сосудов мышц в результате их сокращения [8, 14]. В результате ишемии в мышце накапливается молочная кислота, продукты диссоциации которой активируют ноцицепторы (неинкапсулированные нервные окончания А-дельта и С-афферентных волокон, богато представленные в мышечных волокнах, фасциях и сухожилиях), а также провоцируют выброс из терминалей мотонейрона пептида, связанного с геном кальцитонина (ПСГК). Увеличение уровня ПСГК приводит к активации рецепторов ацетилхолина (АХ) и к ингибированию разрушающего его фермента (ацетилхолинэстеразы), следствием чего становится пролонгированное сокращение нитей актина и миозина в мышечных волокнах с образованием ТТ и плотных тяжей [8]. Кроме того, выброс АХ из окончаний мотонейронов активирует симпатическую иннервацию сосудов мышц, что поддерживает их сужение и гипоперфузию мышц, замыкая «порочный круг» [8, 14]. В зоне ТТ уменьшается количество аденозинтрифосфата (АТФ) и в результате нарушения функции ионного насоса в цитоплазме миоцитов накапливаются ионы кальция; это нарушает сократимость мышечного волокна и приводит к запуску воспалительных реакций с выделением веществ, воздействующих на ноцицепторы (брадикинин, фактор некроза опухоли альфа, воспалительные интерлейкины IL6, IL8, IL1beta, серотонин, норэпинефрин) [14].

Согласно современной гипотезе, ТТ могут порождать дополнительные ноцицептивные афферентные пути, т.е. формировать так называемую добавочную подкожную систему болевой афферентации (*subcutaneous accessory pain system*, англ.) [11]. Эта гипотеза может объяснить коморбидность МФБ и тревожно-депрессивных расстройств: показано, что между эпидермисом (который образуется в процессе эмбриогенеза из эктодермы) и лимбической областью головного мозга существуют двусторонние связи [37, 42]. В свете этих данных при лечении МФБ воздействие на кожные покровы приобретает патогенетическое обоснование [14].

Высокая стоимость лечения делает МФБ не только медицинской, но и социальной проблемой [45]. Тем не менее многие аспекты патогенеза, диагностики и терапии МФБ остаются недостаточно изученными [21]. Стандартных схем лечения МФБ не существует. Фармакотерапия включает назначение таких средств, как нестероидные противовоспалительные препараты, миорелаксанты, бензодиазепины, антидепрессанты, пластыри с лидокаином, ботулинический токсин типа А; нефармакологические модальности включают физи-

ческие упражнения, ультразвуковое воздействие, прокалывание ТТ сухой иглой, остеопатические манипуляции [9, 14]. Однако доказательной базы эффективности того или иного метода терапии МФБ нет, часто лечение оказывается малоэффективным [14]. Кроме того, лекарственные препараты обладают побочными эффектами, а прокалывания ТТ и введение ботулинического токсина относятся к инвазивным технологиям, что ограничивает их применение, в особенности у лиц пожилого возраста. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка новых эффективных, безопасных и имеющих научное обоснование методов терапии МФБ. К числу таких методов относят метод фотобиомодуляции [11].

Общие представления о механизмах действия низкоинтенсивного оптического излучения. Термином «фотобиомодуляция» (ФБМ) обозначают форму световой терапии, использующую монохроматичный свет видимого и инфракрасного диапазонов от источников неионизирующего излучения (лазеры, светодиоды) и индуцирующую в живых тканях нетепловой процесс с участием эндогенных хромофоров, который сопровождается фотофизическими и фотохимическими явлениями на различных биологических уровнях [38]. Феномен изменения функциональной активности клеток под воздействием света, открытый более полувека назад венгерским исследователем Endre Mester, первоначально рассматривался как свойство лазерного излучения в красном спектре (600–700 нм) и был положен в основу метода низкоинтенсивного лазерного излучения, или НИЛИ (Low Level Laser Therapy, или LLLT) [27]. В дальнейшем в виде источников низкоинтенсивного оптического излучения все шире стали использовать светодиоды. В настоящее время для ФБМ чаще всего используют низкоинтенсивный (10–500 мВт) свет с длиной волн в диапазоне от красного до ближнего инфракрасного (БИК) спектров (660–905 нм), поскольку эти длины волны способны проникать в кожу, мягкие и плотные ткани; оптимальной для воздействия на мышечную ткань считается длина волны 810 нм [11, 27, 28].

Механизмы положительного действия низкоинтенсивного оптического излучения (НОИ) до сих пор остаются не вполне ясными [12]. По современным представлениям, в клетках живых организмов имеются акцепторы определенных длин волн электромагнитного излучения, или фотоакцепторы [25]; одним из первых возможных фотакцепторов была заявлена цитохром с-оксидаза [41]. Предполагается, под действием НОИ от цитохром с-оксидазы отделяется оксид азота, который восстанавливает транспорт электронов и увеличивает мембранный потенциал митохондрий, что впоследствии приводит к активации синтеза АТФ и увеличению потока кальция в клетку [27]. На данный момент описанный выше механизм является гипотезой и требует дополнительных исследований.

Другим известным фотоакцептором является супероксиддисмутаза (СОД) [1]. Данная гипотеза связана с возможностью активации активного центра фермента путем депротонирования гистидиновых остатков при облучении светом красного диапазона. Однако теория активации СОД пока не получила экспериментального подтверждения *in vitro*, что вызывает сомнения в первичности СОД как акцептора низкоинтенсивного красного света.

Согласно еще одной гипотезе, под действием НОИ происходит фотолиз нитрозильных комплексов гемопротенинов и цитохрома, что также приводит к активации синтеза АТФ и интенсификации потока кальция в клетку [2]. Однако для подтверждения данной теории основная часть исследований проводилась лишь для низкоинтенсивного света синего, зеленого и инфракрасного диапазонов.

Одной из наиболее доказанных к настоящему времени является фотодинамическая теория действия НОИ [6]. В рамках данной гипотезы, в качестве первичных акцепторов НОИ выступают эндогенные фотосенсибилизаторы – порфирины, которые в присутствии кислорода инициируют образование свободных радикалов и окисление мембранных липидов, что, в свою очередь, приводит к интенсификации потока кальция в клетку.

Большинство изученных на данный момент предполагаемых механизмов действия НОИ завершаются увеличением потока кальция в клетку. В то же время известно, что некоторые антиоксидантные ферменты, например глутатион-трансфераза, активируются кальцием. Так, показано, что под действием НОИ в мышечной ткани, поврежденной различными физическими факторами в эксперименте, наблюдается восстановление нормальных значений активности глутатион-трансферазы и содержания восстановленного глутатиона, что, в свою очередь, опосредует нормализацию свободно-радикальных процессов [31].

В целом полагают, что механизм лечебного действия НОИ представлен несколькими последовательными фазами: фотофизической (при поглощении кванта света один из электронов атома фотоакцептора переходит на другой энергетический уровень), фотохимической (энергия электронного возбуждения запускает физико-химические реакции) и фотобиологической (развитие биологических эффектов) [7]; эти процессы иногда сравнивают с процессом фотосинтеза в растениях, при котором фотоны поглощаются клеточными фоторецепторами с последующим преобразованием энергии света в энергию химических связей органических веществ [11].

Эффекты действия низкоинтенсивного оптического излучения красного, инфракрасного и БИК диапазонов, таким образом, проявляются на молекулярном, клеточном и биологическом уровнях. Терапевтические возможности НОИ при МФБС объясняют с позиций его анальгезирующего эффекта, способности улучшать функциональные свойства мышечной ткани и воздействовать на ТТ [11, 27].

Анальгезирующий эффект ФБМ объясняют как прямым воздействием на ноцицепторы, находящиеся в поверхностных слоях кожи, так и способностью НОИ распространяться на подкожные ткани, симпатические ганглии и нервномышечные синапсы, блокировать проведение болевых импульсов, влиять на процессы нейропластичности в спинном мозге и предотвращать центральную сенситизацию [11, 30]. Повторное многократное воздействие лазером, по мнению авторов, способно модулировать ноцицепцию и предотвращать хронизацию боли [30].

К механизмам анальгезирующего эффекта ФБМ относят также активацию антиноцицептивной системы и модуляцию нейротрансмиттеров [23], а также купирование локального воспаления и отека [11]. Необходимо отметить, что в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, подтвердивших анальгезирующие эффекты ФБМ, в качестве источника НОИ значительно чаще использовались лазеры, а не светодиоды.

Биологические эффекты оптического воздействия на мышечную ткань изучены пока лишь у здоровых людей. Так, в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании с двойной маскировкой авторы определяли оптимальную мощность оптического излучения и эффект комбинированного применения лазера и светодиодов у 40 здоровых нетренированных волонтеров. Однократный сеанс фототерапии проводили перед выполнением физической нагрузки; использовали набор источников света: 4 лазера (905 нм) и 8 светодиодов,

половина которых изучала свет с длиной волны 875 нм и половина – 670 нм. Воздействие осуществляли на четырехглавую мышцу бедра (6 локусов) оптическим излучением, суммарные дозы которого составляли 10, 30 и 50 Дж, либо плацебо [10]. Было показано, что проводимая перед тренировкой ФБМ с применением низкоинтенсивного комбинированного излучения значительно увеличивала работоспособность мышцы и снижала отсроченную мышечную болезненность и уровень креатинкиназы (биомаркера повреждения мышцы); оптимальной оказалась доза 30 Дж [10]. Положительный эффект в отношении мышечной утомляемости был получен у здоровых нетренированных лиц и при воздействии оптическим излучением и на другие мышечные группы – например, на сгибатели предплечья [46].

Однократное воздействие лазерным излучением с длиной волны 810 нм на мышцы-разгибатели голени у профессиональных спортсменов-футболистов, предшествовавшее физической нагрузке, позволяло замедлить процесс физиологического мышечного утомления, уменьшить микротравматизацию скелетных мышц вследствие физической нагрузки и ускорить восстановление мышцы после тренировки; оптимальной оказалась доза 50 Дж при оптической мощности 200 мВт [17].

Еще одно исследование с применением низкоинтенсивного оптического воздействия на четырехглавую мышцу бедра у футболистов до и после наступления мышечного утомления также показало, что воздействие лазером после наступления утомления мышцы снижало концентрацию лактата и креатинкиназы в сыворотке крови; параметры воздействия были следующими: длина волны 830 нм, площадь луча 0.0028 см², шесть излучателей, энергия излучения каждого из них 0,6 Дж, общая энергия для двух конечностей 50,4 Дж, плотность потока мощности 21,42 Вт/см², 70 с на каждую ногу [20]. Исследователи полагают, что ФБМ может влиять на локальный воспалительный процесс в мышце, вызванный физической нагрузкой, и иметь дозозависимый эффект: стимуляцию биологических процессов вызывают лишь дозы в пределах «терапевтического окна», тогда как дозы за пределами этого диапазона не вызывают никаких эффектов, при этом диапазон «терапевтического окна» варьирует в зависимости от той патологии, на лечение которой направлена ФБМ [17].

Воздействие низкоинтенсивным светом лазера на четырехглавую мышцу бедра спортсменов-волейболистов перед силовыми и плиометрическими тренировками (непрерывное излучение, 850 нм, три излучателя с мощностью 50 мВт и энергией излучения 2 Дж каждый, плотность потока энергии 0,8 Дж/см², шесть точек облучения, 6 Дж в течение 40 с на точку, общая энергия для одной конечности 36 Дж) способствовало более выраженному увеличению мышечной силы, в особенности при сочетании ФБМ с электростимуляцией мышц [15].

Надо учитывать, что при различных типах нагрузок возможны разные реакции на ФБМ [40]. Так, результаты исследования, в котором до начала тренировки по дзюдо на мышцы одной ноги (m.m. Quadriceps femoris, Hamstrings, Gastrocnemius) воздействовали оптическим излучением (15 зон, по 32 с и 30 Дж на зону, суммарная доза 450 Дж), а второй – плацебо, свидетельствовали об отсутствии эффекта ФБМ в отношении уменьшения мышечной утомляемости [40].

В целом использование низкоинтенсивного света рассматривается как потенциально эффективный краткосрочный подход к снижению в мышце уровня окислительного стресса и локальному увеличению количества антиоксидантных веществ [21]. Эти данные открывают перспективы к научно обоснованному использованию ФБМ при МФБС.

Возможности воздействия низкоинтенсивным оптическим излучением на миофасциальный болевой синдром. В рутинной клинической практике при МФБС нередко применяют широкополосное светотепловое излучение, обладающее преимущественно эффектом прогревания тканей; однако не так давно авторы одного из исследований по изучению воздействия конвенциональной светотерапии на волокна трапециевидной мышцы высказали предположение, что наблюдавшиеся изменения были связаны не только с тепловым воздействием излучения, но и с так называемыми невидимыми эффектами [33].

Предположение, что НОИ, имеющее узкий спектральный диапазон, может оказывать на ТТ более выраженный эффект в сравнении с низкоинтенсивным поляризованным конвенционным светом (полихроматическим некогерентным излучением), высказывалось уже давно. Основной мишенью НОИ при МФБС служат ТТ [11]. Способность низкоинтенсивного света лазера уменьшать порог болезненности ТТ была продемонстрирована еще более двух десятков лет назад [39]. В 1989 г А. Olavi и коллеги провели двойное слепое исследование, в котором приняли участие 18 пациентов с МФБС; этим пациентам проводили воздействие на ТТ, локализованные в мышцах плечевого пояса и верхней конечности, либо инфракрасным лазером (904 нм, 1.5 Дж на точку), либо плацебо. В группе пациентов, получавших активную терапию, непосредственно после сеанса и через 15 минут после его завершения болевой порог ТТ оказался значительно выше, чем в группе плацебо [39].

На протяжении последнего десятилетия опубликовано значительное число работ, подтверждающих эффективность ФБМ в отношении воздействия на ТТ [49]. Например воздействие на все выявленные в трапециевидной мышце ТТ поляризованным лазерным излучением (755 нм, 6 Дж/см², 5 сеансов в неделю, 5 недель, 32 пациента) привело к значительному уменьшению выраженности локальных и отраженных болей, увеличению объема движений в шейном отделе позвоночника; положительный результат был достигнут более чем у 90% пролеченных пациентов [49].

Значительное число исследований по изучению эффективности НОИ выполнялось на моделях МФБС, развившегося вследствие патологии височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) [34–36, 52]. Например, в двойном слепом рандомизированном исследовании пациенты с болью в жевательных мышцах, обусловленной артрозом ВНЧС, были рандомизированы в две группы, одна из которых получала терапию низкоинтенсивным светом лазера каждые 48 часов в течение 10 дней (суммарная доза 1285 Дж на весь курс лечения), а вторая – имитацию ФБМ [36]. Авторы продемонстрировали, что ФБМ оказывала достоверный, но краткосрочный анальгезирующий эффект [36].

Для повышения результативности терапии некоторые исследователи предлагают одновременное использование разных источников света и разных длин волн. Например, используют излучатель, комбинирующий светодиоды с излучением в красном (660 нм) и инфракрасном (850 нм) диапазонах (мощность каждого светодиода 3,5 мВт, плотность потока мощности 4,45 мВт/см², время экспозиции 20 с, суммарная энергия 75,6 Дж) [52] либо предлагают интраоральное воздействие на крыловидные мышцы с использованием суперимпульсного лазера (905 нм) в комбинации с красным (640 нм) и инфракрасным (875 нм) светодиодным излучением, что эффективно уменьшало боль у женщин с миогенной дисфункцией ВНЧС [29]. ФБМ комбинируют с медикаментозной терапией, направленной на уменьшение мышечного спазма (флуоксетин, баклофен, клоназепам), что повышает ее эффективность [34].

В целом систематический обзор публикаций, касающихся результатов использования ФБМ в лечении височно-нижнечелюстной миофасциальной боли, показал, что ФБМ, по-видимому, эффективна для этой категории пациентов, несмотря на отсутствие понимания ее точного механизма; однако методологическое качество доступных исследований было средним (высокая неоднородность и небольшое количество включенных пациентов, высокий риск систематической ошибки), поэтому результаты не являются окончательными и необходимы дальнейшие хорошо спланированные исследования [35].

