

РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ



**Вестник Российского университета дружбы народов.
Серия: МЕДИЦИНА**

2022 Том 26 № 1

Тема номера: ФИЗИОЛОГИЯ

DOI: 10.22363/2313-0245-2022-26-1

<http://journals.rudn.ru/medicine>

Научный журнал

Издается с 1997 г.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-61206 от 30.03.2015 г.

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

КОБАЛАВА Жанна Давидовна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра пропедевтики внутренних болезней РУДН, Москва, Россия;

Заместитель главного редактора

СЕМЯТОВ Саид Мухаммятович, д.м.н., профессор, кафедра акушерства и гинекологии РУДН, Москва, Россия.

Ответственный секретарь

ГУРЬЯНОВА Светлана Владимировна, к.б.н., доцент, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

Члены редакционной коллегии

АКДИС Мубацел, профессор, Научно-исследовательский институт по аллергии и астме, Давос, Швейцария;

БАХНА Сами, профессор, Университет Луизианны, Шреверпорт, США;

БЛАГОНРАВОВ Михаил Львович, д.м.н., профессор, кафедра общей патологии и патологической физиологии им. В.А. Фролова РУДН, Москва, Россия;

БЫКОВ Илья Михайлович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия;

ВАЛЕНТА Рудольф, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия;

ВЕСЕЛКИН Николай Петрович, д.м.н., профессор, академик РАН, лаборатория 9, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия;

ГАБИБОВ Александр Габирович, академик РАН, д.х.н., профессор, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

ДЕЕВ Сергей Михайлович, д.б.н., профессор, академик РАН, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

ЕФРЕМОВ Анатолий Васильевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра патологической физиологии и клинической патофизиологии, Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия;

КАПЛАН Аллен, профессор, Медицинский университет Южной Каролины, Чарльстон, США;

КАТЕЛАРИС Конни, профессор, Университет Западного Сиднея, Сидней, Австралия;

КУСТОВИЦ Аднан, профессор, Имперский колледж Лондона, Лондон, Великобритания;

МАРТИН Брайан, профессор, директор Медицинского института Университета штата Огайо, Колумбус, Огайо, США;

МЕРКЭЛИ Бела, профессор, директор Кардиоцентра Университета Земмельвейса, Будапешт, Венгрия;

НАПАРСТЕК Яков, профессор, Университет Хадасса, Иерусалим, Израиль;

НОЗДРАЧЕВ Александр Данилович, д.м.н., профессор, академик РАН, лаборатория физиологии рецепции, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия;

РОЩЕВСКИЙ Михаил Павлович, д.м.н., профессор, академик РАН, отдел сравнительной кардиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия;

СЛАВЯНСКАЯ Татьяна Александровна, д.м.н., профессор, Институт иммунофизиологии, Москва, Россия;

ХАВИНСОН Владимир Хацкелевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;

ЧЕХАНОВЕР Аарон, профессор, лауреат Нобелевской премии, Медицинский и научно-исследовательский институт Раппапорта, Технион – Израильский технологический институт, Хайфа, Израиль.

RUDN University



RUDN JOURNAL OF MEDICINE

2022 Volume 26 No. 1

Theme of the issue: PHYSIOLOGY

DOI: 10.22363/2313-0245-2022-26-1

<http://journals.rudn.ru/medicine>

Founded in 1997

Founder: Peoples' Friendship University of Russia

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Zhanna D. KOBALAVA, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

Deputy Chief Editor

Said M., SEMYATOV MD, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia;

Executive Secretary

Svetlana V. GURYANOVA, Ph.D., Associate Professor, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

Members of Editorial Board

Rudolph VALENTA, MD, Professor MD, Medical University of Vienna, Vienna, Austria;

Mubacel AKDIS, MD, Professor, Research Institute for Allergy and Asthma, Davos, Switzerland;

Sami BAHNA, MD, Professor, University of Louisiana, Shreveport, USA;

Mikhail L. BLAGONRAVOV, MD, Professor, Frolov Department of General Pathology and Pathological Physiology, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia;

Ilya M. BYKOV, MD, Professor, Head of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia;

Aaron CIECHANOVER, MD, Professor, **Nobel Prize Winner**, Rappaport Medical and Research Institute, Technion – Israel Institute of Technology, Haifa, Israel;

Adnan CUSTOVIC, MD, Professor, Imperial College of London, London, Great Britain;

Alexander G. GABIBOV, D. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

Sergey M. DEEV, D. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

Anatoly V. EFREMOV, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Pathological Physiology and Clinical Pathophysiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

Allen KAPLAN, MD, Professor, University of Medicine, South Carolina, Charleston, USA;

Connie KATELARIS, MD, Professor, University of Western Sydney, Sydney, Australia;

Vladimir Kh. KHAVINSON, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology RAS, St. Petersburg, Russia;

Bryan MARTIN, MD, professor, Director of the Ohio State University Medical Institute, Columbus, Ohio, USA;

Bela MERKELY, MD, PhD, Professor and Chairman of Heart and Vascular Center, Rector of the University of Semmelweis, Budapest, Hungary;

Yakov NAPARSTEK, MD, Professor, University of Hadassah, Jerusalem, Israel;

Alexander D. NOZDRACHEV, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Laboratory of Reception Physiology Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;

Mikhail P. ROSHCHEVSKY, MD, Professor, RAS Academician, Comparative Cardiology Department, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia;

Tatiana A. SLAVYANSKAYA, MD, Professor, Institute of Immunofisiology, Moscow, Russia;

Nikolai P. VESELKIN, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Laboratory 9, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, St. Petersburg, Russia.

Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: МЕДИЦИНА

ISSN 2313-0261 (online); 2313-0245 (print)

Периодичность: 4 выпуска в год (ежеквартально).

Входит в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ.

Языки: русский, английский.

Материалы журнала размещаются на платформе РИНЦ Российской научной электронной библиотеки, Научная электронная библиотека КиберЛенинка, Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCOhost.

Цели, задачи и тематика журнала

Научный рецензируемый медицинский журнал «Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина» выходит ежеквартально с 1997 года.

Цель журнала – интегрировать результаты научных исследований и богатый опыт отечественных и зарубежных специалистов в области клинической медицины и медико-биологических проблем, в первую очередь в области онкологии, физиологии и нейробиологии, аллергологии и иммунологии, медицинской генетики и микробиологии, инфекционных болезней.

Каждый выпуск является тематическим. Тематика каждого выпуска объявляется заранее. Для публикаций принимаются оригинальные статьи, обзоры, а также описание клинических случаев и современных методов диагностики.

Публикации в журнале принимаются по отдельности как на русском или английском языках, так и на двух языках одновременно.

Авторы должны гарантировать, что статья не была опубликована раньше, в том числе частично и на других языках, и не находится на рассмотрении в других научных журналах.

Журнал ориентирован на ученых и преподавателей, аспирантов и молодых ученых, практических врачей, ведущих поисковые работы по разработке новых и по усовершенствованию существующих профилактических, диагностических, лечебных и реабилитационных методов.

На основании решения ВАК Министерства образования и науки РФ журнал входит в «Перечень периодических изданий, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук».

Редакционная коллегия журнала приглашает к сотрудничеству ученых и научные коллективы по подготовке специальных тематических выпусков журнала: <http://journals.rudn.ru/medicine/announcement/view/327>

Электронный адрес: medj@rudn.ru

Литературный редактор: К.В. Зенкин
Компьютерная верстка: М.В. Рогова

Адрес издательства:
115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3
Тел.: (495) 955-07-16; e-mail: publishing@rudn.ru

Почтовый адрес редакции
ул. Миклухо-Маклая, д. 8, Москва, Россия, 117198
Тел.: +7 (910) 465-15-37
e-mail: medj@rudn.ru

Подписано в печать 15.02.2022. Выход в свет 22.02.2022. Формат 70×100/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Tinos, Roboto».
Усл. печ. л. 9,34. Тираж 500 экз. Заказ № 4. Цена свободная.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский университет дружбы народов» (РУДН)
117198, Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
Отпечатано в типографии ИПК РУДН
115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3,
тел. (495) 952-04-41; publishing@rudn.ru

RUDN Journal of Medicine

ISSN 2313-0261 (online); 2313-0245 (print)

Publication frequency: 4 issues per year (quarterly)

Included in the list of peer-reviewed scientific publications of the higher attestation Commission of the Russian Federation.

Languages: Russian, English.

The journal articles are posted at databases: Russian Index of Science Citation, Electronic Journals Library Cyberleninka, Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCOhost.

Aim, tasks and topics of the journal

The “RUDN JOURNAL OF MEDICINE” is a quarterly journal that publishes peer-reviewed medical research papers since 1997.

A major goal of the journal is to integrate the results of basic and clinical research and rich experience of domestic and foreign experts in the field of clinical medicine and biomedical problems. Primary areas covered range from oncology, physiology and neurobiology, allergology and immunology, to medical genetics and microbiology, as well as infectious diseases.

Each issue is devoted to a specific medical topic that is announced in advance. We accept original research including important new tools and techniques, reviews, and clinical cases.

Papers may be submitted in Russian and/or English.

Authors must ensure that the article was not published elsewhere before, either as a whole or in part, in Russian or other languages. They should also guarantee that the paper submitted is not under consideration in other scientific journals.

The journal is intended for researchers, lecturers, graduate students and young scientists, practitioners who do research to develop new and improve existing preventive, diagnostic, therapeutic and rehabilitation methods.

The Editorial Board of the journal encourages individual researches and research teams to collaborate in preparing issues devoted to specific topics: <http://journals.rudn.ru/medicine/announcement/view/327>

Contact e-mail: medj@rudn.ru

Review editor *K.V. Zenkin*
Computer design *M.V. Rogova*

Address of the Editorial Board:
3 Ordzhonikidze str., 115419 Moscow, Russian Federation
Ph. +7 (495) 952-04-41
e-mail: publishing@rudn.ru

Postal Address of the Editorial Board:
Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198
Ph. +7 (495) 434-70-07; e-mail: medj@rudn.ru

Printing run 500 copies. Open price.

Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)
6 Miklukho-Maklaya str., 117198 Moscow, Russian Federation

Printed at RUDN Publishing House:
3 Ordzhonikidze str., 115419 Moscow, Russian Federation,
Ph. +7 (495) 952-04-41; e-mail: publishing@rudn.ru

СОДЕРЖАНИЕ**ТЕМА НОМЕРА: ФИЗИОЛОГИЯ**

- Атякшин Д.А., Костин А.А., Троценко И.Д., Шишкина В.В., Тиманн М., Бухвалов И.Б.**
Карбоксипептидаза А3 в структуре протеазного фенотипа тучных клеток: цитофизиологические аспекты.....9
- Guseynov N.A., Ivashkevich S.G., Boyko E.M.**
Physiological features of cells and microvasculature under the local hypothermia influence (Физиологические особенности клеток и микрососудистого русла под влиянием локальной гипотермии).....33
- Gedulyanov M.T., Kiyayeva E.V.**
Trace elements content in the hair of patients at the maxillofacial surgery department (Содержание микроэлементов в волосах пациентов отделения челюстно-лицевой хирургии).....41
- Беляев Н.Г., Лёвочкина Э.Д., Батурин В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В., Писков С.И.**
Динамика аутоантител к белкам кардиомиоцитов на разных этапах моделируемых мышечных нагрузок ...50
- Вафиев А.С.**
Функциональное состояние сетчатки кроликов после воздействия низкочастотного ультразвука: анализ показателей электроретинограммы61
- Каретникова А.Ю., Матвиенко У.А., Савинова Д.А., Деникаева Э.А., Дурнова Н.А.**
Влияние настоя Astragalus Membranaceus на обучение крыс в радиальном лабиринте68

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ

- Katel K.**
Nursing process application in Nepal teaching hospital
(Применение сестринского процесса в клинической больнице Непала)78
- Лебедева А.М., Березников А.В., Берсенева Е.А., Онуфрийчук Ю.О., Шкитин С.О., Макарец Н.В.**
Ошибки в диагностике как причины расхождения клинического и патологоанатомического диагнозов.....87