В то же время опубликованы результаты некоторых исследований, не подтверждающие преимущества ФБМ в терапии МФБС перед другими методами терапии и даже перед плацебо [31, 16]. Так, в сравнительном исследовании, проведенном у 61 женщины, было продемонстрировано, что эффект ФБМ в отношении функциональных исходов и толерантности к боли при миофасциальном синдроме трапециевидной мышцы оказался менее выраженным, чем при применении ударно-волновой терапии [31]. В другой работе было показано, что комбинация метода «сухой иглы» с ФБМ не давала дополнительных преимуществ [50]. Одной из возможных причин неудовлетворительных результатов может являться неправильно подобранные параметры НОИ.

Оптимальные параметры фотобиомодуляции. Отличием ФБМ от конвенционной светотерапии является использование монохроматического излучения строго определенных параметров, что позволяет точно дозировать воздействие. Для получения наилучших результатов очень важны правильно выбранные характеристики воздействия (длина волны, мощность, плотность мощности, структура импульса, плотность энергии, полная энергия, продолжительность экспозиции), которые должны находиться в узких пределах «терапевтического окна» [26]. Наилучшее проникновение НОИ в мышечную ткань отмечено при длине волн в диапазоне 760–850 нм: в этом диапазоне оптический поток мощностью 1 Вт и исходящей плотностью 5 Вт/см², проникающая в живые ткани, может на глубине 5 см иметь плотность мощности 5 мВт/см² [11]. Однако даже в таком диапазоне длин волн слишком короткое время облучения, слишком низкая или слишком высокая выходная мощность могут привести к нулевым результатам [3, 55].

Экспертными группами разработаны национальные и международные рекомендации по применению НОИ при разных формах патологии [3, 55], но все эти рекомендации, во-первых, предусматривают использование когерентного монохроматического излучения лазеров, во-вторых, не выделяют отдельно МФБС. В то же время для ФБМ в последнее время все чаще используют светоизлучающие диоды, генерирующие некогерентное излучение более низкой спектральной плотности; последним, в силу меньшей стоимости и большей безопасности, предпочтение отдается все чаще [27, 28]. Оптимальные параметры НОИ при терапии МФБС с использованием лазеров, светодиодов либо их комбинаций, определяют на основании результатов системных обзоров и метаанализов результатов опубликованных исследований. В настоящее время полагают, что при воздействии на область ТТ оптимальная интенсивность воздействия (плотность потока мощности) составляет около 5 Вт/см², продолжительность воздействия на одну точку – от 30 с до 1 мин, а число точек может быть выбрано от 1 до 10-15 за один сеанс [22]. При использовании ФБМ с целью повышения выносливости мышц согласно результатам метаанализа 28 исследований, выполненных у здоровых лиц, наилучшие

результаты достигались при применении энергии излучения от 20 до 60 Дж для мелких мышечных групп и от 60 до 300 Дж для крупных мышц и максимальной выходной мощности 200 мВт на диод [53].

Для ФБМ применяют импульсный или непрерывный свет относительно низкой плотности мощности, что обеспечивает безопасность воздействия (отсутствие нагревания тканей и возможности ожога); в настоящее время не сообщалось о побочных эффектах ФБМ даже при длительном применении терапевтических доз НОИ в пределах 4–30 Дж/см²; 5–50 мВт/см² в [24]. Тем не менее применение метода ФБМ требует строгого соблюдения мер безопасности как пациента, так и врача, осуществляющего терапию. Согласно рекомендациям NAALT, противопоказаниями к проведению ФБМ с применением в качестве источника излучения лазеров, служат беременность, эпилепсия (пульсирующий видимый свет может провоцировать приступы при фотосенситивной эпилепсии) и злокачественные новообразования (за исключением случаев паллиативной помощи) [23]. Специалист, выполняющий процедуру ФБМ, должен пользоваться специальными очками во избежание повреждения сетчатки глаза [38].

Выводы. Результаты экспериментальных и клинических исследований показали, что воздействие НОИ способно приводить к уменьшению болезненности ТТ и расслаблению сокращенных мышечных волокон, а ФБМ может стать эффективным методом терапии МФБС. Достаточно детально изученные механизмы действия НОИ, неинвазивность и безопасность ФБМ делают этот метод особенно привлекательным при лечении лиц пожилого возраста. Однако для разработки эффективных протоколов терапии МФБ при помощи ФБМ требуются дальнейшие клинические исследования.

Литература

1. Владимиров Ю.А. Три гипотезы о механизме действия красного (лазерного) света // Эфферентная медицина. 1994. № 19. С. 23–35.
2. Владимиров Ю.А., Осипов А.Н., Клебанов Г.И. Фотобиологические принципы применения лазерного излучения // Биохимия. 2004. Т. 69(1). С. 103–113.
3. Герасименко М.Ю., Гейниц А.В. Лазерная терапия в лечебно-реабилитационных и профилактических программах: клинические рекомендации. М.: Триада, 2015. 80 с.
4. Королева С.В., Львов С.Е. Роль миофасциального синдрома в дестабилизации коленного сустава при остеоартрозе // Современные проблемы науки и образования. 2007. № 1. С. 89–93.
5. Кукушкин М.Л., Хитров Н.К. Общая патология боли. М.: Медицина, 2004. 144 с.
6. Мачнева Т.В., Булгакова Н.Н., Владимиров Ю.А., Осипов А.Н. Роль эндогенных порфиринов в лазерной терапии экспериментальных кожных ран // Биофизика. 2010. Т. 55(3), С. 532.
7. Поддубная О.А. Низкоинтенсивная лазеротерапия в клинической практике (Часть 1) // Вестник восстановительной медицины. 2020. Т. 6(100). С. 92–99.
8. Фергюсон Л.У., Гервин Р. Лечение миофасциальной боли. Клиническое руководство: пер с англ. М.: МЕДпресс-информ, 2019. 544 с.
9. Хоппенфелд Д.Д. Диагностика и лечение боли: пер с англ. М.: МЕДпресс-информ, 2019. 320 с.
10. Antonioli F., De Marchi T., Tomazoni S. et al. Phototherapy in skeletal muscle performance and recovery after exercise: effect of combination of super-pulsed laser and light-emitting diodes. *Lasers Med Sci.*, 2014, vol. 29(6), pp. 1967–1976. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-014-1611-7>.
11. Cotler B.H. et al. The Use of Low Level Laser Therapy (LLLT) For Musculoskeletal Pain. *MOJ Orthop Rheumatol.*, 2015, vol. 2(5). DOI: <https://doi.org/10.15406/mojor.2015.02.00068>.
12. Bavrina A., Monich V., Malinovskaya S. Modification in oxidative processes in muscle tissues exposed to laser- and light-emitting diode radiation. *Lasers Med Sci.*, 2017, vol. 33(1), pp. 159–164. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2370-z>.
13. Bonakdar R. Integrative Medicine. 4th ed. Elsevier, 2021, pp. 651–662.
14. Bordoni B, Varacallo M. Myofascial Pain. StatPearls Publ., 2018.
15. Da Cunha R., Pinfildi C., de Castro Pochini A., Cohen M. Photobiomodulation therapy and NMES improve muscle strength and jumping performance in young volleyball athletes: a randomized controlled trial study in Brazil. *Lasers Med Sci.*, 2019, vol. 35(3), pp. 621–631. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02858-6>.

16. Dalpiaz A., Kuriki H., Barbosa R., Diefenthaler F., Marcolino A., Barbosa R. Dry Needling and Photobiomodulation Decreases Myofascial Pain in Trapezius of Women: Randomized Blind Clinical Trial. *J Manipulative Physiol Ther.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2020.07.002>.
17. De Oliveira A., Vanin A., De Marchi T. et al. What is the ideal dose and power output of low-level laser therapy (810 nm) on muscle performance and post-exercise recovery? Study protocol for a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Trials*, 2014, vol. 15(1), p. 69. DOI: <https://doi.org/10.1186/1745-6215-15-69>.
18. Dommerholt J, Chou L, Hooks T, Thorp J. Myofascial pain and treatment: Editorial a critical overview of the current myofascial pain literature. *J Bodyw Mov Ther.*, 2019, vol. 23(4), pp. 773–784. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2019.10.001>.
19. Dor A., Kalichman L. A myofascial component of pain in knee osteoarthritis. *J Bodyw Mov Ther.*, 2017, vol. 21(3), pp. 642–647. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2017.03.025>.
20. Dos Reis F., da Silva B., Laraia E. et al. Effects of Pre- or Post-Exercise Low-Level Laser Therapy (830 nm) on Skeletal Muscle Fatigue and Biochemical Markers of Recovery in Humans: Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Photomed Laser Surg.*, 2014, vol. 32(2), pp. 106–112. DOI: <https://doi.org/10.1089/pho.2013.3617>.
21. Dos Santos S., Serra A., Stancker T. et al. Effects of Photobiomodulation Therapy on Oxidative Stress in Muscle Injury Animal Models: A Systematic Review. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, vol. 2017, pp. 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/5273403>.
22. Eloqayli H. Subcutaneous accessory pain system (SAPS): A novel pain pathway for myofascial trigger points. *Med Hypotheses.*, 2018, vol. 111, pp. 55–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.12.026>.
23. Erthal V., da Silva M., Cidral-Filho F., Santos A., Nohama P. ST36 laser acupuncture reduces pain-related behavior in rats: involvement of the opioidergic and serotonergic systems. *Lasers Med Sci.*, 2013, vol. 28(5), pp. 1345–1351. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1260-7>.
24. Foo A., Soong T., Yeo T., Lim K. Mitochondrial Dysfunction and Parkinson's Disease-Near-Infrared Photobiomodulation as a Potential Therapeutic Strategy. *Front Aging Neurosci.*, 2020, vol. 12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00089>.
25. Gupta A, Hamblin M. History And Fundamentals Of Low-Level Laser (Light) Therapy. *Handbook of Photomedicine*, London, New York, CRC Press, 2016, pp. 43–52.
26. Hamblin M. Can osteoarthritis be treated with light? *Arthritis Res Ther.*, 2013, vol. 15(5), p. 120. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar4354>.
27. Hamblin M. Photobiomodulation or low-level laser therapy. *J Biophotonics.*, 2016, vol. 9(11-12), pp. 1122–1124. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbio.201670113>.
28. Heiskanen V., Hamblin M. Photobiomodulation: lasersvs.light emitting diodes? *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2018, vol. 17(8), pp. 1003–1017. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8pp00176f>.
29. Herpich C., Leal-Junior E., Politti F. et al. Intraoral photobiomodulation diminishes pain and improves functioning in women with temporomandibular disorder: a randomized, sham-controlled, double-blind clinical trial. *Lasers Med Sci.*, 2019, vol. 35(2), pp. 439–445. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02841-1>.
30. Holanda V., Chavantes M., Wu X., Anders J. The mechanistic basis for photobiomodulation therapy of neuropathic pain by near infrared laser light. *Lasers Surg Med.*, 2017, vol. 49(5), pp. 516–524. DOI: <https://doi.org/10.1002/lsm.22628>.
31. Király M., Bender T., Hodosi K. Comparative study of shockwave therapy and low-level laser therapy effects in patients with myofascial pain syndrome of the trapezius. *Rheumatol Int.*, 2018, vol. 38(11), pp. 2045–2052. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00296-018-4134-x>.
32. Li L., Stoop R., Clijsen R. et al. Criteria Used for the Diagnosis of Myofascial Trigger Points in Clinical Trials on Physical Therapy. *The Clinical Journal of Pain*, 2020, vol. 36, iss. 12, pp. 955–967 DOI: [10.1097/AJP.0000000000000875](https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000875).
33. Lubkowska A., Radecka A., Bryczkowska I., Rotter I., Laszczyńska M., Karakiewicz B. Changes in the bioelectric activity of the trapezius muscle following the thermal effect of red light and infrared radiation. *J Back Musculoskelet Rehabil.*, 2018, vol. 31(4), pp. 645–656. DOI: <https://doi.org/10.3233/bmr-169745>.
34. Mansourian A., Pourshahidi S., Sadrzadeh-Afshar M., Ebrahimi H. A Comparative Study of Low-Level Laser Therapy and Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation as an Adjunct to Pharmaceutical Therapy for Myofascial Pain Dysfunction Syndrome: A Randomized Clinical Trial. *Front Dent.*, 2019, vol. (16), iss. (4). DOI: <https://doi.org/10.18502/fid.v16i4.2084>.
35. Munguia F., Jang J., Salem M., Clark G., Enciso R. Efficacy of Low-Level Laser Therapy in the Treatment of Temporomandibular Myofascial Pain. *A Systematic Review and Meta-Analysis. J Oral Facial Pain Headache*, 2018, vol. 32(3), pp. 287–297. DOI: <https://doi.org/10.11607/ofph.2032>.
36. Nadershah M., Abdel-Alim H., Bayoumi A., Jan A., Elatrouni A., Jadu F. Photobiomodulation Therapy for Myofascial Pain in Temporomandibular Joint Dysfunction: A Double-Blinded Randomized

Clinical Trial. *J Maxillofac Oral Surg.*, 2019, vol. 19(1), pp. 93–97. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12663-019-01222-z>.

37. Niraj G. Pathophysiology and Management of Abdominal Myofascial Pain Syndrome (AMPS): A Three-Year Prospective Audit of a Management Pathway in 120 Patients. *Pain Medicine*, 2018, vol. 19(11), pp. 2256–2266. DOI: <https://doi.org/10.1093/pm/pnx343>.

38. North American Association for Photobiomodulation Therapy: site. Available at: <https://www.naalt.org/about>.

39. Olavi A., Pekka R., Kolari P., Pöntinen P. Effects of the infrared laser therapy at treated and non-treated trigger points. *Acupunct Electrother Res.*, 1989, vol. 14(1), pp. 9–14. DOI: <https://doi.org/10.3727/036012989816358560>.

40. Orssatto L., Detanico D., Kons R., Sakugawa R., Silva J., Diefenthaler F. Photobiomodulation Therapy Does Not Attenuate Fatigue and Muscle Damage in Judo Athletes: A Randomized, Triple-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Front Physiol.*, 2019, vol. 10. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00811>.

41. Passarella S., Karu T. Absorption of monochromatic and narrow band radiation in the visible and near IR by both mitochondrial and non-mitochondrial photoacceptors results in photobiomodulation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, vol. 140, pp. 344–358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.07.021>.

42. Paus R. Exploring the “brain-skin connection”: Leads and lessons from the hair follicle. *Curr Res Transl Med.*, 2016, vol. 64(4), pp. 207–214. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.retram.2016.10.003>.

43. Petersen T., Laslett M., Juhl C. Clinical classification in low back pain: best-evidence diagnostic rules based on systematic reviews. *BMC Musculoskeletal Disord.*, 2017, vol. 18(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12891-017-1549-6>.

44. Quintner J., Bove G., Cohen M. A critical evaluation of the trigger point phenomenon. *Rheumatology*, 2014, vol. 54(3), pp. 392–399. DOI: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keu471>.

45. Rachin A. Miofascial pain syndrome in clinician practice. *Russian Medical Journal*, 2015, vol. 28(23), pp. 1665–1668.

46. Rossato M., Dellagrana R., Lanferdini F. et al. Effect of pre-exercise phototherapy applied with different cluster probe sizes on elbow flexor muscle fatigue. *Lasers Med Sci.*, 2016, vol. 31(6), pp. 1237–1244. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-016-1973-0>.

47. Russek L. Physical Rehabilitation. 7th ed. Philadelphia, F.A.Davis Company, 2021, pp. 1081–1133.

48. Saxena A., Chansoria M., Tomar G., Kumar A. Myofascial Pain Syndrome: An Overview. *J Pain Palliat Care Pharmacother*, 2015, vol. 29(1), pp. 16–21. DOI: <https://doi.org/10.3109/15360288.2014.997853>.

49. Shahmoridi D., Shafiei S., Yousefian B. The Effectiveness of the Polarized Low-Level Laser in the Treatment of Patients With Myofascial Trigger Points in the Trapezius Muscles. *J Lasers Med Sci.*, 2020, vol. 11(1), pp. 14–19. DOI: <https://doi.org/10.15171/jlms.2020.04>.

50. Sharan D. Myofascial pain syndrome: Diagnosis and management. *Indian J Rheumatol.*, 2014, vol. 9, pp. S22–S25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.injr.2014.09.013>.

51. Simons D., Travell J., Simons L. Myofascial Pain And Dysfunction. The Trigger Point Manual 2nd ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 1999, pp. 53–56.

52. Sousa D., Gonçalves M., Politti F. et al. Photobiomodulation with simultaneous use of red and infrared light emitting diodes in the treatment of temporomandibular disorder. *Medicine (Baltimore)*, 2019, vol. 98(6), e14391. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.000000000014391>.

53. Vanin A., Verhagen E., Barboza S., Costa L., Leal-Junior E. Photobiomodulation therapy for the improvement of muscular performance and reduction of muscular fatigue associated with exercise in healthy people: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci.*, 2017, vol. 33(1), pp. 181–214. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2368-6>.

54. Vazquez-Delgado E., Cascos-Romero J., Gay-Escoda C. Myofascial pain syndrome associated with trigger points: A literature review. (I): Epidemiology, clinical treatment and etiopathogeny. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2009, e494–e498. DOI: <https://doi.org/10.4317/medoral.14.e494>.

55. WALT. Recommended Treatment Doses For Low Level Laser Therapy 780-860 Nm // Wave-length: World Association For Laser Therapy, 2010 Available at: https://waltza.co.za/wp-content/uploads/2012/08/Dose_table_780-860nm_for_Low_Level_Laser_Therapy_WALT-2010.pdf.

БЕЛОВА АННА НАУМОВНА – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (anbelova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9719-6772>).

БАВРИНА АННА ПЕТРОВНА – кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской физики и информатики, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (annabavr@gambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8775-7297>).

ЛИТВИНОВА НАТАЛЬЯ ЮРЬЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (ny7171@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6978-139X>).

БЕСПАЛОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (annetsyug@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1599-6771>).

ИСРАЕЛЯН ЮЛИЯ АЛЕКСАНДРОВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (ija07@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4480-1884>).

СУШИН ВИЛЬЯМ ОЛЕГОВИЧ – ассистент кафедры медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (sushin.nn@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2346-7810>).

РЕЗЕНОВА АНАСТАСИЯ МИХАЙЛОВНА – ассистент кафедры медицинской реабилитации, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (seule1993@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6478-8077>).

ШАБАНОВА МАРИЯ АНДРЕЕВНА – ассистент кафедры медицинской реабилитации ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Россия, Нижний Новгород (bilberry47@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8160-1208>).

Anna N. BELOVA, Anna P. BAVRINA, Natalya Yu. LITVINOVA,
Anna V. BESPALOVA, Yuliya A. ISRAELYAN, Vil'iam O. SUSHIN,
Anastasiya M. REZENOVA, Mariya A. SHABANOVA

PHOTOBIMODULATION METHOD IN THE TREATMENT OF MYOFASCIAL PAIN SYNDROME: NARRATIVE OVERVIEW

Key words: myofascial pain, myofascial pain syndrome, trigger point, photobiomodulation, low-intensity laser therapy.

Myofascial pain is one of the most common variants of chronic musculoskeletal pain, which significantly reduces the patients' life quality, prevents active kinesitherapy and is difficult to treat. A promising method of therapy for myofascial pain syndrome (MFBS) is the photobiomodulation method (FBM), which uses non-ionizing light sources (lasers, LEDs) and radiation in the visible, infrared and near-infrared spectral ranges for therapeutic purposes. The review briefly discusses the general understanding of FBM and the results of studies on the effectiveness of FBM in MFBS, it discusses possible mechanisms of the therapeutic effect of low-intensity optical radiation and the need to choose the optimal exposure parameters. Efficacy, non-invasiveness and safety enable to use FBM in elderly patients.

References

1. Vladimirov Yu.A. *Tri gipotezy o mekhanizme deistviya krasnogo (lazernogo) sveta* [Three hypotheses about the mechanism of action of red (laser) light]. *Efferentnaya meditsina*, 1994, no. 19, pp. 23–35.
2. Vladimirov Yu.A., Osipov A.N., Klebanov G.I. *Fotobiologicheskie printsipy primeneniya lazernogo izlucheniya* [Photobiological principles of laser radiation use]. *Biokhimiya*, 2004, vol. 69(1), pp. 103–113.
3. Gerasimenko M.Yu., Geinits A.V. *Lazernaya terapiya v lechebno-reabilitatsionnykh i profilakticheskikh programmakh: klinicheskie rekomendatsii* [Laser therapy in treatment and rehabilitation and preventive programs: clinical recommendations]. Moscow, Triada Publ., 2015, 80 p.
4. Koroleva S.V., L'vov S.E. *Rol' miofastsial'nogo sindroma v destabilizatsii kolennogo sustava pri osteoartroze* [The role of myofascial syndrome in the destabilization of the knee joint in osteoarthritis]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2007, no. 1, pp. 89–93.
5. Kukushkin M.L., Khitrov N.K. *Obshchaya patologiya boli* [General pain pathology]. Moscow, Meditsina Publ., 2004, 144 p.
6. Machneva T.V., Bulgakova N.N., Vladimirov Yu.A., Osipov A.N. *Rol' endogennykh porfirinov v lazernoi terapii eksperimental'nykh kozhnykh ran* [The role of endogenous porphyrins in laser therapy of experimental skin wounds]. *Biofizika*, 2010, vol. 55(3), p. 532.

7. Poddubnaya O.A. *Nizkointensivnaya lazeroterapiya v klinicheskoi praktike (Chast' 1)* [Low-intensity laser therapy in clinical practice (Part 1)]. *Vestnik vosstanovitel'noi meditsiny*, 2020, vol. 6(100), pp. 92–99.
8. Ferguson L.W., Gerwin R. *Clinical mastery in the treatment of myofascial pain*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005, 428 p. (Russ. ed.: *Lechenie miofatsial'noi boli. Klinicheskoe rukovodstvo*. Moscow, MEDpress-inform Publ., 2019, 544 p.).
9. Hoppenfeld J.D. *Fundamentals of pain medicine*. Philadelphia, Wolters Kluwer, 2014, 288 p. (Russ. ed.: *Diagnostika i lechenie boli*. Moscow, MEDpress-inform Publ., 2019, 320 p.). Antonialli F., De Marchi T., Tomazoni S. et al. Phototherapy in skeletal muscle performance and recovery after exercise: effect of combination of super-pulsed laser and light-emitting diodes. *Lasers Med Sci.*, 2014, vol. 29(6), pp. 1967–1976. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-014-1611-7>.
10. Antonialli F., De Marchi T., Tomazoni S. et al. Phototherapy in skeletal muscle performance and recovery after exercise: effect of combination of super-pulsed laser and light-emitting diodes. *Lasers Med Sci.*, 2014, vol. 29(6), pp. 1967–1976. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-014-1611-7>.
11. Cotler B.H. et al. The Use of Low Level Laser Therapy (LLLT) For Musculoskeletal Pain. *MOJ Orthop Rheumatol.*, 2015, vol. 2(5). DOI: <https://doi.org/10.15406/mojor.2015.02.00068>.
12. Bavrina A., Monich V., Malinovskaya S. Modification in oxidative processes in muscle tissues exposed to laser- and light-emitting diode radiation. *Lasers Med Sci.*, 2017, vol. 33(1), pp. 159–164. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2370-z>.
13. Bonakdar R. *Integrative Medicine*. 4th ed. Elsevier, 2021, pp. 651–662.
14. Bordoni B., Varacallo M. *Myofascial Pain*. StatPearls Publ., 2018.
15. Da Cunha R., Pinfildi C., de Castro Pochini A., Cohen M. Photobiomodulation therapy and NMES improve muscle strength and jumping performance in young volleyball athletes: a randomized controlled trial study in Brazil. *Lasers Med Sci.*, 2019, vol. 35(3), pp. 621–631. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02858-6>.
16. Dalpiaz A., Kuriki H., Barbosa R., Diefenthaler F., Marcolino A., Barbosa R. Dry Needling and Photobiomodulation Decreases Myofascial Pain in Trapezius of Women: Randomized Blind Clinical Trial. *J Manipulative Physiol Ther.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2020.07.002>.
17. De Oliveira A., Vanin A., De Marchi T. et al. What is the ideal dose and power output of low-level laser therapy (810 nm) on muscle performance and post-exercise recovery? Study protocol for a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Trials*, 2014, vol. 15(1), p. 69. DOI: <https://doi.org/10.1186/1745-6215-15-69>.
18. Dommerholt J, Chou L, Hooks T, Thorp J. Myofascial pain and treatment: Editorial a critical overview of the current myofascial pain literature. *J Bodyw Mov Ther.*, 2019, vol. 23(4), pp. 773–784. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2019.10.001>.
19. Dor A., Kalichman L. A myofascial component of pain in knee osteoarthritis. *J Bodyw Mov Ther.*, 2017, vol. 21(3), pp. 642–647. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2017.03.025>.
20. Dos Reis F., da Silva B., Laraia E. et al. Effects of Pre- or Post-Exercise Low-Level Laser Therapy (830 nm) on Skeletal Muscle Fatigue and Biochemical Markers of Recovery in Humans: Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Photomed Laser Surg.*, 2014, vol. 32(2), pp. 106–112. DOI: <https://doi.org/10.1089/pho.2013.3617>.
21. Dos Santos S., Serra A., Stancker T. et al. Effects of Photobiomodulation Therapy on Oxidative Stress in Muscle Injury Animal Models: A Systematic Review. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, vol. 2017, pp. 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/5273403>.
22. Eloqayli H. Subcutaneous accessory pain system (SAPS): A novel pain pathway for myofascial trigger points. *Med Hypotheses.*, 2018, vol. 111, pp. 55–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.12.026>.
23. Erthal V., da Silva M., Cidral-Filho F., Santos A., Nohama P. ST36 laser acupuncture reduces pain-related behavior in rats: involvement of the opioidergic and serotonergic systems. *Lasers Med Sci.*, 2013, vol. 28(5), pp. 1345–1351. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1260-7>.
24. Foo A., Soong T., Yeo T., Lim K. Mitochondrial Dysfunction and Parkinson's Disease-Near-Infrared Photobiomodulation as a Potential Therapeutic Strategy. *Front Aging Neurosci.*, 2020, vol. 12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00089>.
25. Gupta A, Hamblin M. History And Fundamentals Of Low-Level Laser (Light) Therapy. *Handbook of Photomedicine*, London, New York, CRC Press, 2016, pp. 43–52.
26. Hamblin M. Can osteoarthritis be treated with light? *Arthritis Res Ther.*, 2013, vol. 15(5), p. 120. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar4354>.
27. Hamblin M. Photobiomodulation or low-level laser therapy. *J Biophotonics.*, 2016, vol. 9(11-12), pp. 1122–1124. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbio.201670113>.
28. Heiskanen V., Hamblin M. Photobiomodulation: lasers vs. light emitting diodes? *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2018, vol. 17(8), pp. 1003–1017. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8pp00176f>.

29. Herpich C., Leal-Junior E., Politti F. et al. Intraoral photobiomodulation diminishes pain and improves functioning in women with temporomandibular disorder: a randomized, sham-controlled, double-blind clinical trial. *Lasers Med Sci.*, 2019, vol. 35(2), pp. 439–445. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02841-1>.
30. Holanda V., Chavantes M., Wu X., Anders J. The mechanistic basis for photobiomodulation therapy of neuropathic pain by near infrared laser light. *Lasers Surg Med.*, 2017, vol. 49(5), pp. 516–524. DOI: <https://doi.org/10.1002/lsm.22628>.
31. Király M., Bender T., Hodosi K. Comparative study of shockwave therapy and low-level laser therapy effects in patients with myofascial pain syndrome of the trapezius. *Rheumatol Int.*, 2018, vol. 38(11), pp. 2045–2052. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00296-018-4134-x>.
32. Li L., Stoop R., Clijisen R. et al. Criteria Used for the Diagnosis of Myofascial Trigger Points in Clinical Trials on Physical Therapy. *The Clinical Journal of Pain*, 2020, vol. 36, iss. 12, pp. 955–967. DOI: [10.1097/AJP.0000000000000875](https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000875).
33. Lubkowska A., Radecka A., Bryczkowska I., Rotter I., Laszczyńska M., Karakiewicz B. Changes in the bioelectric activity of the trapezius muscle following the thermal effect of red light and infrared radiation. *J Back Musculoskelet Rehabil.*, 2018, vol. 31(4), pp. 645–656. DOI: <https://doi.org/10.3233/bmr-169745>.
34. Mansourian A., Poursahidi S., Sadrzadeh-Afshar M., Ebrahimi H. A Comparative Study of Low-Level Laser Therapy and Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation as an Adjunct to Pharmaceutical Therapy for Myofascial Pain Dysfunction Syndrome: A Randomized Clinical Trial. *Front Dent.*, 2019, vol. (16), iss. (4). DOI: <https://doi.org/10.18502/fid.v16i4.2084>.
35. Munguia F., Jang J., Salem M., Clark G., Enciso R. Efficacy of Low-Level Laser Therapy in the Treatment of Temporomandibular Myofascial Pain. *A Systematic Review and Meta-Analysis. J Oral Facial Pain Headache*, 2018, vol. 32(3), pp. 287–297. DOI: <https://doi.org/10.11607/ofph.2032>.
36. Nadershah M., Abdel-Alim H., Bayoumi A., Jan A., Elatrouni A., Jadu F. Photobiomodulation Therapy for Myofascial Pain in Temporomandibular Joint Dysfunction: A Double-Blinded Randomized Clinical Trial. *J Maxillofac Oral Surg.*, 2019, vol. 19(1), pp. 93–97. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12663-019-01222-z>.
37. Niraj G. Pathophysiology and Management of Abdominal Myofascial Pain Syndrome (AMPS): A Three-Year Prospective Audit of a Management Pathway in 120 Patients. *Pain Medicine*, 2018, vol. 19(11), pp. 2256–2266. DOI: <https://doi.org/10.1093/pm/pnx343>.
38. North American Association for Photobiomodulation Therapy: site. Available at: <https://www.naalt.org/about>.
39. Olavi A., Pekka R., Kolari P., Pöntinen P. Effects of the infrared laser therapy at treated and non-treated trigger points. *Acupunct Electrother Res.*, 1989, vol. 14(1), pp. 9–14. DOI: <https://doi.org/10.3727/036012989816358560>.
40. Orssatto L., Detanico D., Kons R., Sakugawa R., Silva J., Diefenthaler F. Photobiomodulation Therapy Does Not Attenuate Fatigue and Muscle Damage in Judo Athletes: A Randomized, Triple-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Front Physiol.*, 2019, vol. 10. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00811>.
41. Passarella S., Karu T. Absorption of monochromatic and narrow band radiation in the visible and near IR by both mitochondrial and non-mitochondrial photoacceptors results in photobiomodulation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, vol. 140, pp. 344–358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.07.021>.
42. Paus R. Exploring the “brain-skin connection”: Leads and lessons from the hair follicle. *Curr Res Transl Med.*, 2016, vol. 64(4), pp. 207–214. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.retram.2016.10.003>.
43. Petersen T., Laslett M., Juhl C. Clinical classification in low back pain: best-evidence diagnostic rules based on systematic reviews. *BMC Musculoskelet Disord.*, 2017, vol. 18(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12891-017-1549-6>.
44. Quintner J., Bove G., Cohen M. A critical evaluation of the trigger point phenomenon. *Rheumatology*, 2014, vol. 54(3), pp. 392–399. DOI: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keu471>.
45. Rachin A. Miofascial pain syndrome in clinician practice. *Russian Medical Journal*, 2015, vol. 28(23), pp. 1665–1668.
46. Rossato M., Dellagrana R., Lanferdini F. et al. Effect of pre-exercise phototherapy applied with different cluster probe sizes on elbow flexor muscle fatigue. *Lasers Med Sci.*, 2016, vol. 31(6), pp. 1237–1244. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-016-1973-0>.
47. Russek L. *Physical Rehabilitation*. 7th ed. Philadelphia, F.A.Davis Company, 2021, pp. 1081–1133.
48. Saxena A., Chansoria M., Tomar G., Kumar A. Myofascial Pain Syndrome: An Overview. *J Pain Palliat Care Pharmacother*, 2015, vol. 29(1), pp. 16–21. DOI: <https://doi.org/10.3109/15360288.2014.997853>.
49. Shahmoridi D., Shafiei S., Yousefian B. The Effectiveness of the Polarized Low-Level Laser in the Treatment of Patients With Myofascial Trigger Points in the Trapezius Muscles. *J Lasers Med Sci.*, 2020, vol. 11(1), pp. 14–19. DOI: <https://doi.org/10.15171/jlms.2020.04>.