ХИРУРГИЯ. АНДРОЛОГИЯ

- Roitberg G.E., Dorosh J.V., Tarasova T.V., Saushev I.V., Tyurina E.P., Shuligina I.V.**
Reproductive potential repair in men with varicocele (Восстановление репродуктивного потенциала у мужчин с варикоцеле).....95

ПСИХИАТРИЯ

- Jahagirdar R.**
Depression prevalence in cancer patients: a cross sectional study (Распространенность депрессии среди пациентов с онкологическим заболеванием: перекрестное исследование).....102

CONTENTS

THEME OF THE ISSUE: PHYSIOLOGY

Atiakshin D.A., Kostin A.A., Trotsenko I.D., Shishkina V.V., Tiemann M., Buchwalow I.B. Carboxypeptidase A3 in the structure of the protease phenotype of mast cells: cytophysiological aspects	9
Guseynov N.A., Ivashkevich S.G., Boyko E.M. Physiological features of cells and microvasculature under the local hypothermia influence	34
Gedulyanov M.T., Kiyayeva E.V. Trace elements content in the hair of patients at the maxillofacial surgery department.....	42
Belyaev N.G., Levochkina E.D., Baturin V.A., Rzhepakovsky I.V., Abasova T.V., Piskov S.I. Auto- antibodies to cardiomyocyte proteins dynamics at different stages of simulated muscle loads.....	51
Vafiev A.S. The rabbits retina functional state after exposure to low-frequency ultrasound: electroretinogram indicators analysis	62
Karetnikova A.Yu., Matvienko U.A., Savinova D.A., Denikaeva E.A., Durnova N.A. Astragalus Membranaceus infusion effect on rats learning in the radial maze	69

SOCIAL HEALTH AND HEALTH PROTECTION

Katel K. Nursing process application in Nepal teaching hospital	79
Lebedeva A.M., Bereznikov A.V., Berseneva E.A., Onufriyukh Yu. O., Shkitin S.O., Makarets N.V. Diagnostics errors as the reasons for the discrepancy between clinical and pathoanatomical diagnoses	88

SURGERY. ANDROLOGY

Roitberg G.E., Dorosh J.V., Tarasova T.V., Saushev I.V., Tyurina E.P., Shuligina I.V. Reproductive potential repair in men with varicocele	96
--	----

PSYCHIATRY








Jahagirdar R. Depression prevalence in cancer patients: a cross sectional study	103
---	-----

ФИЗИОЛОГИЯ PHYSIOLOGY

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-9-33

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ
REVIEW


Карбоксипептидаза АЗ в структуре протеазного фенотипа тучных клеток: цитофизиологические аспекты

Д.А. Атякшин^{1,2}  , А.А. Костин¹ , И.Д. Троценко¹ ,
В.В. Шишкина² , М. Тиманн³ , И.Б. Бухвалов³ 

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

² Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, Российская Федерация

³ Институт гематопатологии, г. Гамбург, Германия

 atyakshin-da@rudn.ru

Аннотация. Карбоксипептидаза АЗ (СРАЗ) является специфической протеазой тучных клеток (ТК) с вариабельной экспрессией и входит в число преформированных компонентов секретома. СРАЗ принимает участие в регуляции состояния специфического тканевого микроокружения и компонентов интегративно-буферной метаболической среды при адаптивных и патологических процессах, затрагивая реализацию врожденного иммунитета, механизмы ангиогенеза, процессы ремоделирования межклеточного матрикса и др. Идентификация СРАЗ с помощью протоколов мультиплексной иммуногистохимии позволяет конкретизировать детали органоспецифических популяционных характеристик тучных клеток, включая протеазный фенотип, механизмы биогенеза с цито- и гистотопографическими критериями, а также особенности секреторных путей. Многочисленные биологические эффекты СРАЗ, включая участие в регуляции состояния легочной паренхимы и системного кровотока, в биогенезе и ремоделировании волокнистого компонента внеклеточного матрикса, в эпигенетическом репрограммировании, определяют важность фундаментальных исследований физиологической активности протеазы и ее вовлеченности в реализацию патологических процессов. Дальнейшие исследования будут способствовать раскрытию трансляционного значения характеристик экспрессии СРАЗ ТК в качестве прогностического фактора и перспективной молекулярной мишени терапии социально значимых заболеваний.

Ключевые слова: карбоксипептидаза АЗ, тучные клетки, секретом, гранулы, секреторные пути, специфическое тканевое микроокружение

Вклад авторов. Атякшин Д.А., Костин А.А., Тиманн М. — концепция и дизайн исследования; Атякшин Д.А., Троценко И.Д., Шишкина В.В. — сбор и обработка материалов; Атякшин Д.А., Бухвалов И.Б. — анализ полученных данных, написание текста.

© Атякшин Д.А., Костин А.А., Троценко И.Д., Шишкина В.В., Тиманн М., Бухвалов И.Б., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.12.2021. Принята 17.01.2022.

Для цитирования: Атякшин Д.А., Костин А.А., Троценко И.Д., Шишкина В.В., Тиманн М., Бухвалов И.Б. Карбокси-пептидаза А3 в структуре протеазного фенотипа тучных клеток: цитофизиологические аспекты // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 9–33. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-9-33


Carboxypeptidase A3 in the structure of the protease phenotype of mast cells: cytophysiological aspects

Dmitrii Atiakshin^{1,2}  , Andrey Kostin¹ , Ivan Trotsenko¹ ,
Victoria Shishkina² , Markus Tiemann³ , Igor Buchwalow³ 

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

²Voronezh N.N. Burdenko State Medical University, Voronezh, Russian Federation

³Institute for Hematopathology, Hamburg, Germany

 atyakshin-da@rudn.ru

Abstract. Carboxypeptidase A3 (CPA3) is a specific protease of mast cells (MC) with variable expression and appears to be one of the preformed components of the secretome. CPA3 is involved in regulation of the state of a specific tissue microenvironment and components of the integrative-buffer metabolic environment in adaptive and pathological processes; it affects implementation of the innate immunity, mechanisms of angiogenesis, processes of the extracellular matrix remodeling, etc. CPA3 identification using protocols of multiplex immunohistochemistry allows specifying details of the organ-specific mast cell population features, including the protease phenotype, mechanisms of biogenesis with cyto- and histotopographic criteria, and features of secretory pathways. Numerous biological effects of CPA3, including participation in the regulation of the pulmonary parenchyma and systemic blood flow, in biogenesis and remodeling of the fibrous component of the extracellular matrix, in epigenetic reprogramming, determine the importance of fundamental investigation of the physiological activity of protease and its involvement in the implementation of pathological processes. Further studies will contribute to the detection of the translational value of the mast cell CPA3 expression features as a prognostic factor and a promising molecular target for treatment of socially significant diseases.

Keywords: carboxypeptidase A3, mast cells, secretome, granules, secretory pathways, specific tissue microenvironment

Author contributions. Atiakshin D.A., Kostin A.A., Timann M. — concept and design of the study; Atiakshin D.A., Trotsenko I.D., Shishkina V.V. — collection and processing of materials; Atiakshin D.A., Buchwalow I.B. — analysis of the received data, writing the text.

Conflicts of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

Received 15.12.2021. Accepted 17.01.2022.

For citation: Atiakshin DA, Kostin AA, Trotsenko ID, Shishkina VV, Tiemann M, Buchwalow IB. Carboxypeptidase A3 in the structure of the protease phenotype of mast cells: cytophysiological aspects. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):9–33. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-9-33

Введение

Тучные клетки (ТК) являются важной частью иммунной системы и находятся в центре внимания многочисленных биомедицинских исследований. После открытия Паулем Эрлихом тучных клеток были получены многочисленные данные об особенностях их функционального потенциала в зависимости от состояния специфического тканевого микроокружения, включая сенсорные и регуляторные свойства к клеткам и неклеточным структурам экстрацеллюлярного матрикса [1–9]. Дифференцируясь от CD34+ клеток красного костного мозга, ТК поступают в кровеносное русло и выборочно заселяют различные ткани и органы, в которых происходит их созревание [10–12]. Регуляторное влияние на дифференцировку ТК оказывают цитокины, хемокины и факторы роста, включая некоторые интерлейкины (ИЛ): ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-33, фактор стволовых клеток, трансформирующий фактор роста бета и др. В итоге ТК приобретают секреторный фенотип, характеризующийся специфическим соотношением преформированных компонентов, включая протеазы, протеогликаны, лизосомальные ферменты, биогенные амины, факторы роста, хемокины, цитокины и др. [1, 13, 14]. Наиболее часто ТК человека классифицируют в соответствии с содержанием специфических протеаз — химазы и триптазы [15, 16]. В то же время наравне с ними карбоксипептидаза А3 (СРАЗ) является не менее обильным компонентом секрета тучных клеток в количественном отношении [17–21]. Биогенез СРАЗ начинается с процессов транскрипции в ядре, продолжаясь в цитоплазме ТК на рибосомах, цистернах эндоплазматической сети и посттрансляционными модификациями в комплексе Гольджи. В ходе дальнейшего процессинга СРАЗ становится активным ферментом при созревании гранул и приобретает характерную локализацию, определяя особенности цитологического и ультраструктурного фенотипа ТК. Различные секреторные механизмы

выведения СРАЗ во внеклеточный матрикс приводят к формированию биологических эффектов, наиболее значимыми среди которых можно считать реализацию врожденного иммунитета, регуляцию состояния специфического тканевого микроокружения и компонентов интегративно-буферной метаболической среды, участие в механизмах ангиогенеза, процессах ремоделирования межклеточного матрикса и др. Включение СРАЗ в формирование ряда биологических эффектов других специфических протеаз ТК расширяет диапазон функционального значения экзопептидазы. В частности, показана вовлеченность СРАЗ в патогенез рака, воспалительных заболеваний органов желудочно-кишечного тракта, дыхательной и сердечно-сосудистой систем, нарушений опорно-двигательного аппарата, в том числе благодаря регуляторным эффектам по отношению к состоянию интегративно-буферной метаболической среды специфического тканевого микроокружения и иммуногенезу [18, 22–39]. Кроме того, СРАЗ в плазме крови показал себя как объективный биомаркер для выявления пациентов с тяжелым течением COVID-19 [40].

Ключевая работа в области биологии ТК по систематизации морфофункциональных особенностей СРАЗ ТК была выполнена в 2009 году, [17] и к настоящему времени назрела необходимость дополнить имеющиеся сведения новыми результатами. Технологии иммуногистохимической визуализации СРАЗ раскрывают новые органоспецифические характеристики популяции ТК и предоставляют дополнительную информацию при интерпретации результатов морфологического анализа, важную как для повышения объективности диагностических алгоритмов, так и более точной оценки результатов проводимого лечения, включая протеазный фенотип, механизмы биогенеза с цито- и гистотопографическими критериями, а также особенности секреторных путей. Фундаментальные аспекты процессинга СРАЗ тучных клеток имеют важное прикладное

значение в качестве объекта диагностики, фармакологической мишени и критерия эффективности терапии.

Молекулярно-генетические аспекты

Информация о протеазах занимает около 5 % белок-кодирующих последовательностей генома человека, что позволяет уровню общего пула соответствующих мРНК в ТК находиться в сопоставимых величинах с результатами экспрессии генов «домашнего хозяйства». Вследствие высокого уровня экспрессии протеазы могут составлять третью часть от общего количества белков в цитоплазме ТК [16, 41–43]. СРАЗ входит в число специфических протеаз ТК, и в отличие от триптазы или химазы является цинк-содержащей металлопротеиназой с экзопептидазной активностью [21]. Ген СРАЗ человека состоит из 11 экзонов и локализован на 3 хромосоме 3 (3q24), формируя вместе с геном карбоксипептидазы В 1 поджелудочной железы (СРВ 1) обособленный локус «СРВ 1-СРАЗ». Данный локус расположен на границе с областью гена рецептора ангиотензина II типа с одной стороны и, с другой стороны, с генами *GYG1* и *HLTF*. Ген *GYG1* кодирует фермент гликогенин-1, участвующий в синтезе гликогена, а ген *HLTF* кодирует хеликазоподобный фактор транскрипции [21]. В гранулах ТК СРАЗ может составлять от 0,5 до 16 мкг/10⁶ тучных клеток в зависимости в зависимости от органной принадлежности [44]. При этом СРАЗ человека имеет гомологичные признаки СРАЗ грызунов по молекулярной организации и аминокислотным остаткам, участвующих в связывании цинка с субстратом [44, 45]. На сегодняшний день экспрессия гена СРАЗ обнаружена только в ТК, за возможным исключением базофильных лейкоцитов у пациентов с аллергическим анамнезом [41, 45–51]. У крыс до 0,5 % общего пула мРНК в ТК брюшной полости составляет мРНК СРАЗ, превышая экспрессионный уровень транскрипции гена актина [52].

В то же время, существуют органоспецифические особенности содержания СРАЗ в ТК, поскольку экспрессия гена СРАЗ может характеризоваться

высокой вариабельностью. Например, у грызунов экспрессия СРАЗ выявлялась в субпопуляции соединительнотканых ТК, находящихся в серозной полости, коже и подслизистой оболочки органов пищеварительного тракта, и не обнаруживалась в ТК слизистой оболочки кишечника и дыхательных путей [48, 52, 53–55]. У человека экспрессия карбоксипептидазы АЗ была выявлена в соединительнотканых ТК, обладающих, как правило, одновременным биогенезом триптазы и химазы [17, 56]. В то же время в проведенных исследованиях по выявлению специфических протеаз ТК мы обнаружили, что СРАЗ может экспрессироваться также и в триптаза-позитивных ТК человека с отсутствием химазы, в том числе в слизистой оболочке желудка и тонкой кишки. Аналогичные данные были получены в недавнем исследовании, показавшими различные уровни содержания СРАЗ в тучных клетках кожи, легких и кишечника [20]. ТК с экспрессией обеих специфических протеаз содержали СРАЗ в большем количестве по сравнению с фенотипом ТК «триптаза⁺химаза⁻». В то же время уровень экспрессии мРНК СРАЗ в некоторых ТК был противоположным содержанию специфической протеазы в клетке [20]. Присутствие СРАЗ в триптаза-позитивных ТК существенно дополняет данные о функциональной значимости локализации СРАЗ с химазой [17, 20]. Более того, при некоторых патологических состояниях были обнаружены химаза-негативные тучные клетки с экспрессией СРАЗ [37, 57–59].

Количественные показатели внутриклеточного содержания СРАЗ могут быть использованы в качестве маркера дифференцировки ТК, поскольку содержание протеазы возрастает во время созревания [53, 60, 61]. Известна определенная роль факторов транскрипции GATA в регуляции экспрессии гена СРАЗ [62, 63]. Наоборот, MTF, играющий важную роль в регуляции генов химазы и триптазы ТК, не оказывает влияния на транскрипцию гена СРАЗ [64]. Также было показано, что экспрессия гена СРАЗ существенно возрастает при влиянии глюкокортикоидов [65, 66]. В ТК легких была показана тесная связь экспрессии гена СРАЗ с содержанием мРНК триптазы, а не химазы [20].

Было сделано предположение, что на экспрессию гена СРАЗ влияют стимулы, связанные с врожденным, а не с адаптивным иммунитетом [17].

Биогенез СРАЗ в ТК реализуется в ходе последовательных внутриклеточных этапов синтеза и завершается постепенной укладкой ее в гранулах в комплексе с другими компонентами секретома. На завершающих этапах биогенеза СРАЗ представляет собой форму, обладающую биологической активностью. На предполагаемой структуре молекулы СРАЗ, по аналогии с панкреатической карбоксипептидазой В свиней, была предсказана ее глобулярная структура, представляющая собой трехслойный белок с расположением восьми β -цепей в центре и α -спиралями снаружи, активный локус которого расположен на С-конце β -слоя [17]. При этом в молекуле СРАЗ было предположено преобладание положительно заряженных аминокислотных остатков (Arg, Lys и His), что важно с точки зрения взаимодействия с полианионами секреторных гранул ТК в процессе интрагранулярной укладки, в частности, с гепарином. Секреторные гранулы как источник СРАЗ представляют собой уникальные внутриклеточные структуры с высокоспецифичной регуляцией активности выведения протеазы и других компонентов секретома за пределы материнской гранулы в цитозоль и внеклеточный матрикс [1, 17, 67–70].

Биогенез СРАЗ+ гранул тучных клеток

Начальные этапы формирования предшественников СРАЗ-позитивных гранул ТК происходят в ЭПС в процессе трансляции и транспорта белков, синтеза липидов и других компонентов секретома. В комплексе Гольджи СРАЗ последовательно перемещается от цис-отдела к транс-отделу и в конечном итоге отшнуровывается в составе транспортных везикул, покрытых клатрином [71–73]. Данные оформленные структуры, которые можно назвать «програнулами», могут соединяться друг с другом и ранними эндосомами, постепенно увеличиваясь в объеме [68, 74]. Механизмы слияния «програнул», происходящих с участием секретогранина III, до сих пор неизвестны и находятся в фокусе фундаментальных исследований [1]. Постепенное созревание «програнул» сопровождается выбо-

рочным накоплением в матриксе специфических протеаз, а также других компонентов секретома вместе со снижением рН интрагранулярной среды до 5,5 [61]. Согласно различным предположениям формирование окончательного промежуточного секреторного фенотипа может происходить как за счет селективного включения новых продуктов по мере прохождения в комплексе Гольджи (КГ), так и выборочного удаления некоторых продуктов в процессе созревания гранулы. В частности, с помощью гликозилирования секретом насыщается лизосомальными гидролазами [71, 75]. В механизмах включения СРАЗ в интрагранулярный матрикс принимают участие серглицин и гликозаминогликаны, обеспечивающие как накопление, так и регуляцию активности протеазы [1, 17, 76, 77]. Серглицин необходим для хранения СРАЗ и обладает способностью модулировать активность протеазы после секреции, принимая участие в транспорте, активации и взаимодействия с субстратами или клетками-мишенями. Следует особенно отметить зависимость количественного интрагранулярного распределения СРАЗ от биологических эффектов протеогликанов, принимающих участие в важнейших этапах процессинга и динамической аккумуляции преформированных компонентов секретома [1, 61, 78]. В частности, процессинг про-СРАЗ зависит от гепарина, ассоциированного с серглицином [79]. Данные свойства серглицина проявляются аналогичным образом при биогенезе триптазы и химазы [80–83]. При созревании проСРАЗ в зрелую специфическую протеазу ТК могут принимать участие цистеиновые протеазы, включая лизосомальные катепсины [84]. При этом особое значение принимают локализованные в секреторных гранулах катепсины E, C, S [85, 86]. Возможность окончательного завершения посттрансляционных изменений СРАЗ непосредственно в гранулах рассматривалась в работе Rath-Wolfson L. [87]. Степень процессинга про-СРАЗ в активную протеазу может зависеть как от возраста клеток, так и всего организма [87, 88].

При образовании секреторных лизосом комплекс Гольджи функционирует как сортировщик белков, создавая необходимые условия для селективного

включения и модификации ассоциированных с гранулами протеогликанов, а также сульфатирования углеводных и белковых компонентов, что позволяет осуществлять конститутивные и индуцируемые секреторные механизмы в адекватном объеме [71, 73, 78]. После отшнуровки от КГ секреторные «програнулы» постепенно увеличиваются в размерах и приобретают особенности строения центральной и периферической областей, обусловленные их качественным составом [1]. Высокая аккумуляция лизосомальных гидролаз в составе гранул послужила причиной использования термина «секреторные лизосомы». Созревание гранул сопровождается характерной аккумуляцией определенных компонентов секрета в конкретных областях, при этом формируются качественные особенности центральной и периферической зон, что находит свое отражение на результатах иммуногистохимического и ультраструктурного анализа.

В частности, слияние програнулы с поздней эндосомой приводит к формированию в секреторной лизосоме зоны с высокой плотностью аккумулярованного материала, которая ограничена по периферии люминальными везикулами [89] (рис. 1). Последующие этапы созревания гранул приводят к селективной концентрации регуляторных протеинов в центральной области, большая часть которых состоит из протеогликанов. Сформированное «ядро» гранулы является ареной многочисленных биохимических и пространственных преобразований, координирующих в дальнейшем специализированные ультраструктурные и функциональные события секреторной деятельности ТК. Как правило, центр гранулы насыщается комплексом серглицина с гепарином или хондроитинсульфатом [90]. В предыдущих исследованиях мы получили морфологические подтверждения данной закономерности, в частности, меньшие размеры гранул ТК после окрашивания толуидиновым синим по сравнению с иммуногистохимической идентификацией триптазы ТК [91].

Координирующая роль серглицина для интрагранулярного распределения специфических протеаз и других медиаторов связана с его химической структурой, обеспечивающей формирование

электростатических взаимодействий отрицательно заряженных гликозаминогликанов с участками специфических протеаз, обладающих позитивным зарядом [1].

Важным инструментом ТК для качественного и количественного изменения секрета гранул при их созревании и реализации некоторых механизмов секреторных путей является эндосомальный рециркулирующий компартмент [78] (рис. 1). Гранулы ТК могут стать источником формирования протеаза-содержащих экзосом, при этом не исключается включение в них СРАЗ (рис. 1) [92, 93]. По степени зрелости секреторные гранулы можно отнести к трем основным типам [1, 72, 78]. Гранулами I типа, по сути, являются эндосомы или лизосомы с люминальными везикулами. Ультраструктурный анализ свидетельствует о низкой степени уплотненности в них составных компонентов и преобладающее содержание микровезикул [94]. В механизмах объединения «програнул» с эндосомами, приводящих к формированию более крупной органеллы, принимает участие белок Rab5 [95] (рис. 1). Циклы объединения могут многократно повторяться между секреторными гранулами различной степени зрелости, приводя к формированию гранул II типа и сопровождаясь избирательным накоплением некоторых преформированных компонентов секрета в определенном соотношении [94, 95]. Исследования на ультраструктурном уровне выявили ряд отличий строения секреторных гранул I и II типов, в том числе образование в последних электронноплотного ядра, вокруг которого аккумуляруются мультивезикулярные тельца [72, 94]. Среди посредников Rab5-ассоциированного слияния секреторных гранул необходимо учитывать мембранный протеин VAMP8, который принимает участие в определении итоговых размеров гранул [96].

Скорость созревания до формата III типа может существенно различаться [68]. В соответствии с требуемой интенсивностью биогенеза в гранулах с характерной интрагранулярной укладкой аккумуляруются протеогликаны, преформированные компоненты секрета и другие медиаторы. Созревшие гранулы III типа обладают наиболее круп-