50. Sharan D. Myofascial pain syndrome: Diagnosis and management. *Indian J Rheumatol.*, 2014, vol. 9, pp. S22–S25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.injr.2014.09.013>.

51. Simons D., Travell J., Simons L. Myofascial Pain And Dysfunction. The Trigger Point Manual 2nd ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 1999, pp. 53–56.

52. Sousa D., Gonçalves M., Politti F. et al. Photobiomodulation with simultaneous use of red and infrared light emitting diodes in the treatment of temporomandibular disorder. *Medicine (Baltimore)*, 2019, vol. 98(6), e14391. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000014391>.

53. Vanin A., Verhagen E., Barboza S., Costa L., Leal-Junior E. Photobiomodulation therapy for the improvement of muscular performance and reduction of muscular fatigue associated with exercise in healthy people: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci.*, 2017, vol. 33(1), pp. 181–214. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2368-6>.

54. Vazquez-Delgado E., Cascos-Romero J., Gay-Escoda C. Myofascial pain syndrome associated with trigger points: A literature review. (I): Epidemiology, clinical treatment and etiopathogeny. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2009, e494-e498. DOI: <https://doi.org/10.4317/medoral.14.e494>.

55. WALT. Recommended Treatment Doses For Low Level Laser Therapy 780-860 Nm // Wave-length: World Association For Laser Therapy, 2010 Available at: https://waltza.co.za/wp-content/uploads/2012/08/Dose_table_780-860nm_for_Low_Level_Laser_Therapy_WALT-2010.pdf.

ANNA N. BELOVA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (anbelova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9719-6772>).

ANNA P. BAVRINA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Medical Physics and Informatics, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (annabavr@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8775-7297>).

NATALIA Yu. LITVINOVA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (ny7171@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6978-139X>).

ANNA V. BESPALOVA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (annetsyg@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1599-6771>).

YULIYA A. ISRAELYAN – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (ija07@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4480-1884>).

VILIYAM O. SUSHIN – Assistant Lecturer, Departments of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (sushin.nn@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2346-7810>).

ANASTASIYA V. REZENOVA – Assistant Lecturer, Department of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (seule1993@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6478-8077>).

MARIA A. SHABANOVA – Assistant Lecturer, Departments of Medical Rehabilitation, Privolzhsky Research Medical University (PIMU), Russia, Nizhny Novgorod (bilberry47@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8160-1208>).

Формат цитирования: Белова А.Н., Баерина А.П., Литвинова Н.Ю., Беспалова А.В., Израелян Ю.А., Сушин В.О., Резенова А.М., Шабанова М.А. Метод фотобиомодуляции в терапии миофасциального болевого синдрома: нарративный обзор [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 2. – С. 50–63. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/7>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-50-63.

DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-64-79

УДК 615.277.3+616-006.04

ББК Р281.82+Р56,4-3

Е.Н. ШАМИТОВА, К.Г. МАТЬКОВ, Д.Д. ШИХРАНОВА, Р.Р. АБДУЛЛИН

НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ АНГИОПОЭТИНА-2 И ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ (VEGF) С ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЦЕЛЬЮ

Ключевые слова: ангиопоэтин-2, ангиогенез, факторы ангиогенеза, опухолевый ангиогенез, ингибиторы ангиогенеза, VEGF, фактор роста эндотелия сосудов.

Новые кровеносные сосуды органов и тканей образуются путем ангиогенеза, который может происходить как в норме, так и при росте опухоли. Ангиогенез поддерживает прочность и целостность связей клеток эндотелия кровеносных сосудов между собой и с базальной мембраной. Таким образом обеспечиваются питание тканей и органов, насыщение кислородом, макроэлементами и микроэлементами. Наряду с этим ангиогенез способствует своевременному выведению метаболических продуктов. Метастазирование и рост опухоли поддерживаются неконтролируемым ангиогенезом, именно поэтому важны работы по изучению нейтрализации факторов ангиогенеза, что становится методом борьбы с различными онкологическими заболеваниями и другими патологиями. Целью данной работы стали изучение информации о современных препаратах, в том числе находящихся на стадии клинических исследований, способных к нейтрализации ангиопоэтина-2 – ингибитора ангиогенеза и фактора роста сосудов (VEGF) – активатора ангиогенеза, оценка эффективности и безопасности различных доз препаратов при различных патологиях, анализ современного состояния изучения опухолевого ангиогенеза, достижений и перспектив использования антиангиогенных препаратов в онкологической практике. Основой упор был сделан на рассмотрение роли ингибиторов и активаторов ангиогенеза. Для построения и структурирования метаанализа мы провели систематический обзор литературы, выполнив поиск в открытых интернет-ресурсах, таких как PubMed, КиберЛенинка, PsycINFO, Elibrary, работ, опубликованных в период с 1 января 2016 г. по 31 марта 2021 г., посвященных исследованиям эффективности препаратов, направленных на нейтрализацию ангиопоэтина-2 и VEGF. Были проанализированы материалы конференций и диссертации, чтобы получить дополнительные данные об исследованиях в этой области.

Основой многих физиологических процессов является транспорт O_2 и различных питательных веществ. В настоящее время выделяют несколько механизмов роста новых сосудов [9]:

- 1) васкулогенез – эмбриональный рост сосудов;
- 2) ангиогенез – процесс, при котором из сети сосудов прорастают новые сосуды;
- 3) инвагинация стенки сосуда с последующим отделением нового сосуда;
- 4) кооптация – опухоль «присваивает» себе сосуды организма;
- 5) васкулогенная мимикрия – опухолевые клетки образуют эндотелий сосуда;
- 6) образование эндотелиоцитов из опухолевых клеток.

Васкулогенез, ангиогенез и инвагинация сосудистой стенки являются путями, присутствующими в норме, сосудистое кооптирование, васкулогенная мимикрия и образование эндотелиоцитов из опухолевых клеток характерны для канцерогенеза. Ангиогенез – основной путь роста сосудов.

Мозес Джуда Фолкман первым описал ангиогенез в опухоли в 1971 г. и показал, что опухоль не может расти более чем 2 мм в диаметре, тем самым предположив, что рост опухоли зависит от ангиогенеза, а блокада ангиогенеза может стать основой для лечения злокачественных новообразований

[13]. Ядро опухолевого узла быстро подвергается гипоксии. Опухолевые клетки начинают вырабатывать проангиогенные факторы, ответственные за рост и миграцию эндотелиальных клеток. В результате формируется новая сосудистая сеть, которая обеспечивает опухоль кислородом, факторами роста, питанием и протеолитическими ферментами [12]. Клетки, прикрепленные к стенкам микрососудов, называемые перicyтами, играют важную роль в стабилизации кровеносных сосудов. По своим маркерам, морфологии и происхождению они разнородны [7].

Типы ангиогенеза. Поддержание роста опухоли требует наличия кислорода и питательных веществ, которые будут поступать через хорошо развитую сосудистую сеть, которая формируется из существующих сосудов, а также через образование новых сосудов или использование предшественников эндотелиальных клеток из костного мозга. Сосуды, образующиеся в опухоли, дефектны как структурно, так и функционально. Эндотелиальные клетки, выстилающие кровеносные сосуды в опухоли, морфологически повреждены. Поддерживающие эндотелий перicyты разрыхлены или отсутствуют. Базальная мембрана утолщена или отсутствует, кровоток в опухоли дезорганизуется, а опухолевые клетки оказывают давление на кровеносные и лимфатические сосуды [4].

Регуляторы роста микрососудов. Ангиогенез, как и многие процессы в организме, регулируют стимуляторы и ингибиторы.

Стимуляторы А	Ингибиторы А
Представители семейства VEGF	Ангиостатин
bFGF/aFGF	Эндостатин
HGF	Вазостатин
PDGF	Тумстатин
TGF- α	Тромбоспондин
TGF- β	Ангиопоэтин-1
IGF-I	Активин А
Тромбин	Антитромбин
TNF- α (низкие дозы)	TNF- α (высокие дозы)
Интерлейкины (IL-1, IL-6, IL-8)	Интерлейкины (IL-12)
Ангиопоэтин-2	α -Интерферон
Эритропоэтин	Ангиотензин
G-CSF	Фрагмент пролактина с м.м. 16 кД
GM-CSF	Ламинин
MMP-1, -2 и -9	Металлоспондины
Плазмин	Макрофагальный фактор 4
Активаторы плазминогена uPA/tPA	РАI
Ангиогенин	Фибронектин
Интегрины (α V β 3, α V β 5, α V β 8)	PEX (С-концевой фрагмент MMP-2)
Кадгерины (VE-кадгерин)	Фибулин-5
Тромбоцитарный фактор роста ЭК	ТМРP-1/2
Фрагменты ВМ (пептидные участки ламинина, коллагена I типа или фибронектина)	Фрагменты HGF (NK-1, -2, -4)
Эстрогены	2-Метоксэстрадиол
Андрогены	Тропонин-1
Простагландины	Секретируемая форма рецептора bFGF
Фоллистатин	Секретируемая форма рецептора VEGFR-1
Пролиферин	Плацентарный белок, подобный пролиферину
Гиалуронат, олигосахариды	Гиалуронат, высокомолекулярные фракции
Ганглиозиды	Ретиноиды

Рис. 1. Регуляторы роста микрососудов [3]

Гипоксия развивается при быстром росте опухоли, из-за которого происходят повышение давления в тканевой жидкости, опережение роста опухолевых клеток над ростом клеток эндотелия, снижение скорости кровотока [21, 25]. Далее события происходят в следующем порядке:

- 1) более активная выработка HIF-1 α ;
- 2) HIF-1 α стимулирует выработку VEGF;
- 3) проницаемость сосудов повышается, нарушается структура сосудистой стенки;

- 4) гипоксия усугубляется;

- 5) площадь опухоли растет;

- 6) опухолевые клетки секретируют VEGF-A.

Высокие уровни VEGF в сыворотке крови выявляются при злокачественных новообразованиях, что объясняет, почему пациенты с повышенным VEGF выживают реже [25].

На поверхности эндотелиальных клеток выявлены рецепторы TIE-1 и TIE-2 (Тек), являющиеся тирокиназноактивными. Все известные ангиопоэтины специфически связываются с TIE-2 [5]. Ангиопоэтин-2 – антагонист ангиопоэтина-1 (стимулятора роста новых кровеносных сосудов).

Нарушение баланса, сопровождаемое либо усиленной экспрессией Ang-2 в сочетании с уменьшением продукции Ang-1, либо этими факторами в отдельности, стимулирует опухолевый ангиогенез. Происходит открепление перицитов от эндотелия, затем эндотелиальные клетки становятся доступными для действия стимуляторов ангиогенеза, усиливающих их пролиферацию, что в конечном счете способствуют формированию новых кровеносных сосудов [6].

Экспрессия генов, стимулирующих ангиогенез, регулируется гипоксией, а в условиях низкого содержания кислорода факторы HIF-1 α и HIF-2 α усиливают транскрипцию генов адаптации клеток к гипоксии, происходит дополнительная стимуляция ангиогенеза. HIF-1 α связывается с геном VEGF-A, что вызывает транскрипцию последнего. Параллельно HIF-1 α увеличивает выработку генов VEGFR-1-рецепторов и VEGFR-2-рецепторов. В то же время ингибитор гистондеацетилазы FK-228 подавляет не только активацию факторов HIF-1 α в ответ на гипоксию, но и выработку VEGF и A [22].

Миграции эндотелиальных клеток в периваскулярное пространство сопровождается частичным разрушением соединительнотканых элементов. Протеолитические ферменты, принимающие участие в этом процессе, – матриксные металлопротеиназы, синтезируемые в виде неактивных проформ. Матриксные MMP участвуют в метастазировании и ангиогенезе (см. рис. 2), расщепляют компоненты внеклеточного матрикса, эндогенные ингибиторы тканевого MMP (TIMP) способствуют расщепляющему действию матриксных металлопротеиназ.

Из всего вышесказанного делаем вывод, что ингибиторы ангиогенеза могут иметь различное происхождение:

- 1) производные не обладающих ангиоподавляющим действием белков;

- 2) производные способных подавлять ангиогенез белков.

Эндостатин является одним из главных эндогенных ангиоингибиторов, что объясняется высоким сродством данной белковой молекулы с гепарином. [26]. Вазостатин – фрагмент кальретикулина, ингибирующий разрастание эндотелиальных клеток в живом организме, а также ангиогенез и увеличение количества опухолевых клеток при проведении лабораторных опытов [27]. Канстатин – фрагмент коллагена IV типа, его антиангиогенное действие влияет на миграцию эндотелиальных клеток и вызывает их апоптоз [18].

MMP-1 (интерстициальная коллагеназа)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген I, II, III, VII и X типов; энтактин; агрекан; тенасцин; предшественники MMP-1 и -2; VEGF; белок, связывающий IGF; предшественник TNF-α
MMP-13 (коллагеназа-3)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген I, II, III, VI и X типов; агрекан; ламинин; фибронектин; витронектин; тенасцин; bFGF; предшественники MMP-9 и -13; предшественник TGF-β
MMP-2 (желатиназа A)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген I, IV, V, VI, VII, X и XI типов; ламинин; фибронектин; витронектин; энтактин; FGFR-1; белок, связывающий IGF; предшественники MMP-1, -9 и -13; предшественник TGF-β; VEGF; предшественник TNF-α; эндотелин-1
MMP-9 (желатиназа B)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген I, IV, V, VI, X и XI типов; агрекан; эластин; энтактин; фибронектин; витронектин; VEGF; предшественник TGF-β; bFGF; предшественник TNF-α; лиганд рецептора KIT; эндотелин-1
MMP-7 (матрилизин, PUMP)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген III, IV, IX, X и XI типов; эластин; фибрин; ламинин; энтактин; фибронектин; тенасцин; FasL; предшественники MMP-2 и -7; витронектин; предшественник TNF-α; предшественник TGF-β
MMP-3 (стромелизин-1)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген III, IV, V, VI, IX, X и XI типов; ламинин; предшественники MMP-1, -3, -7, -9 и -13; белок, связывающий IGF; остеоонектин; предшественник TNF-α; тенасцин; фибронектин; протеогликаны; предшественник TGF-β; bFGF
MMP-11 (стромелизин-3)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген IV типа; фибронектин; ламинин; агрекан; ингибитор α1-протеиназы
MMP-14 (Матриксная металлопротеиназа мембранного типа MT1-MMP)	<ul style="list-style-type: none"> • Коллаген I, II и III типов; фибрин; фибронектин; предшественники MMP-2 и -13; ингибитор α1-протеиназы; витронектин; протеогликаны; ламинин; тенасцин; агрекан; предшественник TGF-β; VEGF; bFGF, предшественник TNF-α
MMP-16 (Матриксная металлопротеиназа мембранного типа MT3-MMP)	<ul style="list-style-type: none"> • Предшественник MMP-2; коллаген III типа; фибронектин; ламинин; агрекан; витронектин
MMP-12 (макрофагальная металлоэстаза)	<ul style="list-style-type: none"> • Эластин; фибронектин; коллаген I и IV типов; остеоонектин; ингибитор α1-протеиназы; рецепторы урокиназы; витронектин

Рис. 2. Матриксные металлопротеиназы, участвующие в ангиогенезе и метастазировании, и их субстраты [8]

Применение этих соединений подавляет рост первичной опухоли и ее метастазов. Антиангиогенная терапия может быть использована для предотвращения рецидивов у пациентов группы повышенного риска. Основными терапевтическими эффектами ингибиторов ангиогенеза являются ингибирование пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, подавление действия стимуляторов ангиогенеза, активности и мобилизации эндотелиальных клеток-предшественников из костного мозга. Применение низких доз известных противоопухолевых препаратов, в частности циклофосфида, метотрексата или капецитабина в режиме метрономной химиотерапии (когда препараты применяются в уменьшенных и более частых дозах), показало их способность ингибировать ангиогенез [11]. В настоящее время проводят исследования по выявлению эффективности совместного применения метрономной химиотерапии и ингибиторов ангиогенеза. Механизм антиангиогенного действия метрономных режимов химиотерапии заключается в активации антиангиогенных и дезактивации ангиогенных факторов. В частности, повышаются уровни TSP-1 и эндостатина, подавляется экспрессия VEGF-A, HIF-1 α , PDGF-BB и FGF-2.