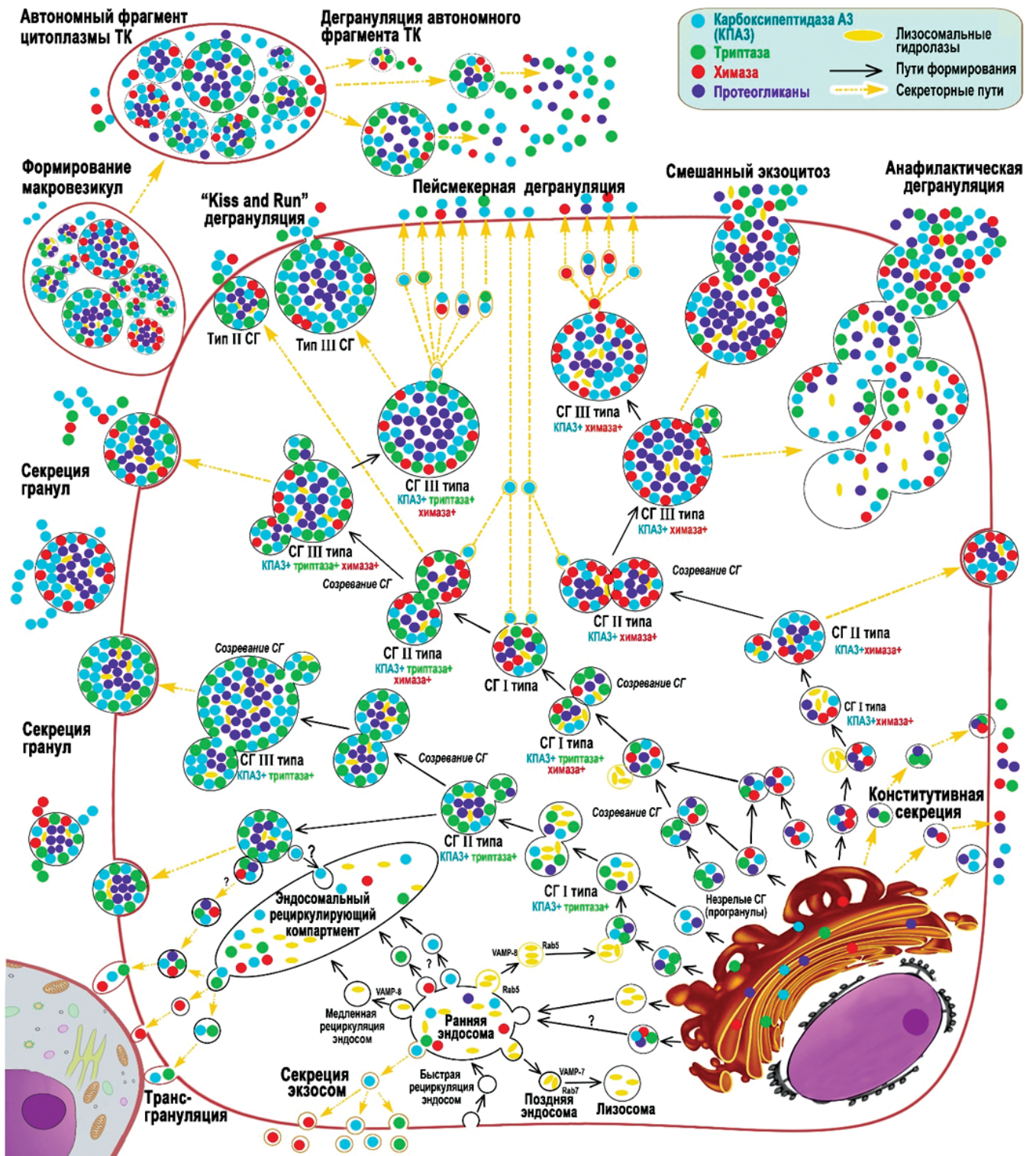


Рис. 1. Основные этапы биогенеза и секреторных путей карбоксипептидазы А3 (СРА3) тучных клеток с учетом цитотопографии, внутригранулярной локализации и секреторных механизмов. (адаптировано по Atiakshin DA с соавт., 2021)

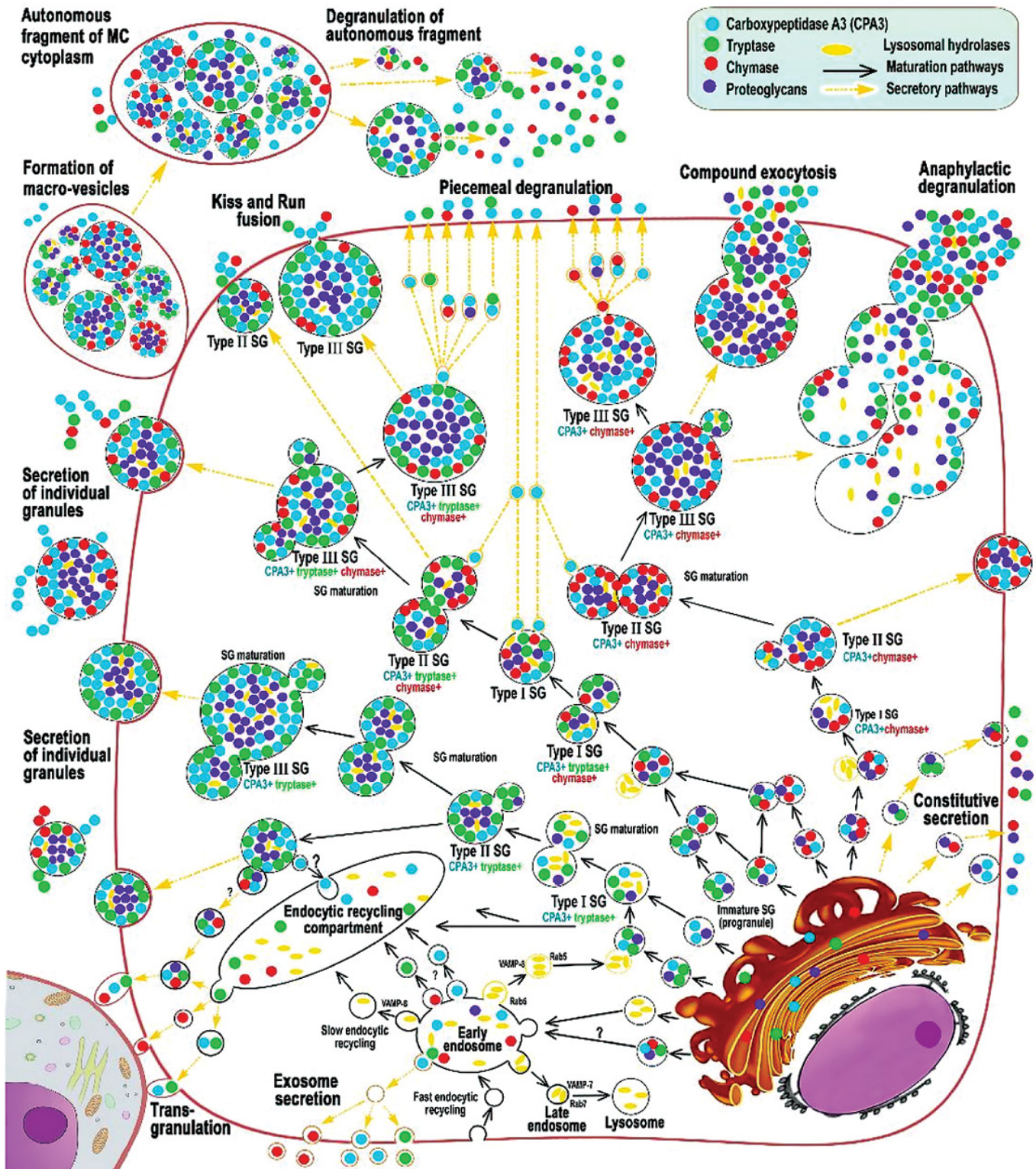


Fig.1. The main stages of biogenesis and secretory pathways of mast cell carboxypeptidase A3 (CPA3) in terms of cytopoglyphy, intragranular localization and secretory SG mechanisms (adapted from Atiakshin DA et al., 2021)

ными размерами, и при некоторых патологических состояниях могут достигать размера 1 мкм и более. Следует учитывать, что общая совокупность гранул с особенностями содержания медиаторов создают в определенном смысле неповторимый индивидуальный секреторный фенотип каждой ТК. Кроме того, зрелые гранулы сохраняют способность к динамичному изменению своего состава и, возможно, объема. В частности, процессы включения ряда медиаторов в состав гранулы или, наоборот, секреции сопряжены друг с другом. В некоторых из них принимает участие протеин синаптотегмин III, опосредующий селективный обмен и направленный транспорт некоторых компонентов секрета между эндосомальным рециркулирующим компартментом и секреторными гранулами [97]. В результате зрелые гранулы ТК могут накапливать арсенал специфических протеаз в тесной взаимосвязи с другими медиаторами (рис. 1). Поступление гистамина и серотонина в гранулы происходит с использованием системы везикулярного транспорта моноаминов. При этом повышение уровня гистамина в гранулах коррелирует с возрастанием концентрации специфических протеаз, что позволяет предположить различные механизмы данного биогенного амина в биогенезе триптазы, химазы и СРАЗ [76, 98]. На конечных этапах созревания секреторных гранул становится различимой преимущественная периферическая локализация СРАЗ, особенно в случае достижения ими крупных размеров гранул (рис. 2, 3).

При этом важной интрагранулярной особенностью СРАЗ по сравнению с другими специфическими протеазами ТК является более центральное расположение, внутри от локусов аккумуляции триптазы и химазы (рис. 3).

Некоторые компоненты секреторных гранул могут поступать в ТК из внеклеточного матрикса, в том числе фактор некроза опухолей, главный щелочной протеин эозинофилов, гистамин и др. [99–101]. При этом дискуссионным остается вопрос о функциональном значении данного явления по отношению к состоянию специфического тканевого микроокружения.

При наличии молекулярных сигналов для активации секреторных путей СРАЗ, особенно, в случае присутствия секреторных стимулов на протяжении длительного времени при хронизации патобиологических процессов, образование гранул интенсифицируется и сопровождается более активным формированием в КГ «програнул» с дальнейшими этапами созревания [13, 61, 74, 102, 103]. Подобно другим специфическим протеазам ТК, СРАЗ хранится в секреторных гранулах в активной форме. Это было показано для зрелых ТК в то время как в менее дифференцированных ТК костного мозга выявляли про-СРАЗ с сохраненным активационным пептидом, которая может доминировать над активной формой фермента [79, 88]. Низкая ферментативная активность время интрагранулярного хранения обеспечивается кислой средой гранул (рН 5,5), в то время как оптимальный рН для деятельности СРАЗ находится в диапазоне рН от 7 до 9.

Локализация карбоксипептидазы АЗ в гранулах отражается на их гомеостазе. Эксперименты на мышках с нокаутированным геном СРАЗ показали изменение гистохимических свойств тучных клеток, снижение эффекта метакромазии при отсутствии ультрамикроскопических изменений, а также тесную взаимосвязь содержания СРАЗ с другой специфической протеазой — Mouse Mast Cell Protease-5 (mMCP-5), являющейся аналогом химазы человека [104, 105]. При этом повышение содержания в тучных клетках СРАЗ сопровождалось возрастанием уровня mMCP-5, а недостаток mMCP-5 приводил к неспособности накопления в гранулах СРАЗ [85].

Фундаментальные исследования Dvorak AM позволили ей и коллегам приблизиться к пониманию физиологического значения локализации РНК в матриксе гранул [67, 106–108]. Благодаря полученным данным функция накопления, хранения и секреции медиаторов секреторных гранул тучных клеток, включая СРАЗ, была дополнена возможностью автономного биогенеза некоторых компонентов секрета. Данные процессы в секреторных гранулах могут происходить как внутриклеточно, так,

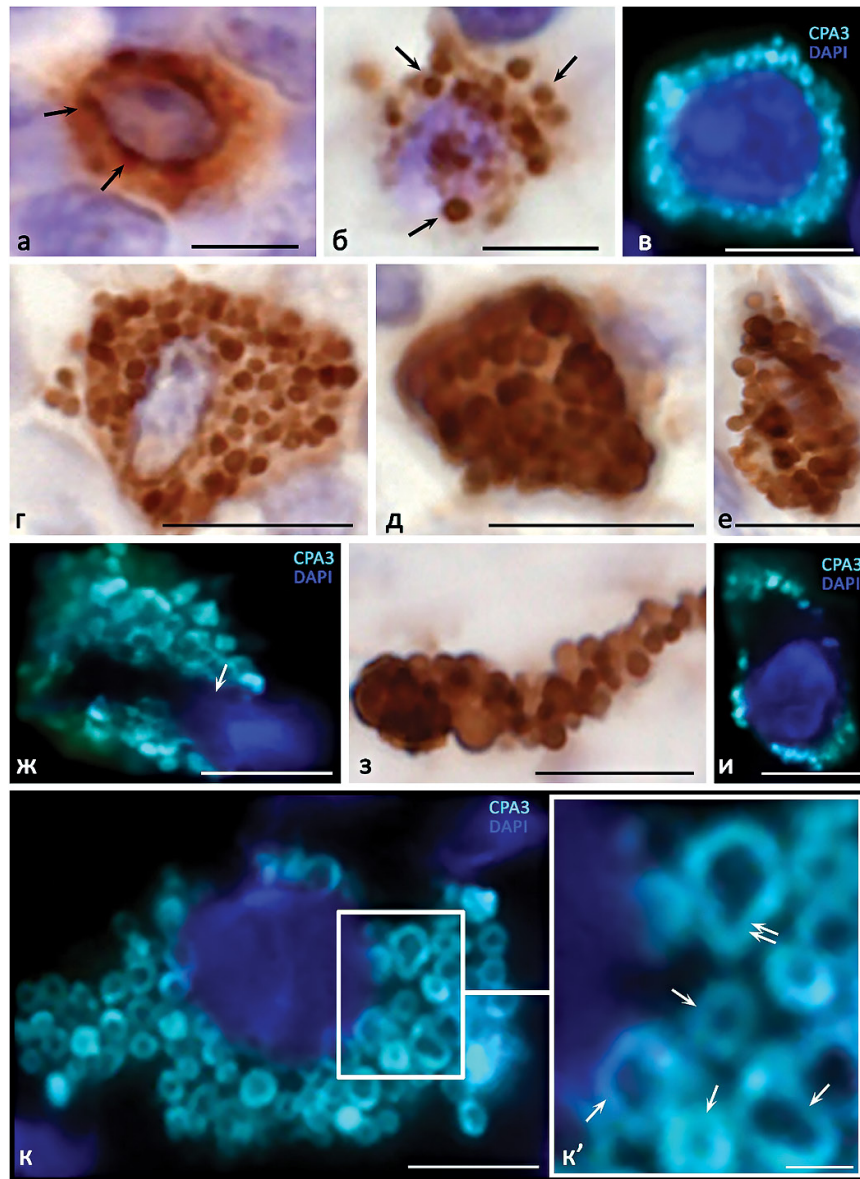


Рис. 2. Цитотопография и морфологические признаки биогенеза CPA3 ТК: (а) – тонзилла, начальные стадии интрагранулярной укладки CPA3 ТК; (б) - желудок, образование нескольких CPA3+гранул в ТК, свободно расположенных в цитоплазме; (в, г, д, е) - меланома кожи, различные варианты расположения CPA3+гранулами в цитоплазме; ж, з - меланома кожи, денуклеация ядра ТК; (з, и) - кожа, преимущественная периферическая локализация секреторных гранул в цитоплазме ТК; (к) - меланома кожи, общий вид тучной клетки, заполненной зрелыми CPA3-позитивными гранулами, протеаза расположена на периферии гранулы (указано стрелкой), происходит процесс гетеротипического слияния гранул, приводящий к увеличению итогового размера формирующейся структуры (двойная стрелка); масштабная шкала: к – 1 мкм; остальные – 5 мкм

Fig. 2. Cytophotography and morphological features of MC CPA3 biogenesis: (a) tonsillar, the initial stages of intragranular stacking of CPA3 MC; (б) stomach, formation of several CPA3+ granules in MC, freely located in the; (в, г, д, е) - skin melanoma, various options for the CPA3+ granules location in the cytoplasm; (ж, з) - skin melanoma; denucleation of the MC nucleus; (и) – skin, preferential peripheral localization of secretory granules in the MC cytoplasm; (к) - skin melanoma, general view of a mast cell filled with mature CPA3+ granules of an approximately equal size, the protease is located at the periphery of the granule (indicated by an arrow), the process of heterotypic fusion of granules occurs, leading to an increase in the final size of the forming structure (a double arrow); scale: к – 1 μm; the rest - 5 μm

очевидно, и продолжаться после секреции в межклеточный матрикс.

Цитотопографические особенности СРАЗ

Содержание СРАЗ в гранулах и количество СРАЗ⁺ гранул в цитоплазме ТК обладает широкой вариабельностью, от отсутствия или малого содержания до полного заполнения объема клетки (рис. 2–5). Локализация карбоксипептидаз в гранулах ТК убедительно показывается иммуногистохимическими протоколами и может быть использована для характеристики структуры популяции ТК (рис. 2–5) [109]. Технологии мультиплексной иммуногистохимии открывают новые особенности клеточной и интрагранулярной локализации СРАЗ в ТК с другими специфическими протеазами (рис. 2), а также характеристику гистотопографического расположения СРАЗ⁺ ТК в органах (рис. 5). Иммуноморфологическая оценка секреции СРАЗ к селективным мишеням специфического тканевого микроокружения способствует раскрытию ранее неизвестных деталей функционального потенциала экзопептидазы.

Закономерности распределения СРАЗ в гранулах до сих пор являются нераскрытым вопросом. Согласно нашим предположениям фермент образует макромолекулярные комплексы с гликозаминогликанами в гранулах в тесной взаимосвязи с триптазой и химазой. В то же время возможно избирательное взаимодействие СРАЗ с определенными протеогликанами гранул. В частности, такое суждение было сделано при анализе секреторных гранул после дегрануляции ТК, в которых обнаруживалась химаза с СРАЗ, либо только триптаза [46, 47, 53]. В то же время мы показали, что после дегрануляции в СРАЗ⁺ гранулах детектируется и триптаза (рис. 3). Таким образом, фенотип специфических протеаз секретиремых гранул может быть существенно вариабельным в зависимости от состояния специфического микроокружения. Это находит свое подтверждение в работах по иммуноморфологическому исследованию ТК, показавших наличие гранул с различным качественным составом [109]. Имеются данные

о необходимости колокализации СРАЗ с химазой для ее депонирования [17].

Наши результаты показывают, что в независимости от наличия триптазы или химазы СРАЗ может содержаться в гранулах тучных клеток в высоком количестве. В зависимости от уровня биогенеза гранул СРАЗ может занимать центральную область гранул, или быть в виде кольца по периферии (рис. 1–3). В любом случае необходимо отметить, что колокализация МС–СРАЗ в гранулах с другими специфическими протеазами происходит с внутренней стороны гранулы, иногда занимая всю площадь при гранулах небольших размеров (рис. 3).

С точки зрения электронной иммуногистохимии проводилась оценка локализации специфических протеаз в гранулах тучных клеток [110, 111]. ТК мукозной субпопуляции (с экспрессией триптазы) обладали гранулами «свиткоподобного ультраструктурного фенотипа» [112]. В этом случае в гранулах идентифицировались похожие на «свитки» однонаправленные концентрические пластины, в некоторых случаях окружающие «ядро» гранулы [110]. В соединительнотканной субпопуляции ТК с одновременной экспрессией триптазы и химазы гранулы имели специфичный ультраструктурный фенотип с малым количеством свитков и аморфной центральной областью, окруженной параллельными пластиноподобными структурами [112]. В зависимости от степени зрелости, центральная зона таких гранул могла содержать электронно-плотный материал в виде решетки, а также одно или несколько аморфных областей с высокой контрастностью [111]. Вместе с этим известны данные о возможности контурирования электронноплотных образований в различных вариантах, включая, помимо свитков, кристаллы, бусины и нитевидные образования [67, 113]. Очевидно, что данные структуры могут быть обусловлены взаимным расположением СРАЗ с триптазой и химазой, а также другими преформированными компонентами секретомы. В ранее выполненных работах показано принципиальная возможность солокализации СРАЗ с химазой, триптазой и катепсином G [112].

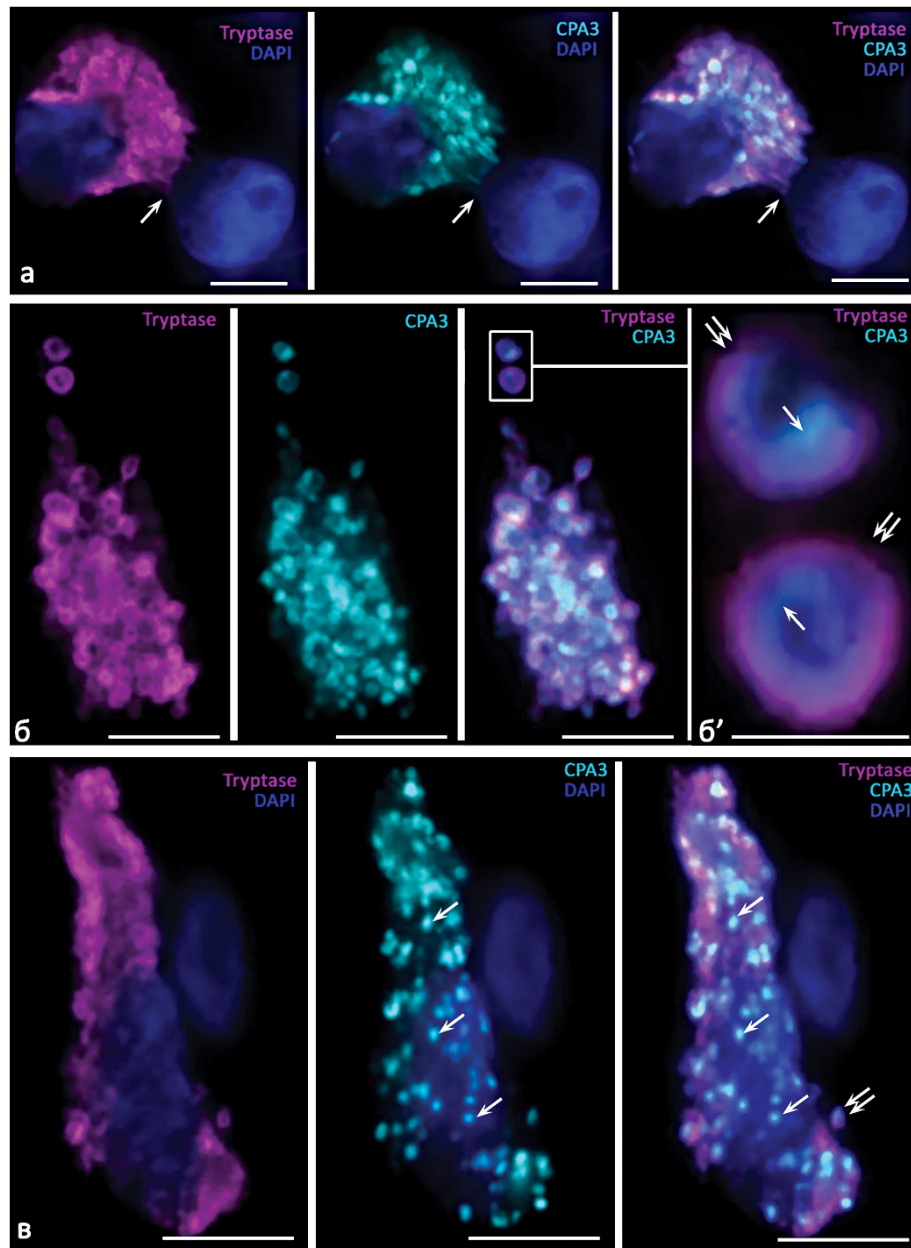


Рис. 3. Интрагранулярная локализация CPA3 и триптазы в тучных клетках меланомы кожи; (а) - опухолевое микроокружение, тесная солокализация триптазы и CPA3 в гранулах тучных клеток, часть которых селективно сосредоточена в области контакта с ядром соседней клетки (указано стрелкой); (б) - общий вид тучной клетки, ассоциированной с опухолью, триптаза и CPA3 солокализированы в одних и тех же гранулах ТК, при этом в зрелых гранулах CPA3 располагается кнутри от триптазы (указано стрелкой); (в) - ассоциированная с опухолью тучная клетка вытянутой формы, в которой присутствуют CPA3 гранулы без триптазы (указано стрелкой) и с триптазой (двойная стрелка); масштабная шкала: б – 1 мкм, остальные – 5 мкм

Fig. 3. Intragranular localization of CPA3 and tryptase in mast cells of skin melanoma: (a) -tumor microenvironment, close co-localization of tryptase and CPA3 in mast cell granules, some of which are selectively concentrated in the area of contact with the nucleus of a neighboring cell (indicated by an arrow); (б) - general view of a mast cell associated with a tumor, tryptase and CPA3 are co-localized in the same MC granules, while in mature granules CPA3 is located inwards of tryptase (indicated by an arrow); (в) - tumor-associated elongated mast cell with CPA3 granules without tryptase (indicated by an arrow) and tryptase (a double arrow); scale: б – 1 µm, the rest - 5 µm

В линии мышей с нокаутом гена СРАЗ дефекты гранул не были выявлены на ультраструктурном уровне, однако наблюдалась повышенная растворимость протеогликанов гранул ТК [104]. Возможно, что отсутствие СРАЗ приводило к изменению пространственной конфигурации серглицина со специфическими протеазами тучных клеток, и, как следствие, изменению гистохимического окрашивания гранул.