Следующий механизм действия метрономных схем химиотерапии – стимулирование иммунной системы – повышение активности цитотоксических Т-лимфоцитов через действие на них Т-регуляторных лимфоцитов [14]. Это является предпосылкой для теоретического обоснования применения метрономных режимов химиотерапии с новыми противоопухолевыми агентами – анти-PD1, анти-PDL1, анти-CTLA.

Существует теория о действии метрономных режимов химиотерапии на стволовые опухолевые клетки, дающих возможность длительного контроля заболевания [24].

Фармакологические препараты, обладающие антиангиогенной активностью. Изучение свойств фактора роста эндотелия сосудов и его рецепторов (рис. 3) позволило начать разработку препаратов, способных избирательно воздействовать на звенья сигнального пути фактора роста эндотелия сосудов. Препараты-ингибиторы VEGF – опосредованного ангиогенеза – делятся по механизму действия на три группы (см. рис. 4).

На рис. 5–11 приведены сведения об анти-VEGF препаратах, проходящих клинические испытания. Среди них представлены прямые ингибиторы ангиогенеза и опосредованно действующие препараты.

Бевацизумаб – первый ингибитор ангиогенеза, получивший широкое фармацевтическое применение. В его состав входят рекомбинантные поликлональные анти-VEGF – антитела, нейтрализующие все формы фактора роста эндотелия сосудов, что вызывает апоптоз опухолевых клеток [30].

Бевацизумаб рекомендован как препарат первой и второй линии терапии больных метастатическим колоректальным раком в комбинации с иринотеканом, флуороурацилом и кальций фолинатом [17].

Получены и разрабатываются препараты-ингибиторы тирозинкиназ, наиболее перспективные из них – подавляющие фосфорилирование более 80 типов киназ сунитиниб и сорафениб.



Рис. 3. Механизмы торможения ангиогенеза [25]

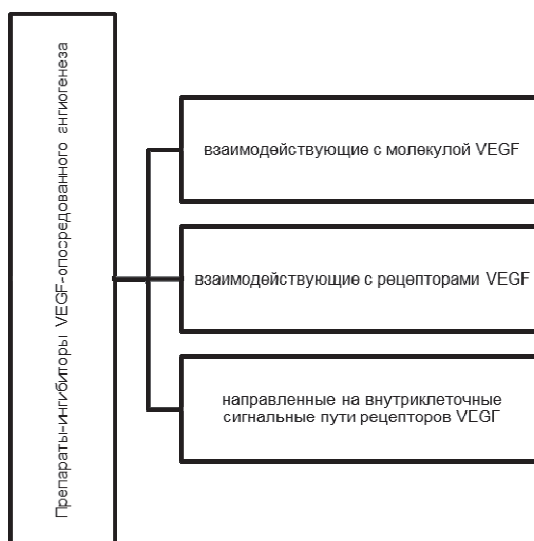


Рис. 4 Препараты-ингибиторы VEGF – опосредованного ангиогенеза [25]

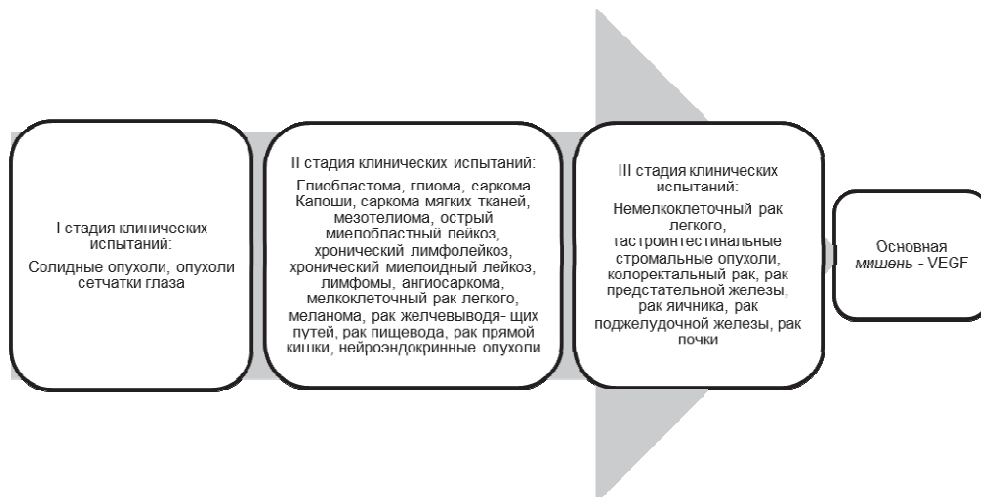


Рис. 5. Бевацизумаб [10, 16, 23, 32]

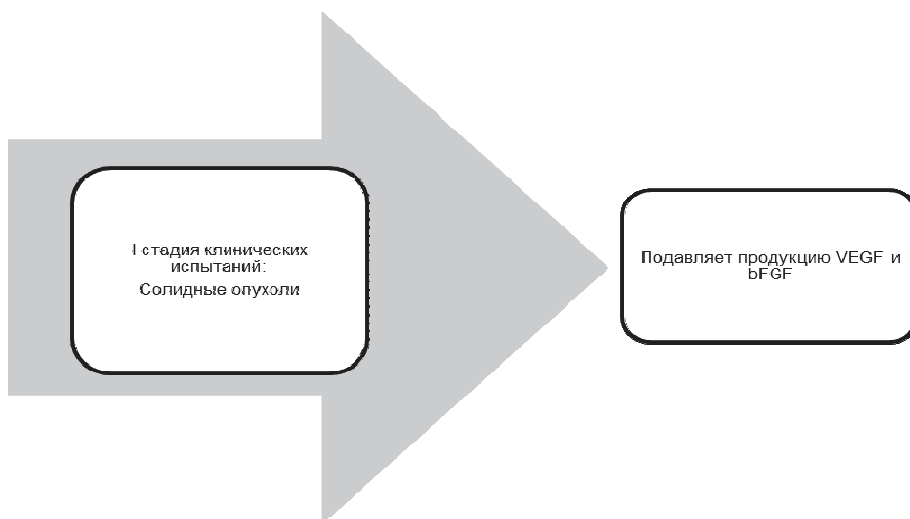


Рис. 6. Рекombинантный интерферон альфа-2b [10, 16, 23, 32]

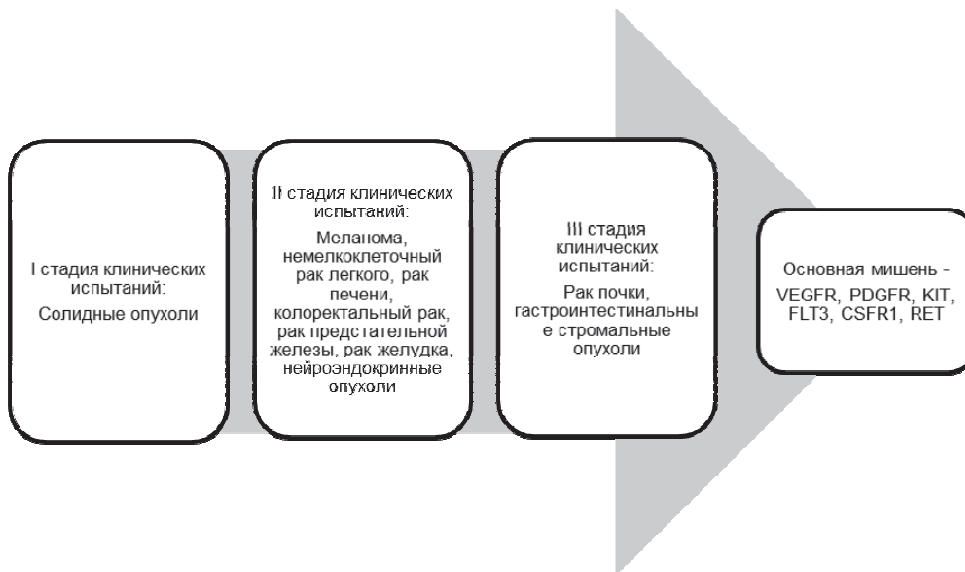


Рис. 7. Сунитиниб [10, 16, 23, 32]

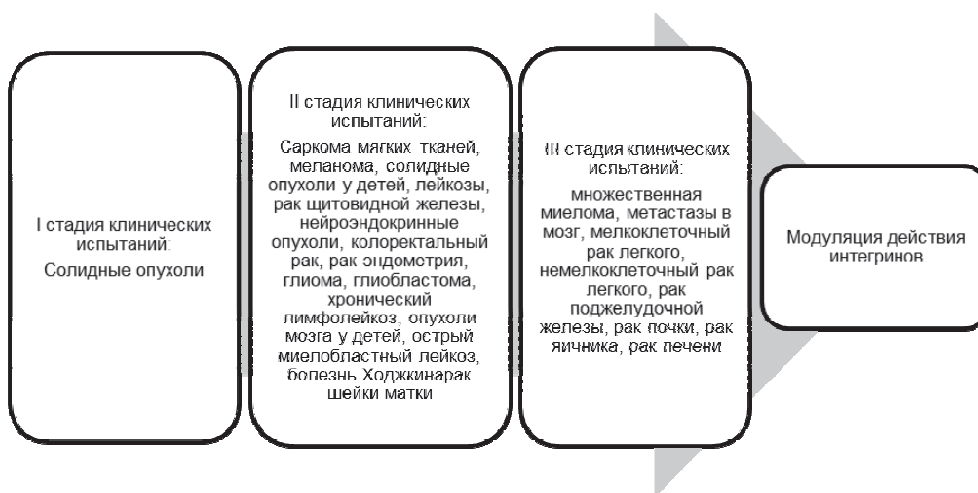


Рис. 8. Талидомид [10, 16, 23, 32]

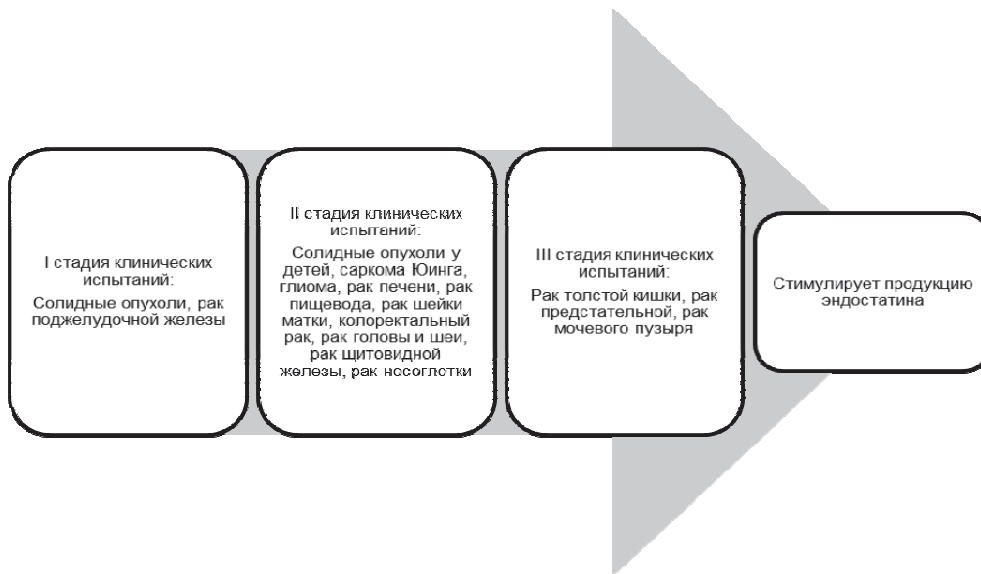


Рис. 9. Целекоксиб [10, 16, 23, 32]

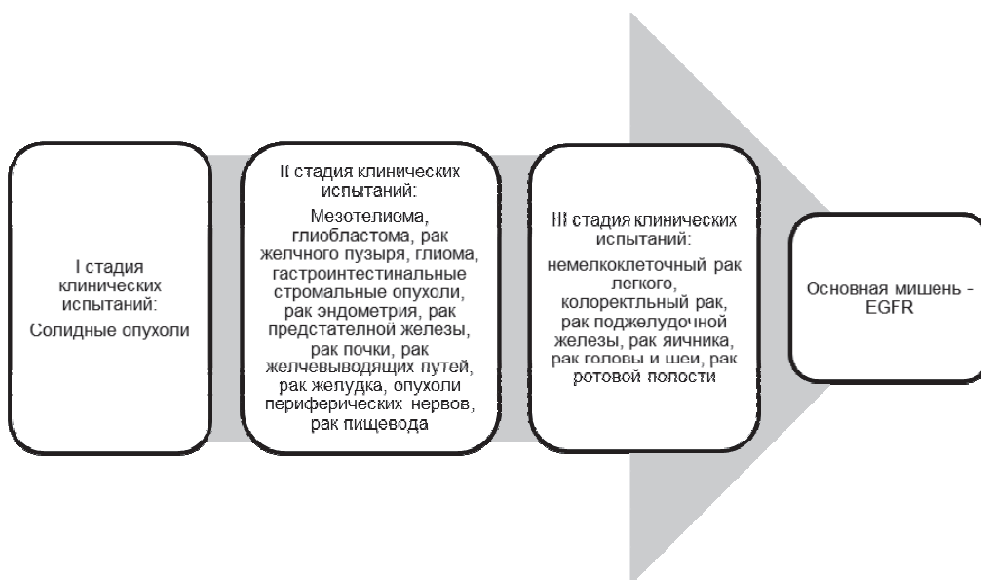


Рис. 10. Эрлотиниб [10, 16, 23, 32]

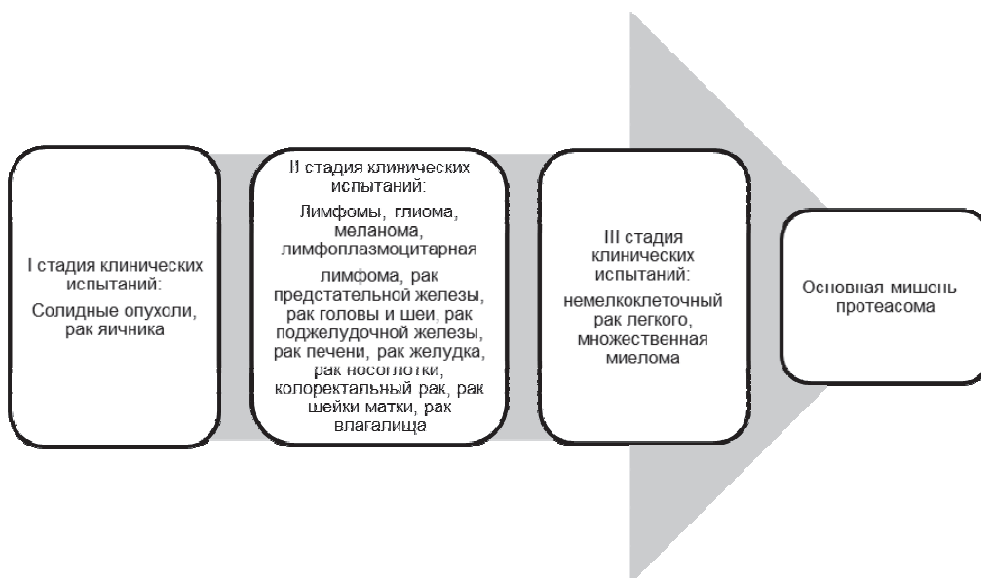


Рис. 11. Бортезомиб [10, 16, 23, 32]

Назначение ангиостина (одобрен для использования с 2005 г.) внутривенно как эндогенного ингибитора является не менее перспективным путем борьбы с солидными опухолями.