Однако вопрос о молекулярной локализации протеаз в визуализируемых ультраструктурах гранул следует считать открытым, поскольку с момента цитируемых результатов электронномикроскопических исследований к настоящему времени изменилась как техника пробоподготовки, так и технологии микроскопии [114]. Структура гранул будет определяться степенью зрелости, активностью включения компонентов секретома, этапами формирования специфических протеаз, а также интенсивностью секреторных путей, которая будет определяться совокупностью значимых внутриклеточных и экстракеллюлярных сигналов.

Аспекты солокализации СРАЗ с другими компонентами гранул тучных клеток могут быть исчерпывающе охарактеризованы при использовании технологии мультиплексной иммуногистохимии [109]. Наши исследования показали, что протеазы могут находиться как в разных гранулах, так и в одних и тех же, занимая сходные локусы в интрагранулярном матриксе (Рисунок 3). Соотношение тучных клеток с иммунофенотипами СРАЗ⁺Тг⁺Сh⁺, СРАЗ⁺Тг⁺Сh⁻ или СРАЗ⁺Тг⁻Сh⁺ в органоспецифичной популяции и оценка активности секреции СРАЗ имеет важное значение для определения состояния тканевого микроокружения, обладая диагностической значимостью как адаптивных, так и патологических изменений [10, 109, 115]. Кроме того, на уровне отдельно взятой ТК следует учитывать локализацию карбоксипептидаза-позитивных гранул, которые могут располагаться перинуклеарно, заполнять весь объем цитоплазмы с различной степенью плотности расположения либо занимать периферическое положение, локализуясь в периплазмалеммной области (рис. 2). При этом в случае наличия у тучной клетки

вытянутой цитоплазмы ее безъядерная часть может напоминать отросток, в котором также сохраняется периферическая локализация гранул. Данная закономерность была обнаружена и в ТК при мастоцитозе [109]. Дальнейшее исследование молекулярной морфологии интрагранулярной солокализации СРАЗ с другими компонентами секретома с большой долей вероятности может привести к верификации новых диагностических маркеров, включая социально значимые заболевания.

Можно предположить, что СРАЗ необходима для биогенеза как триптазы, так и химазы тучных клеток. В то же время нет уверенности в том, что иммуногистохимическое окрашивание учитывает весь объем популяции тучных клеток в органе. В частности, в экспериментах на крысах с помощью комбинированного гистохимического протокола мы показали, что по признаку метакромазии может выявляться большее количество тучных клеток в коже. Это позволяет считать, что общий пул ТК в органе может ускользать от внимания исследователей, если они опираются только на содержание одной из специфических протеаз [91].

Особенностью, которая отличает СРАЗ от ферментативных аналогов карбоксипептидаз в поджелудочной железе, является высокое содержание положительно заряженных аминокислотных остатков. Это может опосредовать взаимодействия СРАЗ с отрицательно заряженными протеогликанами серглицина в комплексе с гепарином или хондроитин-сульфатом, которые в большом количестве присутствуют в секреторных гранулах ТК [116]. Была показана высокая афинность связи СРАЗ с гепарином, при этом имеются данные об отличии комплексов гепарина с СРАЗ и химазой от гепарин-триптазных комплексов [110, 117]. Кроме того, возможно, что после дегрануляции химаза и СРАЗ некоторое время могут удерживаться на поверхности ТК [118].

Четкие доказательства необходимости гепарина в регулировании накопления и хранения СРАЗ были получены после экспериментов по инактивации гена ключевого фермента в биосинтезе гепарина — N-деацетилазы/N-сульфотрансферазы-2 [119,

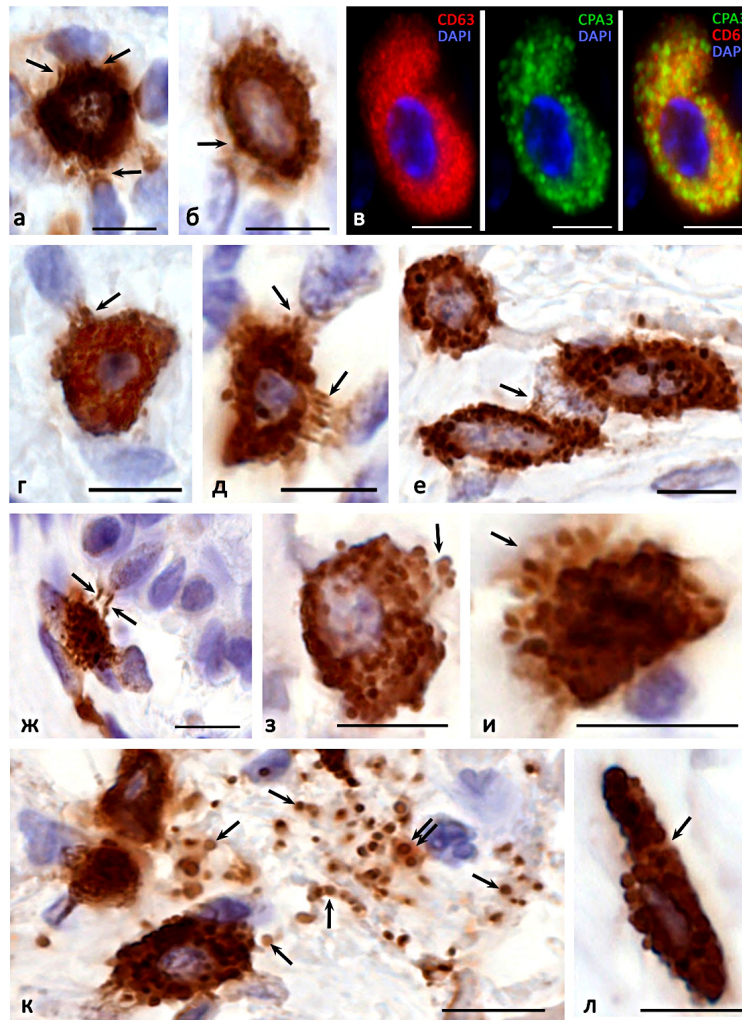


Рис. 4. . Морфологические эквиваленты секреторных путей CPA3-позитивных тучных клеток: (а, б) – тонзилла, смешанный экзоцитоз CPA3 с вероятным участием пейсмекерной дегрануляции; (в) - меланома кожи, высокое содержание экзосом в CPA3+ тучной клетке; (г-д) – тонзилла, морфологические эквиваленты направленной секреции CPA3 к соседним клеткам механизмом экзоцитоза; (е, ж) – кожа, совместный экзоцитоз двух ТК CPA3+ секреторного материала по направлению ядра фибробласта (указано стрелкой) и коллагеновых волокон (двойная стрелка); (з-и) – тонзилла, начальная (з) и последующая (и) стадии дегрануляции тучных клеток механизмом экзоцитоза (указано стрелкой); (к-л) - кожа, активный экзоцитоз секреторных гранул во внеклеточный матрикс с формированием локусов тканевого микроокружения с высоким содержанием CPA3+ гранул (указано стрелкой), морфологические эквиваленты отшнуровки макровезикулы от материнской CPA3+ ТК (указано стрелкой)

Fig. 4. Morphological equivalents of secretory pathways of CPA3-positive mast cells: (a, б) -tonsilla. Mixed exocytosis of CPA3 with probable involvement of pacemaker degranulation; (в) - skin melanoma, high content of exosomes in CPA3+ mast cell; (г-д) – tonsillar, morphological equivalents of CPA3 directed secretion to neighboring cells by the mechanism of exocytosis; (е, ж) – skin, co-exocytosis of two CPA3+ MC of the secretory material in the direction of the fibroblast nucleus (indicated by an arrow) and collagen fibers (a double arrow); (з-и) – tonsillar, the initial (з) and subsequent (и) stages of mast cell degranulation by the mechanism of exocytosis (indicated by an arrow); (к-л) – skin, active exocytosis of secretory granules into the extracellular matrix with the formation of tissue microenvironment loci with a high content of CPA3+ granules (indicated by an arrow), morphological equivalents of the macrovesicle detachment from the maternal CPA3+ MC (indicated by an arrow)

120]. У таких животных практически полностью отсутствовал белок СРАЗ, несмотря на поддержание высокого уровня соответствующей мРНК. Показано важное значение гепарина и серглицина для хранения СРАЗ [79, 81, 120].

Секреторные пути СРАЗ

Можно предположить, что хранение СРАЗ в активной форме, готовой для реализации физиологических эффектов, позволяет ТК практически моментально использовать ее ферментативный потенциал при различных способах секреции, включая пейсмерную дегрануляцию, механизм «kiss-and-run», смешанный экзоцитоз и др. (см. рис. 1, 4). При высвобождении СРАЗ из интрагранулярных локусов хранения в экстрацеллюлярный матрикс сохранение ее биологической активности может зависеть от связей с гепарином, защищающим от действия эндогенных ингибиторов. Очевидно, что способы секреции СРАЗ во внеклеточный матрикс определяют особенности ее биологических эффектов на структуры и клетки тканевого микроокружения. При необходимости поддержания определенных концентраций СРАЗ во внеклеточном матриксе ее определенный уровень может создаваться фоновой секрецией протеазы с помощью постепенной (или пейсмерной) дегрануляции ТК (см. рис. 1).

Активность пейсмерной секреции определяется существующими в настоящий момент стимулами во внеклеточной среде для достижения определенных фоновых значений СРАЗ во внеклеточной среде. Безусловно, эти значения гораздо ниже по сравнению с уровнями, необходимыми для реализации врожденного иммунитета, однако, очевидно, они вносят свой вклад в формирование общей резистентности организма по отношению к некоторым вызовам. Механизмы «челночной» секреции связаны с процессами обособления от материнской гранулы микровезикул, размер которых составляет от 30 до 150 нм [121]. Микровезикулы могут содержать небольшие количества протеаз, протеогликанов и других медиаторов, предназначенных для секреции за пределы материнской ТК для селективных эффектов на компоненты специфического

тканевого микроокружения. Показано, что в механизмах пейсмерной дегрануляции ключевое значение выполняют везикулярные белки (v-SNARE) и белки принимающей органеллы (t-SNARE), обеспечивающие транспорт микровезикул в цитоплазме ТК, а также слияние с другими мембранными органеллами или плазматической мембраной [122]. Несмотря на то, что интенсивность постепенной дегрануляции с вовлечением СРАЗ может меняться в соответствии с существующими потребностями тканевого микроокружения [70, 78; 123], в первую очередь данный секреторный путь используется для организации выведения в экстрацеллюлярный матрикс небольших количеств СРАЗ (рис. 1, 4 а, б). Кроме того, функциональный потенциал пейсмерной дегрануляции используется в обеспечении взаимодействия ТК внутри органоспецифичной популяции, и в некоторых случаях ассоциирован с развитием патологии, в том числе аллергии, воспалении, онкогенезе и др. [70].

Секреция СРАЗ с помощью пейсмерной дегрануляции может быть превалирующим механизмом в тучных клетках. При этом отсутствие СРАЗ в гранулах может вызвать ошибочное представление об уровне экспрессии данной протеазы в тучной клетке. Подобное мнение выражают авторы о биогенезе СРАЗ в тучных клетках легких, в которых секреция СРАЗ предположительно происходила без хранения в гранулах [20]. Секреторные пути предварительно сформированных компонентов секрета тучных клеток с помощью не-IgE-опосредованных механизмов широко используются тучными клетками в ответ на воздействие инфекционных агентов, токсинов, гормонов, аларминов, а также при изменении параметров интегративно-буферной метаболической среды тканевого микроокружения [2].

Другим вариантом секреторных путей медиаторов ТК является механизм «kiss-and-run» [78] (рис. 1). В некоторых исследованиях была показана высокая частота использования данного механизма для секреции [124]. При этом секреторная гранула ТК локализуется в периплазматической области, соприкасается с плазматической мембраной, и образует временную пору. В этот момент через

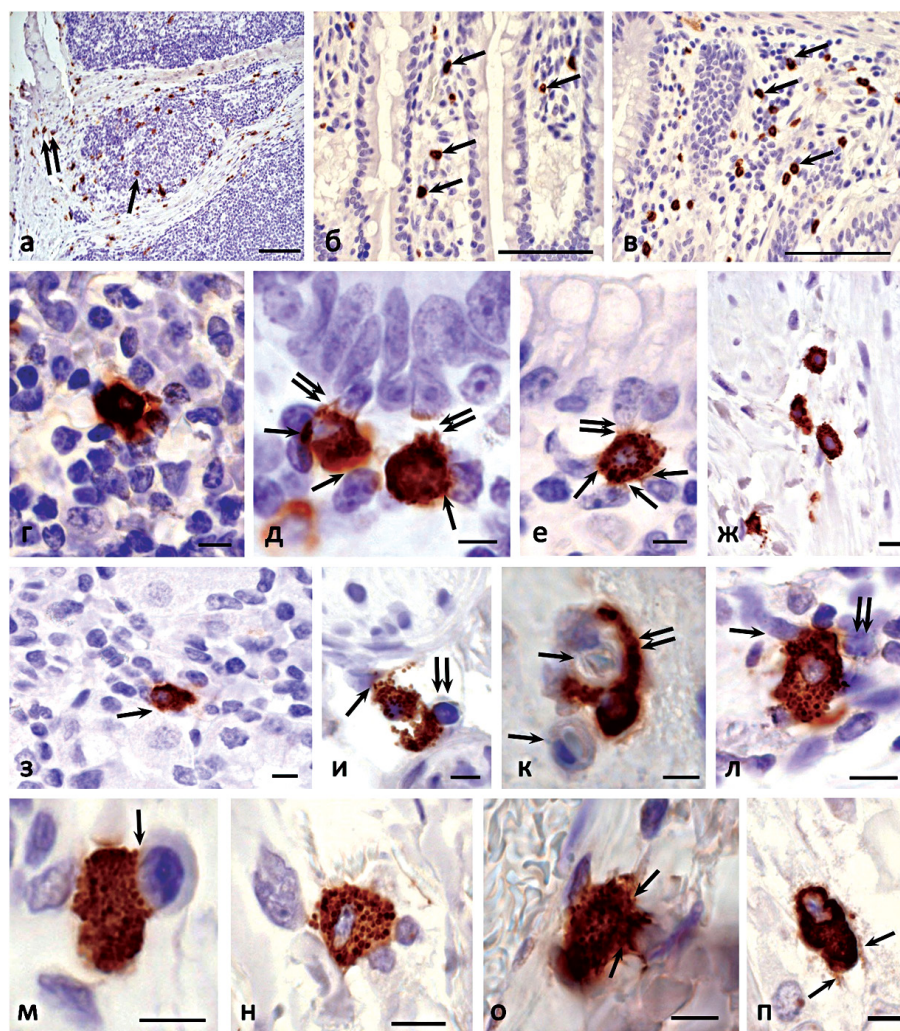


Рис. 5. Гистотопографические особенности распределения CPA3+ тучных клеток в органах: (а) – тонзилла, локализация CPA3+ ТК в лимфоидной ткани (указано стрелкой) и строме (указано двойной стрелкой); (б, в) – тощая кишка, распределение ТК в строме ворсин (б – указано стрелкой) и межкрипталльной строме собственной пластинки слизистой оболочки (в – указано стрелкой); (г) – тонзилла, ТК в тяжах лимфоидной ткани; (д) – тощая кишка, взаимодействие ТК с покровным эпителием собственной пластинки слизистой оболочки; (е-и) – желудок, солокализация ТК с покровным эпителием слизистой оболочки (е), гладкими миоцитами в мышечном слое (ж), железистым эпителием собственной пластинки слизистой оболочки (з), периневрием подслизистой оболочки (и); (к, л) – кожа, капилляры в дерме кожи (указаны стрелкой) и CPA3+ ТК, окружающая один из них (указано стрелкой), (к) – солокализация ТК со стромальными клетками, очевидно, что CPA3+ ТК может воздействовать на несколько клеток одновременно, включая фибробласт (обозначен стрелкой) и иммунокомпетентную клетку (указано двойной стрелкой); (м) – тощая кишка, взаимодействие CPA3+ тучной клетки с активированным лимфоцитом (указано стрелкой); (н-п) – меланома кожи, солокализация ТК с фибробластом (н), волокнистым компонентом (о), и аморфным компонентом внеклеточного матрикса; масштаб: а-в – 100 мкм, остальные – 5 мкм

Fig. 5. Histotopographic features of the CPA3+ mast cell distribution in organs: (a) – tonsillar, localization of CPA3+ MC in lymphoid tissue (indicated by an arrow) and stroma (indicated by a double arrow); (б, в) – Jejunum, distribution of MC in the stroma of villi (б – indicated by an arrow) and the intercryptal stroma of the lamina propria (в – indicated by an arrow); (г) – tonsilla, MC in the cords of the lymphoid tissue; (д) – jejunum, MC interaction with the integumentary epithelium of the proper mucosal plastics; (е-и) – Stomach, MC co-localization with the integumentary epithelium of the mucous membrane (е), smooth myocytes in the muscle layer (ж), glandular epithelium of the lamina propria (з), perineuria of the submucosa (и); (к, л) – skin, capillaries in the skin dermis (indicated by an arrow) and CPA3+ MC surrounding one of them (indicated by an arrow) (к), MC co-localization with stromal cells, it is obvious that CPA3+ MC can affect several cells simultaneously including fibroblast (indicated by an arrow) and an immunocompetent cell (indicated by a double arrow); (м) – jejunum, interaction of CPA3+ mast cell with an activated lymphocyte (indicated by an arrow). (н-п) Skin melanoma. MC co-localization with fibroblast (н), fibrous component (о), and an amorphous component of the extracellular matrix; scale: а-в – 100 μ m, the rest - 5 μ m

соустье с межклеточным матриксом возможна секреция протеаз и других медиаторов, которые могут оказывать свои физиологические эффекты в месте дегрануляции, при этом ресурс медиаторов секреторной гранулы сохраняется. Вероятно, что при таком способе дегрануляции возможно более интенсивное выведение СРАЗ за единицу времени.

Имеются морфологические свидетельства о возможности использования в секреторных путях СРАЗ ТК молекулярного механизма трансгрануляции (рис. 1). При солокализации с другими клетками в прилегающем локусе плазматической мембраны ТК формируются микровыпячивания, контактирующие с плазмалеммой другой клетки. Описана трансгрануляция между ТК и фибробластами, эндотелием капилляров и нейронами [70]. Можно интерпретировать индуктивное влияние СРАЗ при прилегании ТК к другим клеткам и внеклеточным структурам специфического тканевого микроокружения, включая иммунокомпетентные клетки, эпителии, представителей фибробластического дифферона, коллагеновые волокна и т.д. [125] (рис. 5).

Формирование экзосом представляет собой важный механизм по реализации биологических эффектов специфических протеаз тучных клеток как в физиологических условиях секреции, так и патологических состояниях активации дегрануляции [70, 92, 93, 126] (рис. 1). Состав продуцируемых экзосом в ТК является пластичным параметром и может существенно изменяться в зависимости от конститутивной секреции или стимулированной дегрануляции, вызванной различными причинами [93, 101]. В экзосомах могут содержаться различные виды РНК, включая мРНК и микро-РНК, фактор некроза опухоли альфа и другие компоненты секретора, которые могут подвергаться трансферу в другие ТК, а также в другие иммунокомпетентные и стромальные клетки в зоне паракринного влияния, оказывая специфические эффекты на процессы развития, миграции и биосинтеза цитокинов, хемокинов и факторов роста [126]. Возможность либерализации СРАЗ из ТК в составе экзосом существенно расширяет регуляторный потенциал протеазы по отношению к клеточным и неклеточным

компонентам специфического тканевого микроокружения [93]. В силу известных комплексов химазы с СРАЗ вполне возможна секреция последней с помощью экзосом. Различная степень вовлеченности экзосомального механизма в секреторные пути СРАЗ ТК подтверждается результатами мультиплексного иммуногистохимического окрашивания (рис. 4в).

В некоторых случаях для интенсификации поступления СРАЗ ТК во внеклеточный матрикс могут быть использованы механизмы секреции отдельных гранул или отдельных фрагментов цитоплазмы ТК — «макровезикул» (рис. 4 г-л) [70; 82, 83, 127]. Данные способы секреторной деятельности ТК приводят к формированию обособленных структур, обладающих свойствами автономии и тем самым представлять собой вариант расширения реализации потенциальных эффектов ТК на расстоянии, значительно превышающим область распространения паракринных эффектов. В ряде случаев становится очевидной направленная секреция СРАЗ в направлении ядерных структур других клеток (рис. 4 г-ж). Исследование СРАЗ в данном аспекте представляется особенно интересным после открытия способности триптазы оказывать регуляторные эффекты на гистоны ядер и тем самым влиять на пролиферативную активность клеток [128–130]. Тем более имеются четкие иммуногистохимические доказательства солокализации триптазы и СРАЗ при направленной секреции протеаз к ядрам других клеток (рис. 3а). Однако значение СРАЗ в данном явлении еще предстоит выяснить. Иногда вследствие активной дегрануляции ТК СРАЗ+ секреторные гранулы содержатся в высоком количестве в зонах секреции тканевого микроокружения (рис. 4 е, к). Такой способ секреции, с одной стороны, позволяет не только создавать во внеклеточном матриксе значительные количества СРАЗ ТК в составе гранул или фрагментах цитоплазмы, но и формировать условия пролонгации координирующей деятельности ТК в отношении некоторых структур [67, 131]. Мы наблюдали образование довольно обширных индуктивных полей с высокой концентрацией СРАЗ, в частности, у пациентов с меланомой в коже или в тонзилле при хроническом воспалении (рис. 4 к, л). Ультра-

микроскопические свидетельства присутствия РНК и рибосом в составе секреторных гранул допускают продолжение биосинтетической активности и после выхода из цитоплазмы ТК [106, 107]. По сравнению с отдельными гранулами фрагменты цитоплазмы ТК можно рассматривать как пролонгацию эффекторного действия специфических протеаз [82, 83]. Кроме того, заслуживает внимания возможность активной миграции к таким образованиям других клеток соединительной ткани, например лейкоцитов, для эндоцитоза необходимых компонентов или получения регуляторных эффектов протеазы.

Анафилактическая дегрануляция ТК представляет собой патологический вариант секреции гранул во внеклеточный матрикс, приводящий к массивной и неконтролируемой экстррузии содержимого гранул во внеклеточный матрикс (рис. 1) [78]. При этом взаимодействие IgE с рецепторами FcεRI приводит к процессу форсированного транспорта секреторных гранул к плазмалемме ТК, слиянием с ней и дегрануляции медиаторов, включая специфические протеазы ТК. С помощью SNARE-комплекса, в том числе белков SNAP-23, VAMP-7 и VAMP-8, в процесс дегрануляции вовлекаются в первую очередь гранулы, занимающие периплазмалемное положение, однако в течение короткого в процесс вступают остальные гранулы, что приводит к высвобождению их секреторного пула (рис. 1) [78–132]. Морфологически процесс проявляется потерей интенсивности окрашивания гранул вследствие потери их содержимого, а также формированием крупных цитоплазматических выпячиваний до 1,5 мкм [133]. В цитоплазме ТК можно визуализировать морфологические проявления формирования внутриклеточных магистралей дегрануляции, по которым осуществляется ускоренный транспорт СРАЗ к локусам выведения.

Биологические эффекты

Несмотря на обилие СРАЗ в тучных клетках в настоящее время отмечается дефицит знаний о ее биологических эффектах по сравнению с другими специфическими протеазами тучных

клеток — триптазой и химазой. Наиболее хорошо известно участие СРАЗ во врожденном иммунитете. В частности, показано участие протеазы в защите организма от ядов змей и некоторых токсинов [24, 134–136]. Продуцируемые нематодой *Ascaris* ингибиторы СРАЗ ТК существенно увеличивают выживаемость паразита при инфицировании [137]. ТК являются ключевыми игроками в защите от сосудоуживающего пептида эндотелина 1 (ЕТ-1), который играет важную патогенетическую роль при сепсисе, кожном зуде, развитии фиброза и др. [24, 138–141]. Кроме того, ограничивая биологические эффекты ЕТ-1 с помощью СРАЗ, ТК оказывают важные эффекты на состояние легочной паренхимы и системный кровоток [138, 142].