Известно, что многие цитокины обладают антиангиогенной активностью, но до сих пор для клинических испытаний были одобрены только ИФН- α и ИЛ-12. Первый из них обладает широким спектром биологических эффектов, включая противовирусное, противоопухолевое, антиангиогенное и антиметастатическое действие.

Однако все вышеперечисленные препараты в определенной степени токсичны. Конкретная информация о противопоказаниях к применению каждого из препаратов и вызванных ими побочных эффектах приводится в соответствующих фармацевтических рекомендациях.

В настоящее время особое внимание уделяется клиническим испытаниям ранибизумаба и фарицимаба.

Ранибизумаб представляет собой фрагмент гуманизированного антитела к эндотелиальному сосудистому фактору роста А (VEGF-A) и экспрессируется рекомбинантным штаммом *Escherichia coli*. Оно избирательно связывается с VEGF-A (VEGF110, VEGF121, VEGF165) и предотвращает его взаимодействие с рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток (VEGFR1 и VEGFR2), что приводит к подавлению неоваскуляризации и пролиферации эндотелиальных клеток [1].

Ингибируя пролиферацию эндотелиальных клеток, рост новых сосудов сосудистой оболочки и экссудацию из них, ранибизумаб останавливает прогрессирование неоваскулярной (влажной) формы возрастной макулярной дегенерации (nAMD), развитие хороидальной неоваскуляризации, в том числе вследствие патологической миопии, а также уменьшает макулярный отек, вторичный по отношению к диабетической ретинопатии и окклюзии (тромбоза) вен сетчатки, сопровождающийся снижением остроты зрения.

Безопасность и эффективность применения ранибизумаба при nAMD оценивалась в трех исследованиях: MARINA, PIER и ANCHOR (рис. 12).

Срок (год)	Число диагностических визитов с проведением ОКТ	Число инъекций препарата сравнения
Ранибизумаб, режим терапии PRN		
1	12,0 [17]	7,0 [17]
2	12	3,9 [25]
3	12	2,9 [25]
Ранибизумаб, режим терапии T&E		
1	7,7*	7,7 [20, 21]
2	5,1*	5,1 [20, 21]
3	5,1*	5,1*
Афлиберцепт		
1	8,5 [3, 15]	8,5 [3, 15]
2	6***	6**
3	6***	6**

Примечания: ОКТ — оптическая когерентная томография; * — допущение; ** — на основании выбранного режима дозирования; *** — допущение (число диагностических визитов равно числу инъекций).

Рис. 12. Число инъекций препаратов сравнения и дополнительных диагностических визитов в зависимости от сроков моделирования состояния пациентов при приеме определенного препарата [2]

Внедрение в офтальмологическую практику агентов противоваскулярного фактора роста эндотелия (анти-VEGF) продвинуло вперед лечение неоваскулярной возрастной дегенерации желтого пятна (nAMD), ведущей причины потери зрения среди пожилых пациентов в развитых странах [31]. Хотя лечение остается труднодостижимым, своевременное лечение анти-VEGF может помочь в достижении целей лечения nAMD, заключающихся в сушке пораженных сетчаток и улучшении или поддержании остроты зрения (VA) в течение длительных периодов времени. Несмотря на значительный прогресс, сохраняются пробелы и проблемы, включая стоимость и неудобства, связанные с частым лечением.

Чтобы преодолеть эти препятствия, специалисты по изучению поражений сетчатки разработали альтернативные схемы, в которых пациенты получают инъекции с увеличенными фиксированными интервалами по мере необходимости в зависимости от активности заболевания и стратегии лечения и продления (T&E). Цели этих подходов заключаются в следующем:

1) максимально эффективно и безопасно минимизировать активность эксудативных заболеваний, таких как выделение жидкости в сетчатке и кровоотечение;

2) поддерживать или улучшать остроту зрения;

3) уменьшать количество необходимых инъекций.

Сравнивая эффективность ранибизумаба с использованием схемы T&E с ежемесячным дозированием у ранее не получавших лечения пациентов с неоваскулярной возрастной дегенерацией желтого пятна (nAMD) через

24 месяца, исследователи установили, что режим T&E приводит к клинически значимому улучшению BCVA, которое было не хуже, чем ежемесячное лечение. Режим дозирования T&E с ранибизумабом позволяет достичь этих результатов с меньшим количеством инъекций и посещений, что может повысить удобство и снизить затраты для системы здравоохранения по сравнению с таковыми при ежемесячном дозировании [19].

Фарицимаб, первое биспецифическое антитело, разработанное для внутриглазного применения, одновременно и независимо связывает и нейтрализует ангиопоэтин (Ang)-2 и VEGF-A с высокой специфичностью и эффективностью.

Одновременная нейтрализация Ang-2 и VEGFG имеет дополнительные преимущества в доклинических моделях хороидальной неоваскуляризации (CNV). Предполагается, что у пациентов с nAMD противовоспалительный, антипроницаемый, антиангиогенный и сосудисто-стабилизирующий эффекты нейтрализации Ang-2 в дополнение к нейтрализации VEGF-A вносят вклад в эффективность лечения.

Фарицимаб оценивался во 2-й фазе клинических испытаний AVENUE, BOULEVARD и STAIRWAY у пациентов с nAMD и диабетическим макулярным отеком, соответственно.

AVENUE установил, что безопасность и эффективность фарицимаба при nAMD при фиксированных интервалах дозирования каждые 4 недели или каждые 8 недель были сопоставимы с ежемесячным приемом ранибизумаба [28].

BOULEVARD продемонстрировал улучшение остроты зрения при использовании фарицимаба по сравнению с ранибизумабом у ранее не получавших лечения пациентов с диабетическим макулярным отеком и потенциал для устойчивой эффективности, поскольку пациенты, получавшие фарицимаб, продолжали лечение до достижения критериев реактивации заболевания в период наблюдения вне лечения [29].

STAIRWAY установил, чтоб прием фарицимаба каждые 16 недель и каждые 12 недель приводил к сохранению исходного зрения и анатомическим улучшениям, сравнимым с ежемесячным приемом ранибизумаба [20].

Выводы. Таким образом, за последние десятилетия значительно прояснились молекулярные и клеточные механизмы, регулирующие образование *de novo* кровеносных сосудов, в том числе и при опухолевом росте. Благодаря активному изучению механизмов роста новых сосудов был выявлен фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), являющийся сейчас ведущим активирующим фактором ангиогенеза, а также ряд других ингибирующих и активирующих ангиогенез цитокинов. Общеизвестно, что основными регуляторами ангиогенеза являются ангиогенные факторы и их антагонисты, интегрин и матриксные металлопротеиназы. Популяризация этих исследований помогла разработать новые подходы к лечению онкологических больных, подавляющие рост первичной опухоли и ее метастазов. При лечении патологий сетчатки ингибиторы ангиогенеза оказали значительный эффект регрессии образующихся сосудов. Наряду с этим наблюдалось улучшение зрения.

В ближайшее время ученые работают над оптимизацией схем лечения, выявлением различий в механизме действия и клиническом эффекте разрабатываемых и уже разработанных препаратов, направленных сразу на несколько ключевых регуляторов ангиогенеза.

Литература

1. Государственный Реестр лекарственных средств, ЛСР-004567/08 [Электронный ресурс]. URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>.
2. Чеберда А.Е., Белоусов Д.Ю., Шишкин М.М. Фармакоэкономический анализ применения ранибизумаба и афлиберцепта для лечения пациентов с диабетическим макулярным отёком // Качественная клиническая практика. 2017. № 4. С. 17–30.
3. Чехонин В.П., Шеин С.А., Корчагина А.А., Гурина О.И. Роль vegf в развитии неопластического ангиогенеза // Вестник РАМН. 2012. № 2. С. 23–34.
4. Ярмоненко С.П. Новая парадигма комбинированной антиангиогенно -цитотоксической терапии рака // Российский биотерапевтический журнал. 2005. № 4. С. 50–58.
5. Bach F., Uddin F.J., Burke D. Angiopoietins in malignancy. *Eur J Surg Oncol*, 2007, vol. 33, no. 1, pp. 7–15.
6. Bertolini F., Shaked Y., Mancuso P., Kerbel R.S. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification. *Nat Rev Cancer*, 2006, vol. 6, no. 11, pp. 835–845.
7. Birbrair A., Zhang T., Wang Z.M., Messi M.L., Olson J.D., Mintz A., Delbono O. Type-2 pericytes participate in normal and tumoral angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, vol. 307, no. 1, pp. 25–38.
8. Brauer P.R. Role in cardiovascular development and disease. *Front Biosci*, 2006, vol. 11, pp. 447–478.
9. Carmeliet P., Jain R.K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011, vol. 473, no. 7347, pp. 298–307.
10. Ciombor K. K., Berlin J., Chano E. Aflibercept. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2013, vol. 19, no. 8, pp. 1920–1925.
11. Colleoni M., Rocca A., Sandri M.T., Zorzino L., Masci G. et al. Low-dose oral methotrexate and cyclophosphamide in metastatic breast cancer: antitumor activity and correlation with vascular endothelial growth factor levels. *Ann Oncol*, 2002, vol. 13, no. 1, pp. 73–80.
12. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr. Rev*, 2004, vol. 25, no. 4, pp. 581–611.
13. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*, 1971, vol. 285, no. 21, pp. 1182–1186.
14. Ghiringhelli F., Menard C., Puig P.E., Ladoire S., Roux S. et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+CD25+ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, vol. 56, no. 5, pp. 641–648.
15. Hu B., Cheng S.Y. Angiopoietin-2: development of inhibitors for cancer therapy. *Curr Oncol Rep*, 2009, vol. 11, no. 2, pp. 111–116.
16. Hu X., Cao J., Hu W., Wu C., Pan Y. et al. Multicenter phase II study of apatinib in non-triple-negative metastatic breast cancer. *BMC Cancer*, 2014, vol. 14, p. 820.
17. Hurwitz H., Saini S. Bevacizumab in the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: Safety Profile and Management of Adverse Events. *Seminars in oncology*, 2006, vol. 33, pp. 26–34.
18. Kamphaus G.D., Colorado P.C., Panka D.J., Hopfer H., Ramchandran R. et al. Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem*, 2000, vol. 275, no. 2, pp. 1209–1215.
19. Kertes P.J., Galic I.J., Greve M., Williams G., Baker J., Lahaie M., Sheidow T. Efficacy of a Treat-and-Extend Regimen With Ranibizumab in Patients With Neovascular Age-Related Macular Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol.*, 2020, vol. 138, no. 3, pp. 244–250.
20. Khanani A.M., Patel S.S., Ferrone P.J., Osborne A., Sahni J. et al. Efficacy of Every Four Monthly and Quarterly Dosing of Faricimab vs Ranibizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The STAIRWAY Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol*, 2020, vol. 138, no. 9, pp. 964–972.
21. Kristensen T., Knutsson M., Wehland M., Laursen B., Grimm D., Warnke E., Magnusson N. Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Breast Cancer. *International journal of molecular sciences*, 2014, vol. 15, no. 12, pp. 23024–23041.
22. Lee M.Y., Kim S.H., Kim H.S. et al. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by FK228, a specific histone deacetylase inhibitor, via suppression of HIF-1 α activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, vol. 300, no. 1, pp. 241–246.
23. Lu X., Sun X. Profile of conbercept in the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Drug Design, Development and Thersapy*, 2015, no. 9, pp. 2311–2320.
24. Martin-Padura I., Marighetti P., Agliano A., Colombo F., Larzabal L. et al. Residual dormant cancer stem-cell foci are responsible for tumor relapse after antiangiogenic metronomic therapy in hepatocellular carcinoma xenografts. *Lab Invest*, 2012, vol. 92, no. 7, pp. 952–966.

25. Niu G., Chen X. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy. *Curr Drug Targets*, 2010, vol. 11, no. 8, pp. 1000–1017.
26. O'Reilly M.S., Boehm T., Shing Y., Fukai N., Vasios G. et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 1997, vol. 88, no. 2, pp. 277–285.
27. Pike S.E., Yao L., Setsuda J., Jones K.D., Chermey B. et al. Calreticulin and calreticulin fragments are endothelial cell inhibitors that suppress tumor growth. *Blood*, 1999, vol. 94, no. 7, pp. 2461–2468.
28. Sahni J., Dugel P.U., Patel S.S., Chittum M.E., Berger B. et al. Safety and Efficacy of Different Doses and Regimens of Faricimab vs Ranibizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The AVENUE Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol*, 2020, vol. 138, no. 9, pp. 955–963.
29. Sahni J., Patel S.S., Dugel P.U., Khanani A.M., Jhaveri C.D. et al. Simultaneous Inhibition of Angiopoietin-2 and Vascular Endothelial Growth Factor-A with Faricimab in Diabetic Macular Edema: BOULEVARD Phase 2 Randomized Trial. *Ophthalmology*, 2019, vol. 126, no. 8, pp. 1155–1170.
30. Wedam S.B., Low J.A., Yang S.X., Chow C.K., Choyke P. et al. Antiangiogenic and antitumor effects of bevacizumab in patients with inflammatory and locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol*, 2006, vol. 24, no. 5, pp. 769–777.
31. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., Wong T.Y. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 2014, vol. 2, no. 2, pp. 106–116.
32. Zhang Y., Han Q., Ru Y., Bo Q., Wei R. Anti-VEGF treatment for myopic choroid neovascularization: From molecular characterization to update on clinical application. *Drug design, development and therapy*, 2015, no. 9, pp. 3413–3421.

ШАМИТОВА ЕЛЕНА НИКОЛАЕВНА – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (shamitva@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4642-7822>).

МАТЬКОВ КОНСТАНТИН ГЕННАДЬЕВИЧ – кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (shamitva@mail.ru).

ШИХРАНОВА ДАРЬЯ ДМИТРИЕВНА – студентка II курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (dashulyash@mail.ru).

АБДУЛЛИН РАМИС РАИСОВИЧ – студент II курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (aramis.tat-1998@mail.ru).

Elena N. SHAMITOVA, Konstantin G. MATKOV, Darya D. SHIKHRANOVA, Ramis R. ABDULLIN

NEUTRALIZATION OF ANGIOPOIETIN-2 AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) FOR THERAPEUTIC PURPOSES

Key words: angiopoietin-2, angiogenesis, angiogenesis factors, tumor angiogenesis, angiogenesis inhibitors, VEGF, vascular endothelial growth factor.

New blood vessels in organs and tissues are formed by angiogenesis, which can take place both in the normal condition and in tumour growth. Angiogenesis supports the strength and integrity of the connections in blood vessel endothelial cells with each other and with the basement membrane. This ensures nutrition of tissues and organs, saturation with oxygen, macronutrients and micronutrients. Along with this, angiogenesis contributes to timely elimination of metabolic products. Metastatic spreading and tumor growth are supported by uncontrolled angiogenesis, that is why it is important to study the works dedicated to neutralization of angiogenesis factors, which becomes a method of combating various oncological diseases and other pathologies. The aim of this work was to study the information about modern drugs, including those at the stage of clinical trials, capable of neutralizing angiopoietin-2 – an inhibitor of angiogenesis and vascular growth factor (VEGF) – an angiogenesis activator, to evaluate the effectiveness and safety of various doses of drugs in various pathologies, to analyze the current state of studying tumor angiogenesis, achievements and prospects for the use of antiangiogenic drugs in oncological practice. The main focus was on the role of angiogenesis inhibitors and activators. To construct and structure the meta-analysis, we conducted a systematic review of the literature, searching works in open Internet resources such as PubMed, CyberLeninka, PsycINFO, Elibrary, published in the period from January 1, 2016 to March 31, 2021, devoted to studies on the effectiveness of drugs aimed at neutralizing angiopoietin-2 and VEGF. Conference materials and dissertations were analyzed to obtain additional data on research in this area.

References

1. Gosudarstvennyi Reestr Lekarstvennykh Sredstv [State Register of Medicines], LSR-004567/08. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>.
2. Cheberda A.E., Belousov D.Yu., Shishkin M.M. *Farmakoeconomicheskii analiz primeneniya ranibizumaba i aflibertsepta dlya lecheniya patsientov s diabeticheskim makulyarnym otekom* [Pharmacoeconomic analysis of ranibizumab and aflibercept for treatment of diabetic macular edema]. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*, 2017, no. 4, pp. 17–30.
3. Chekhonin V.P., Shein S.A., Korchagina A.A., Gurina O.I. *Rol' vegf v razviti neoplasticheskogo angiogeneza* [VEGF in neoplastic angiogenesis]. *Vestnik RAMN*, 2012, no. 2, pp. 23–34.
4. Yarmonenko C. P. *Novaya paradigma kombinirovannoi antiangiogenno-tsitotoksicheskoi terapii raka* [A new paradigm for combination antiangiogenic-cytotoxic tumor therapy]. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*, 2005, no. 4, pp. 50–58.
5. Bach F., Uddin F.J., Burke D. Angiopoietins in malignancy. *Eur J Surg Oncol*, 2007, vol. 33, no. 1, pp. 7–15.
6. Bertolini F., Shaked Y., Mancuso P., Kerbel R.S. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification. *Nat Rev Cancer*, 2006, vol. 6, no. 11, pp. 835–845.
7. Birbrair A., Zhang T., Wang Z.M., Messi M.L., Olson J.D., Mintz A., Delbono O. Type-2 pericytes participate in normal and tumoral angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, vol. 307, no. 1, pp. 25–38.
8. Brauer P.R. Role in cardiovascular development and disease. *Fronot Biosci*, 2006, vol. 11, pp. 447–478.
9. Carmeliet P., Jain R.K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011, vol. 473, no. 7347, pp. 298–307.
10. Ciombor K. K., Berlin J., Chano E. Aflibercept. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2013, vol. 19, no. 8, pp. 1920–1925.
11. Colleoni M., Rocca A., Sandri M.T., Zorzino L., Masci G. et al. Low-dose oral methotrexate and cyclophosphamide in metastatic breast cancer: antitumor activity and correlation with vascular endothelial growth factor levels. *Ann Oncol*, 2002, vol. 13, no. 1, pp. 73–80.
12. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr. Rev*, 2004, vol. 25, no. 4, pp. 581–611.
13. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*, 1971, vol. 285, no. 21, pp. 1182–1186.
14. Ghiringhelli F., Menard C., Puig P.E., Ladoire S., Roux S. et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+CD25+ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, vol. 56, no. 5, pp. 641–648.
15. Hu B., Cheng S.Y. Angiopoietin-2: development of inhibitors for cancer therapy. *Curr Oncol Rep*, 2009, vol. 11, no. 2, pp. 111–116.
16. Hu X., Cao J., Hu W., Wu C., Pan Y. et al. Multicenter phase II study of apatinib in non-triple-negative metastatic breast cancer. *BMC Cancer*, 2014, vol. 14, p. 820.
17. Hurwitz H., Saini S. Bevacizumab in the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: Safety Profile and Management of Adverse Events. *Seminars in oncology*, 2006, vol. 33, pp. 26–34.
18. Kamphaus G.D., Colorado P.C., Panka D.J., Hopfer H., Ramchandran R. et al. Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem*, 2000, vol. 275, no. 2, pp. 1209–1215.
19. Kertes P.J., Galic I.J., Greve M., Williams G., Baker J., Lahaie M., Sheidow T. Efficacy of a Treat-and-Extend Regimen With Ranibizumab in Patients With Neovascular Age-Related Macular Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol.*, 2020, vol. 138, no. 3, pp. 244–250.
20. Khanani A.M., Patel S.S., Ferrone P.J., Osborne A., Sahni J. et al. Efficacy of Every Four Monthly and Quarterly Dosing of Faricimab vs Ranibizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The STAIRWAY Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol*, 2020, vol. 138, no. 9, pp. 964–972.
21. Kristensen T., Knutsson M., Wehland M., Laursen B., Grimm D., Warnke E., Magnusson N. Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in Breast Cancer. *International journal of molecular sciences*, 2014, vol. 15, no. 12, pp. 23024–23041.
22. Lee M.Y., Kim S.H., Kim H.S. et al. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by FK228, a specific histone deacetylase inhibitor, via suppression of HIF-1 α activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, vol. 300, no. 1, pp. 241–246.
23. Lu X., Sun X. Profile of conbercept in the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Drug Design, Development and Thersapy*, 2015, no. 9, pp. 2311–2320.
24. Martin-Padura I., Marighetti P., Agliano A., Colombo F., Larzabal L. et al. Residual dormant cancer stem-cell foci are responsible for tumor relapse after antiangiogenic metronomic therapy in hepatocellular carcinoma xenografts. *Lab Invest*, 2012, vol. 92, no. 7, pp. 952–966.

25. Niu G., Chen X. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy. *Curr Drug Targets*, 2010, vol. 11, no. 8, pp. 1000–1017.

26. O'Reilly M.S., Boehm T., Shing Y., Fukai N., Vasios G. et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 1997, vol. 88, no. 2, pp. 277–285.

27. Pike S.E., Yao L., Setsuda J., Jones K.D., Cherney B. et al. Calreticulin and calreticulin fragments are endothelial cell inhibitors that suppress tumor growth. *Blood*, 1999, vol. 94, no. 7, pp. 2461–2468.

28. Sahni J., Dugel P.U., Patel S.S., Chittum M.E., Berger B. et al. Safety and Efficacy of Different Doses and Regimens of Faricimab vs Ranibizumab in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: The AVENUE Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Ophthalmol*, 2020, vol. 138, no. 9, pp. 955–963.

29. Sahni J., Patel S.S., Dugel P.U., Khanani A.M., Jhaveri C.D. et al. Simultaneous Inhibition of Angiopoietin-2 and Vascular Endothelial Growth Factor-A with Faricimab in Diabetic Macular Edema: BOULEVARD Phase 2 Randomized Trial. *Ophthalmology*, 2019, vol. 126, no. 8, pp. 1155–1170.

30. Wedam S.B., Low J.A., Yang S.X., Chow C.K., Choyke P. et al. Antiangiogenic and antitumor effects of bevacizumab in patients with inflammatory and locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol*, 2006, vol. 24, no. 5, pp. 769–777.

31. Wong W.L., Su X., Li X., Cheung C.M., Klein R., Cheng C.Y., Wong T.Y. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 2014, vol. 2, no. 2, pp. 106–116.

32. Zhang Y., Han Q., Ru Y., Bo Q., Wei R. Anti-VEGF treatment for myopic choroid neovascularization: From molecular characterization to update on clinical application. *Drug design, development and therapy*, 2015, no. 9, pp. 3413–3421.

ELENA N. SHAMITOVA – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (shamitva@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4642-7822>).

KONSTANTIN G. MATKOV – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (shamitva@mail.ru).

DARYA D. SHIKHRANOVA – 2nd Year Student of the Medicine Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (dashulyash@mail.ru).

RAMIS R. ABDULLIN – 2nd Year Student of the Medicine Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (aramis.tat-1998@mail.ru).

Формат цитирования: Шамитова Е.Н., Матьков К.Г., Шихранова Д.Д., Абдуллин Р.Р. Нейтрализация ангиопоэтина-2 и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) с терапевтической целью [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2021. – № 2. – С. 64–79. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/8>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-64-79.

ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ «ONLINE TEST PAD» В ИЗУЧЕНИИ ДИСЦИПЛИНЫ «ПРОПЕДЕВТИКА СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»

***Ключевые слова:** интернет, мобильный телефон, электронное обучение, конструктор тестов, электронные учебные пособия, онлайн-тестирование, Online Test Pad, пропедевтика стоматологических заболеваний, высшее образование, студенты-стоматологи.*

Электронные средства обучения способствуют качественному улучшению подготовки будущих врачей-стоматологов. Дисциплина «Пропедевтика стоматологических заболеваний» является первичным звеном в подготовке специалиста врача-стоматолога. В статье приводится опыт преподавания дисциплины «Пропедевтика стоматологических заболеваний» с применением электронных и информационных технологий обучения. Дана качественная оценка современным методам обучения в условиях цифровизации высшего образования. Описан опыт авторов при оценке знаний и навыков на занятиях по дисциплине студентов второго курса стоматологической специальности. Сделан вывод о целесообразности использования электронных средств обучения, оценки знаний студентов, анализа успеваемости на примере «Online Test Pad». Главными достоинствами конструктора тестов «Online Test Pad» в работе преподавателя являются мгновенная обработка результатов тестирования и объективная оценка знаний обучающегося.

В целях развития стоматологического образования и подготовки специалиста врача-стоматолога в Российской Федерации 14 апреля 2005 г. по решению учёного совета ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» была создана кафедра пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий [5].

Пропедевтика является сложным разделом стоматологии. Содержание обучения дисциплины «Пропедевтика стоматологических заболеваний» формирует базу профессиональной деятельности будущих врачей-стоматологов. С этой целью студенты обучаются основам врачебной этики и деонтологии, общим принципам диагностики, семиотике заболеваний органов полости рта, начальным профессиональным мануальным навыкам.

Преподавание предмета «Пропедевтика стоматологических заболеваний» строится на основе знаний гуманитарных, естественно-научных, медико-биологических, медико-профилактических наук [1]. Общий объём знаний, который должен усвоить студент, за последние годы значительно возрос. В связи с этим приобретает актуальность задача оптимизации учебного процесса за счёт совершенствования методики преподавания и широко предлагаются электронные учебные материалы [2].

Согласно рабочей программе обучение студентов заключается в комплексном преподавании пропедевтики по всем разделам стоматологии. Так, студенты начальных курсов впервые знакомятся с профессией врача-стоматолога, обучаются мануальным навыкам на фантомах.

Коллектив кафедры на протяжении 15 лет сформировал учебно-методический комплекс по всем изучаемым разделам. Фонд печатных учебных и методических пособий ежегодно пересматривается и обновляется в соответствии с достижениями науки в области стоматологии. Новые учебно-методические пособия издаются в электронной форме на диске и в виде приложения на мобильном телефоне [3]. Таким образом, в полной мере решается проблема обеспеченности всех студентов литературой для самостоятельной подготовки.

Особенностями обучения дисциплины «Пропедевтики стоматологических заболеваний» является большой объем информации. При изучении данной дисциплины основное время уходит на самостоятельную, внеаудиторную работу, т.е. на работу с учебниками и учебными пособиями [9]. В целях повышения качества подготовки студента в методику преподавания были включены методические разработки для самостоятельной работы, разработанные в Московском государственном медико-стоматологическом университете имени А.И. Евдокимова. Рабочие тетради – визуализированные учебные пособия и практикумы для аудиторной и самостоятельной подготовки по каждому разделу дисциплины. Каждый студент первого курса приобретает рабочие тетради «Схематичное изображение контуров зубов», «Дезинфекция и стерилизация в стоматологии». Студенты второго курса работают с тетрадями «Анатомия зубов, зубных рядов. Биомеханика зубочелюстной системы», «Препарирование кариозных полостей», «Понятие о пародонте. Зубные отложения». Студенты третьего курса занимаются по тетрадям «Эндодонтия» и «Операция удаления зуба» [6].

Среди инновационных подходов к высшему образованию врача-стоматолога выделяют внедрение компьютерных средств и технологий обучения [4]. Лекционный материал представляется только в виде мультимедийных презентаций. Современный Интернет представляет большое количество услуг и сервисов, которые преподаватель высшей школы использует в своей работе [8]. В последние годы появились ресурсы Интернета, которые мгновенно позволяют за педагога выполнять работу по проверке выполненных заданий.

Более пяти лет на кафедре проводится онлайн-тестирование для контроля и оценки уровня знаний и навыков студентов по данной дисциплине. В качестве инструмента создания тестовых заданий используется многофункциональный бесплатный веб-сервис Online Test Pad [4]. Конструктор тестов Online Test Pad содержит более тысячи вопросов. Преподаватель кафедры получает возможность проводить тестирование с каждым студентом индивидуально. Исключается возможность списывания студентами, отображается время выполнения задания, проводятся автоматическая проверка и оценка результатов тестирования. После проведения тестирования преподаватель оценивает качество выполнения тестовых заданий и разбирает ошибки каждого студента, проводит анализ общих ошибок в своей работе. Тестирование в Online Test Pad исключает необходимость наличия компьютера или ноутбука с установленным приложением, студентам не требуется проходить регистрацию на сайте. Преподавателю достаточно знать свой логин и пароль, а также иметь доступ к устройству с выходом в Интернет. Студенты при прохождении тест-контроля используют свои мобильные телефоны. Процедура тестирования состоит в том, что преподаватель предоставляет доступ к тесту в виде ссылки в Интернете и студент на своём мобильном

телефоне открывает вопросы теста [7]. Главными достоинствами конструктора тестов «Online Test Pad» в работе преподавателя являются мгновенная обработка результатов тестирования и получение полной отчётности о среднем балле, характерных ошибках. Его использование для контроля успеваемости студентов является объективной оценкой знаний обучающегося, а также способом анализа работы преподавателя [10]. Результаты тестирования оцениваются по пятибалльной шкале на основании процента верно выполненных заданий. Данные результатов тестирования сохраняются в формате электронного файла Excel или PDF, а также используются при анализе успеваемости и при выведении балльно-рейтинговой оценки студента [11].

Приведём один из примеров онлайн-тестирования во время проведения промежуточной аттестации по дисциплине «Пропедевтика стоматологических заболеваний» студентов II курса. Банк тестовых заданий составил около 3000 вопросов. Из общего банка заданий автоматически было отобрано 30 вопросов. Время ответа на каждый вопрос составило одну минуту.

В каждой группе более 30 студентов, в каждой подгруппе от 15 до 18 студентов.

На рис. 1 приведены результаты онлайн-тестирования 17 студентов одной подгруппы: 12 студентов ответили на 30 вопросов в среднем за 20 минут. Из них: 3 студента ответили на оценку «отлично», 9 студентов получили оценку «хорошо», 3 студента выполнили задание «удовлетворительно», 2 студента получили оценку «неудовлетворительно». Средний балл по группе составил 72.

#	№	IP	Дата завершения	Потрачено времени	Фамилия, инициалы	Номер группы	Количество правильных ответов	Процент правильных ответов (%)	Ваша оценка:
1	100135552	79.133.154.105	17.05.2021 10:40	0:29:10	Гатауллин А.Л.	М-31-1-19	26	87	4
2	100134618	85.26.164.98	17.05.2021 10:37	0:26:13	Архипов А.Л.	М-31-1-19	24	80	4
3	100134401	85.249.29.25	17.05.2021 10:36	0:26:11	Самошкина А.С.	М-31-1-19	16	53	3
4	100134394	176.59.97.180	17.05.2021 10:36	0:25:19	Сяськин К.А.	М-31-1-19	16	53	3
5	100134293	83.149.19.158	17.05.2021 10:35	0:18:12	Салахутдинов И.Н.	М-31-1-19	20	67	4
6	100134279	176.59.102.0	17.05.2021 10:35	0:24:16	Ашмарина В.В.	М-31-1-19	28	93	5
7	100133944	85.26.235.216	17.05.2021 10:34	0:22:38	Федорова М.В.	М-31-1-19	30	100	5
8	100133885	176.59.99.249	17.05.2021 10:34	0:23:56	Тазетдинов И.В.	М-31-1-19	9	30	2
9	100133777	255.3.242.33	17.05.2021 10:33	0:24:19	Камнев А.Д.	М-31-1-19	26	87	4
10	100133769	85.26.234.252	17.05.2021 10:33	0:18:18	Симонов М.В.	М-31-1-19	25	83	4
11	100133722	242.111.172.17	17.05.2021 10:33	0:23:13	Макарова В.С.	М-31-1-19	23	77	4
12	100133661	188.162.54.57	17.05.2021 10:33	0:22:36	Иванов А.Э.	М-31-1-19	27	90	5
13	100133153	254.85.53.17	17.05.2021 10:31	0:21:03	Низамиева А.А.	М-31-1-19	24	80	4
14	100133133	85.249.29.231	17.05.2021 10:31	0:19:50	Габидуллин А.Р.	М-31-1-19	18	60	3
15	100133068	254.85.53.17	17.05.2021 10:30	0:20:38	Низамиева А.А.	М-31-1-19	22	73	4
16	100132982	85.249.28.55	17.05.2021 10:30	0:20:44	Мухамедзянов Р.Р.	М-31-1-19	23	77	4
17	100132982	85.249.28.55	17.05.2021 10:30	0:15:44	Гаврилов Р.А.	М-31-1-19	10	33	2

Рис. 1. Результаты онлайн-тестирования студентов II курса по дисциплине «Пропедевтика стоматологических заболеваний»

Информация о результатах онлайн-тестирования доступна для ознакомления студентам (рис. 2).

Далее представлены вопросы, на которые большинство студентов ответили неправильно (рис. 3).

Опыт преподавания дисциплины «Пропедевтика стоматологических заболеваний» с применением современных электронных методов и технологий обучения качественно меняет учебный процесс. В условиях современного информационного мира обучение становится более мобильным, доступным и эффективным. Ответом на возрастающие требования к качеству педагогического процесса в высшей школе является внедрение компьютерных средств и технологий обучения.

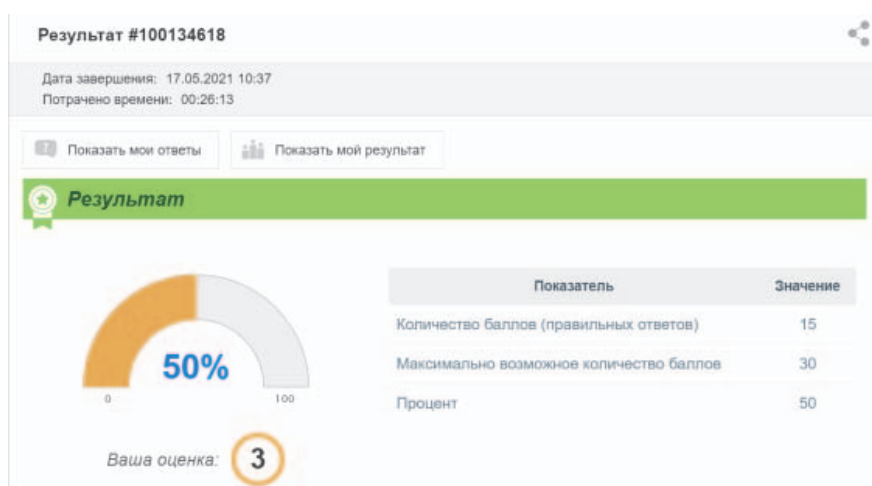




Рис. 2. Результат онлайн-тестирования студента



Какого класса по классификации Блэка поражение ТТЗ у данного пациента?

- IV.
- V.
- I.
- VI.
- II.
- III.



Назовите изображенный инструмент:

- Угловой наконечник для микромотора.
- Угловой наконечник для жесткого рукава.
- Эндодонтический наконечник
- Турбинный наконечник.
- Ультразвуковой скалер.

Рис. 3. Вопросы с неверными ответами

Выводы. Онлайн-конструктор тестов удобен при проведении занятий по всем дисциплинам стоматологии. Мгновенная обработка результатов тестирования и получение полной отчетности являются главными достоинствами конструктора Online Test Pad в работе преподавателя.

Литература

1. Быкова Ю.В., Клоктунова Н.А. Непрерывное педагогическое образование преподавателей высшей медицинской школы // За качественное образование: материалы V Всерос. форума (Саратов, 20–27 марта 2020 г.). Саратов: Саратов. гос. мед. ун-т, 2020. С. 67–71.
2. Вениг С.Б., Соловьева В.А. Трансформация образовательного пространства под влиянием информационных технологий // Информатизация образования и науки. 2017. № 1(33). С. 73–88.
3. Ершиков С.М., Смирнов Г.В., Комлев В.Л. Опыт использования виртуальной обучающей среды для проведения тестирования остаточных знаний студентов-стоматологов // Cathedra – Кафедра. Стоматологическое образование. 2020. № 72–73. С. 92–95.
4. Зорина Е.Е. Обзор образовательных возможностей Online Test Pad для занятий в вузе // Современное образование: содержание, технологии, качество: материалы конф. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского гос. электротехн. ун-та "ЛЭТИ" имени В.И. Ленина. 2020. Т. 1. С. 305–308.
5. Никитина Л.И. Пропедевтическая стоматология – фундамент высшего образования по специальности «Стоматология» // Актуальные проблемы формирования компетентностно-ориентированной образовательной среды: материалы III Междунар. учеб.-метод. конф. / под ред. В.Г. Агакова, А.Ю. Александрова, Е.Л. Николаева. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2012. С. 286–287.
6. Никитина Л.И., Громова А.С. «Пропедевтика стоматологических заболеваний» – фундамент высшего образования по стоматологии // За качественное образование: материалы V Всерос. форума (Саратов, 20–27 марта 2020 г.). Саратов: Саратов. гос. мед. ун-т имени В.И. Разумовского, 2020. С. 334–336.
7. Никитина Л.И., Громова А.С. Конструктор тестов "Online Test Pad" в помощь преподавателям кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий // Развитие экспортного потенциала высшего образования: содержание, опыт, перспективы: материалы XI Междунар. учеб.-метод. конф. (Чебоксары, 25 октября 2019 г.) / под ред. А.Ю. Александрова, Е.Л. Николаева, А.М. Шамсиева, Ш.А. Юсупова. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2019. С. 333–336.
8. Николаев А.М., Артемьева А.Н. Опыт применения облачных технологий при проведении лекционных занятий // Электронное обучение в вузе и школе: сб. материалов конф. (Санкт-Петербург, 20–24 апр. 2015 г.). СПб.: Астерион, 2015. С. 212–214.
9. Рамазанова А.Я., Клоктунова Н.А., Кудашева З.Э., Барсукова М.И. Условия эффективного обучения англоязычных студентов в медицинском вузе (на материале обучения дисциплине "Педагогика" в СГМУ им. В.И. Разумовского) // За качественное образование: материалы IV Всерос. форума. Саратов: Саратов. гос. мед. ун-т имени В.И. Разумовского, 2019. С. 132–136.
10. Федорина Ю.С. Конструкторы онлайн-тестов как средство контроля профессионально-ориентированных лексических навыков иноязычной речи // Наука. Технологии. Инновации: сб. науч. тр.: в 10 ч. / под ред. О.Е. Цыганковой. Новосибирск: Новосиб. гос. техн. ун-т, 2017. С. 246–250.
11. Lukoyanova M.A., Grigorieva K.S., Grigoriev S.G., Batrova N.I. The usage of IT in forming students' information competency. Revista Publicando, 2017, no. 4(13(1)), pp. 574–584.

НИКИТИНА ЛУИЗА ИВАНОВНА – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (prop.stom.zab@mail.ru).

ГРОМОВА АННА СЕРГЕЕВНА – лаборант кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (prop.stom.zab@mail.ru).

Louise I. NIKITINA, Anna S. GROMOVA

EDUCATIONAL OPPORTUNITIES OF "ONLINE TEST PAD" IN THE STUDY OF THE DISCIPLINE "PROPAEDEUTICS OF DENTAL DISEASES"

Key words: Internet, mobile phone, e-learning, test designer, electronic textbooks, online testing, Online Test Pad, propaedeutics of dental diseases, higher education, dental students.

Electronic learning tools contribute to the qualitative improvement in future dentists' training. The discipline "Propaedeutics of dental diseases" is the primary link in training a professional dental practitioner. The article presents the experience of teaching the discipline "Propaedeutics of dental diseases" with the use of electronic and information training technologies. It gives a qualitative assessment to modern teaching methods in the context of digitalization in higher education. The authors' experience in assessing second-year dental students' knowledge and skills in the lessons is described. The conclusion is made about advisability of using electronic tools in teaching, assessing students' knowledge, analyzing academic performance on the example of the "Online Test Pad". The main advantages of the test designer "Online Test Pad" in the work of a teacher are instant processing of the testing results and objective assessment of the student's knowledge.

References

1. Bykova Yu.V., Kloktunova N.A. *Neprieryvnoe pedagogicheskoe obrazovanie prepodavatelei vysshei meditsinskoj shkoly* [Continuous pedagogical education of teachers of higher medical school]. In: *Za kachestvennoe obrazovanie: materialy V Vseros. foruma (Saratov, 20–27 marta 2020 g.)* [Proc. of 5th Russ. Forum «For quality education» (Saratov, March 20–27, 2020)]. Saratov, Saratov State Medical University Publ., 2020, pp. 67–71.
2. Venig S.B., Solov'eva V.A. *Transformatsiya obrazovatel'nogo prostranstva pod vliyaniem informatsionnykh tekhnologii* [The educational system's changing: the role of informatization]. *Informatizatsiya obrazovaniya i nauki*, 2017, no. 1(33), pp. 73–88.
3. Ershikov S.M., Smirnov G.V., Komlev V.L. *Opyt ispol'zovaniya virtual'noi obuchayushchei sredy dlya provedeniya testirovaniya ostatochnykh znanii studentov-stomatologov* [Experience using a virtual learning environment to test the residual knowledge of dental students]. *Cathedra – Kafedra. Stomatologicheskoe obrazovanie*, 2020, no. 72-73, pp. 92–95.
4. Zorina E.E. *Obzor obrazovatel'nykh vozmozhnostei Online Test Pad dlya zanyatii v vuze* [Overview of Online Test Pad Educational Opportunities for Higher Education]. In: *Sovremennoe obrazovanie: sodержanie, tekhnologii, kachestvo: materialy konf.* [Proc. of Conf. «Modern education: content, technology, quality»]. St. Peppersburg, LETI Publ., 2020, vol. 1, pp. 305–308.
5. Nikitina L.I. *Propedevticheskaya stomatologiya – fundament vysshego obrazovaniya po spetsial'nosti «Stomatologiya»* [Propedemic dentistry is the foundation of higher education in the specialty of "Dentistry"]. In: *Aktual'nye problemy formirovaniya kompetentnostno-orientirovannoi obrazovatel'noi sredy: materialy III Mezhdunar. ucheb.-metod. konf.* [Proc. of 3rd Int. Sci. Conf. «Current problems of forming a competent-oriented educational environment»]. Cheboksary, Chuvash University Publ., 2012, pp. 286–287.
6. Nikitina L.I., Gromova A.S. *«Propedevtika stomatologicheskikh zabolevanii» – fundament vysshego obrazovaniya po stomatologii* ["Propedeutics of Dental Diseases" – the foundation of higher education in dentistry]. In: *Za kachestvennoe obrazovanie: materialy V Vseros. foruma (Saratov, 20–27 marta 2020 g.)* [Proc. of Russ. Forum «For quality education» (Saratov, March 20–27, 2020)]. Saratov, Saratov State Medical University Publ., 2020, pp. 334–336.
7. Nikitina L.I., Gromova A.S. *Konstruktor testov "Online Test Pad" v pomoshch' prepodavatelyu kafedry propedevtiki stomatologicheskikh zabolevanii i novykh tekhnologii* [The designer of tests "Online Test Pad" in aid of the teacher of the Department of Prodeutics of Dental Diseases and New Technologies]. In: *Razvitie eksportnogo potentsiala vysshego obrazovaniya: sodержanie, opyt, perspektivy: materialy XI Mezhdunar. ucheb.-metod. konf. (Cheboksary, 25 oktyabrya 2019 g.)* [Proc. of 11th Int. Sci. Conf. «Development of the export potential of higher education: content, experience, perspectives» (Cheboksary, October 25, 2019)]. Cheboksary, Chuvash University Publ., 2019, pp. 333–336.
8. Nikolaev A.M., Artem'eva A.N. *Opyt primeneniya oblachnykh tekhnologii pri provedenii lektsionnykh zanyatii* [Experience with cloud technology in lecture sessions]. In: *Elektronnoe obuchenie v vuze i shkole: sb. materialov konf. (Sankt-Peterburg, 20–24 apr. 2015 g.)* [Proc. of Conf. «E-learning at the university and school» St. Petersburg, 20–24 Apr., 2015)]. St. Peppersburg, Asterion Publ., 2015, pp. 212–214.
9. Ramazanova A.Ya., Kloktunova N.A., Kudasheva Z.E., Barsukova M.I. *Usloviya effektivnogo obucheniya angloyazychnykh studentov v meditsinskom vuze (na materiale obucheniya distsipline "Pedagogika" v SGMU im. V.I. Razumovskogo)* [Conditions of effective education of English-speaking students in medical school (on the material of the training discipline "Pedagogic" in the SGMU named after V.I. Razumovsky)]. In: *Za kachestvennoe obrazovanie: materialy IV Vseros. foruma* [Proc. of 4th Russ. Forum «For quality education»]. Saratov, Saratov State Medical University Publ., 2019, pp. 132–136.
10. Fedorina Yu.S. *Konstruktory onlain-testov kak sredstvo kontrolya professional'no-orientirovannykh leksicheskikh navykov inoyazychnoi rechi* [Designers of online tests as a means of controlling professionally-oriented lexical skills of foreign language speech]. In: Tsygankova O.E., ed. *Nauka. Tekhnologii. Innovatsii: sb. nauch. tr.: v 10 ch.* [Science. Technology. Innovation: a collection of scientific works. 10 parts]. Novosibirsk, Novosibirsk State Tekhnikal University, 2017, pp. 246–250.
11. Lukoyanova M.A., Grigorieva K.S., Grigoriev S.G., Batrova N.I. The usage of IT in forming students' information competency. *Revista Publicando*, 2017, no. 4(13(1)), pp. 574–584.

LOUISE I. NIKITINA – Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Propeadeutics of Dental Diseases and New Technologies, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (prop.stom.zab@mail.ru).

ANNA S. GROMOVA – Laboratory Assistant of the Department of Propeadeutics of Dental Diseases and New Technologies, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (prop.stom.zab@mail.ru).

Формат цитирования: *Никитина Л.И., Громова А.С.* Образовательные возможности «Online Test Pad» в изучении дисциплины «Пропедевтика стоматологических заболеваний» [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica*. – 2021. – № 2. – С. 80–85. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2021/2/9>. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-2-80-85.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- А.В. Голенков**
О БРЕДЕ КОРОНАВИРУСНОГО САМОПРЕЗРЕНИЯ..... 1
- В.А. Козлов, С.П. Сапожников, П.Б. Карышев, А.И. Фуфаева, В.Ю. Александрова, Ю.В. Васильева**
ТОНЗИЛОГЕННЫЙ АМИЛОИДОЗ..... 7
- А.Н. Кузнецов, А.Н. Белова, М.Г. Воловик, О.В. Воробьева, М.Е. Халак**
РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ СОЦИАЛЬНОГО ВНИМАНИЯ ДЕТЕЙ
С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА МЕТОДОМ АЙТРЕКИНГА
(предварительные результаты)..... 17

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- О.А. Бортникова, С.И. Павлова**
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛИКВИРИТИГЕНИНА
НА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ HeLa, PC-3, MCF-7..... 28
- Е.А. Григорьева, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева, А.Т. Смородченко**
РЕАКЦИЯ CD68-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС
НА ПОСТУПЛЕНИЕ КРЕМНИЯ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ 34

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ ИЗ ПРАКТИКИ

- Н.Ю. Тимофеева, О.Ю. Кострова, И.С. Стоменская, Н.В. Бубнова**
ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ И КОАГУЛОГРАММЫ
ПРИ ЛЕГКОМ ТЕЧЕНИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ 44

ОБЗОРЫ

- А.Н. Белова, А.П. Баерина, Н.Ю. Литвинова, А.В. Беспалова, Ю.А. Израелян, В.О. Сушин, А.М. Резенова, М.А. Шабанова**
МЕТОД ФОТОБИОМОДУЛЯЦИИ В ТЕРАПИИ МИОФАСЦИАЛЬНОГО БОЛЕВОГО
СИНДРОМА: НАРРАТИВНЫЙ ОБЗОР..... 50
- Е.Н. Шамитова, К.Г. Матьков, Д.Д. Шихранова, Р.Р. Абдуллин**
НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ АНГИОПОЭТИНА-2 И ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ
СОСУДОВ (VEGF) С ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЦЕЛЬЮ 64

ОПЫТ РАБОТЫ

- Л.И. Никитина, А.С. Громова**
ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ «ONLINE TEST PAD» В ИЗУЧЕНИИ
ДИСЦИПЛИНЫ «ПРОПЕДЕВТИКА СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»..... 80