Также было показано, что СРАЗ ТК опосредованно обладает вазодилаторными и бронходилаторными эффектами благодаря способности к трансформации лейкотриена С₄ в лейкотриен F₄ и тем самым снижения вероятности образования лейкотриенов D₄ и E₄ с более мощными бронхо- и сосудоуживающим эффектами [143].

Известно, что СРАЗ может расщеплять нейротензин, кинетензин, нейромедин N и ангиотензин I [23, 25, 134, 144, 145]. Дегградация сарафотоксина, нейротензина и ЕТ-1 приводит к потере их биологической активности, тогда как дегградация аполипептида В может способствовать слиянию липопротеинов низкой плотности и, таким образом, образованию атеросклеротических бляшек [146, 147, 148]. Недостаток СРАЗ в плазме крови был отмечен как фактор риска для развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, включая элементы микроциркуляторного русла [34].

Функциональное значение комплекса СРАЗ с химазой неоднократно рассматривалось, в том числе в аспекте более эффективной дегградации субстрата при солокализация протеаз [17, 139, 148]. Кроме того, химаза и СРАЗ могут также взаимодействовать в ферментативном расщеплении ангиотензина II [23], при котором каждый из ферментов обладает своей каталитической активностью по отношению к конкретным субстратным белкам.

Достаточно тесная морфологическая солокализация химазы и СРАЗ может сохраняться после дегрануляции ТК и принимать участие в конвейерном расщеплении белков или других пептидных мишеней внеклеточного матрикса, требующих одновременного присутствия эндо- и экзопептидаз. Предполагается важное значение СРАЗ в биогенезе волокнистого компонента внеклеточного матрикса и ремоделировании внеклеточного матрикса. С одной стороны, комплекс СРАЗ-химаза может индуцировать возрастание митотической активности фибробластов вместе с их биосинтетическим потенциалом [149]. С другой стороны, данный комплекс или протеазы по отдельности могут принимать участие в модификации молекул проколлагена, индуцируя образование коллагеновых фибрилл [15, 150]. Проведенные исследования свидетельствуют об активном участии ТК в механизмах фибриллогенеза, которое проявляется индуктивным влиянием на образование волокнистого компонента тканевого микроокружения, прежде всего рядом с клеточными представителями фибробластического дифферона [125] (рис. 5 д, е, л, н). Также в непосредственной близости к плазмалемме ТК показано наличие ретикулярных волокон или точек инициации фибриллогенеза [125]. Данные аспекты косвенно подтверждаются исследованиями по моделированию спаечных процессов в брюшной полости на лабораторных животных, а также в исследовании легких, подверженных хроническому воспалению или фиброзу, и почках [20, 25, 151].

Недавно были показаны эпигенетические эффекты триптазы благодаря влиянию на состояние гистонов ядра и стабилизацию ДНК [128–130]. Тесная солокализация СРАЗ с триптазой создает определенный интерес к степени вовлеченности экзопептидазы в данные эффекты (рис. 3).

У мышей линии $\text{Cra3}^{\text{Cre+}}$ с дефицитом СРА в ТК было обнаружено неполноценное восстановление костной ткани, обусловленное уменьшением численности интраорганный популяции ТК, задержкой реваскуляризации, накопления и минерализации межклеточного вещества новообразованного оссеоида, а также изменением активности остеокластов

и макрофагов [30]. Детекция изменения экспрессии СРАЗ при многих заболеваниях подчеркивает существование многих других точек приложения протеазы, исследования которых в будущем поможет идентифицировать новые молекулярные мишени таргетной терапии для повышения эффективности лечения [33, 36, 37, 152–154].

Заключение

Показанные особенности процессинга, аккумуляции и секреторных путей СРАЗ вместе с фактами обильного содержания в ТК позволяют считать данную протеазу важной характеристикой протеазного фенотипа ТК и одним из ключевых компонентов органоспецифических характеристик их популяции. Особенности внутриклеточной солокализации СРАЗ с другими специфическими протеазами тучных клеток, а также пространственное распределение CRA3^+ тучных клеток в ткани с установлением закономерностей их солокализации с иммунокомпетентными и стромальными клетками формируют новые представления о фундаментальных механизмах регуляции состояния интегративно-буферной метаболической среды и внеклеточного матрикса. В то же время очевидно, что наши знания о биологических эффектах данной протеазы по сравнению с триптазой и химазой существенно ограничены. Будущие исследования прольют свет на механизмы вовлеченности СРАЗ в патогенез различных заболеваний, и что особенно важно, механизмы их зарождения на уровне специфического тканевого микроокружения. СРАЗ является перспективной мишенью в трансляционной медицине, как с точки зрения диагностического значения, так и в качестве потенциальной мишени таргетной терапии.

Библиографический список/ References

1. Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(7):478–494.
2. Redegeld FA, Kumari S, Charles N, Blank U. Non-IgE mediated mast cell activation. *Immunol Rev*. 2018;282(1):87–113.
3. Aponte-López A, Muñoz-Cruz S. Mast Cells in the Tumor Microenvironment. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1273:159–173. doi: 10.1007/978-3-030-49270-0_9

4. Elieh Ali Komi D, Wöhrl S, Bielory L. Mast Cell Biology at Molecular Level: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020;58(3):342—365. doi: 10.1007/s12016-019-08769-2
5. Kolkhir P, Elieh-Ali-Komi D, Metz M, Siebenhaar F, Maurer M. Understanding human mast cells: lesson from therapies for allergic and non-allergic diseases. *Nat Rev Immunol.* 2021. doi: 10.1038/s41577-021-00622-y
6. Elieh Ali Komi D, Kuebler WM. Significance of Mast Cell Formed Extracellular Traps in Microbial Defense. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2021;22:1—20. doi: 10.1007/s12016-021-08861-6
7. Dahlin JS, Maurer M, Metcalfe DD, Pejler G, Sagi-Eisenberg R, Nilsson G. The ingenious mast cell: Contemporary insights into mast cell behavior and function. *Allergy.* 2021;77(16):83—99. doi: 10.1111/all.14881
8. Paivandy A, Pejler G. Novel Strategies to Target Mast Cells in Disease. *J Innate Immun.* 2021;13(3):131—147. doi: 10.1159/000513582
9. Ribatti D, Annese T, Tamma R. Controversial role of mast cells in breast cancer tumor progression and angiogenesis. *Clin Breast Cancer.* 2021; S:1526—8209. doi: 10.1016/j.clbc.2021.08.010
10. Crivellato E, Travan L, Ribatti D. The Phylogenetic Profile of Mast Cells. Mast Cells: Methods and Protocols. *Methods in Molecular Biology.* 2015;1220:11—27.
11. Ribatti D. The development of human mast cells. An historical reappraisal. *Exp. Cell Res.* 2016; 342:210—215.
12. Valent P, Akin C, Hartmann K, Nilsson G, Reiter A, Hermine O, Sotlar K, Sperr WR, Escribano L, George TI, Kluin-Nelemans HC, Ustun C, Triggiani M, Brockow K, Gotlib J, Orfao A, Kovanen PT, Hadzijusufovic E, Sadvnik I, Horny HP, Arock M, Schwartz LB, Austen KF, Metcalfe DD, Galli SJ. Mast cells as a unique hematopoietic lineage and cell system: From Paul Ehrlich's visions to precision medicine concepts. *Theranostics.* 2020;10(23):10743—10768. doi: 10.7150/thno.46719
13. Galli SJ, Tsai M, Marichal T, Tchougounova E, Reber LL, Pejler G. Approaches for analyzing the roles of mast cells and their proteases in vivo. *Adv Immunol.* 2015;126:45—127.
14. Mukai K, Mindy Tsai M, Saito H, Galli SJ. Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors. *Immunological Reviews.* 2018;282:121—150.
15. Pejler G, Åbrink M, Ringvall M, Wernersson S. Mast cell proteases *Adv Immunol.* 2007;95:167—255.
16. Pejler G, Rönnerberg E, Waern I, Wernersson S. Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease. *Blood.* 2010;115(24):4981—4990.
17. Pejler G, Knight SD, Henningsson F, Wernersson S. Novel insights into the biological function of mast cell carboxypeptidase A. *Trends Immunol.* 2009;30(8):401—8. doi: 10.1016/j.it.2009.04.008
18. Grujic M, Paivandy A, Gustafson AM, Thomsen AR, Öhrvik H, Pejler G. The combined action of mast cell chymase, tryptase and carboxypeptidase A3 protects against melanoma colonization of the lung. *Oncotarget.* 2017;8(15):25066—25079. doi: 10.18632/oncotarget.15339
19. Grujic M, Hellman L, Gustafson AM, Akula S, Melo FR, Pejler G. Protective role of mouse mast cell tryptase Mcpt6 in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2020;33(4):579—590. doi: 10.1111/pcmr.12859
20. Siddhuraj P, Clausson CM, Sanden C, Alyamani M, Kadivar M, Marsal J, Wallengren J, Bjermer L, Erjefält JS. Lung Mast Cells Have a High Constitutive Expression of Carboxypeptidase A3 mRNA That Is Independent from Granule-Stored CPA3. *Cells.* 2021;10(2):309. doi: 10.3390/cells10020309
21. Akula S, Hellman L, Avilés FX, Wernersson S. Analysis of the mast cell expressed carboxypeptidase A3 and its structural and evolutionary relationship to other vertebrate carboxypeptidases. *Dev Comp Immunol.* 2021;127:104273. doi: 10.1016/j.dci.2021.104273
22. Lundequist A, Tchougounova E, Åbrink M, Pejler G. Cooperation between Mast Cell Carboxypeptidase A and the Chymase Mouse Mast Cell Protease 4 in the Formation and Degradation of Angiotensin II. *J. Biol. Chem.* 2004;279:32339—32344.
23. Schneider LA, Schlenner SM, Feyerabend TB, Wunderlin M, Rodewald HR. Molecular mechanism of mast cell mediated innate defense against endothelin and snake venom sarafotoxin. *J Exp Med.* 2007;204(11):2629—39. doi: 10.1084/jem.20071262
24. Scanduzzi L, Beghdadi W, Daugas E, Åbrink M, Tiwari N, Brochetta C, Claver J, Arouche N, Zang X, Pretolani M, et al. Mouse Mast Cell Protease-4 Deteriorates Renal Function by Contributing to Inflammation and Fibrosis in Immune Complex-Mediated Glomerulonephritis. *J. Immunol.* 2010;185:624—633.
25. Tanco S, Lorenzo J, Garcia-Pardo J, Degroove S, Martens L, Aviles FX, Gevaert K, Van Damme P. Proteome-derived peptide libraries to study the substrate specificity profiles of carboxypeptidases. *Mol Cell Proteomics.* 2013;12(8):2096—110. doi: 10.1074/mcp.M112.023234
26. Xing D, Zhang R, Li S, Huang P, Luo C, Hei Z, Xia Z, Gan X. Pivotal role of mast cell carboxypeptidase A in mediating protection against small intestinal ischemia-reperfusion injury in rats after ischemic preconditioning. *J Surg Res.* 2014;192(1):177—86. doi: 10.1016/j.jss.2014.05.050
27. Sverrild A, Bergqvist A, Baines KJ, Porsbjerg C, Andersson CK, Thomsen SF, Hoffmann HJ, Gibson P, Erjefalt JS, Backer V. Airway responsiveness to mannitol in asthma is associated with chymase-positive mast cells and eosinophilic airway inflammation. *Clin. Exp. Allergy* 2016;46:288—297.
28. Kovanen PT, Bot I. Mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease—Activators and actions. *Eur. J. Pharmacol.* 2017;816:37—46.
29. Ramirez-Garcia Luna JL, Chan D, Samberg R, Abou-Rjeil M, Wong TH, Li A, Feyerabend TB, Rodewald HR, Henderson JE, Martineau PA. Defective bone repair in mast cell-deficient Cpa3Cre/+ mice. *PLoS One.* 2017 Mar 28;12(3): e0174396. doi: 10.1371/journal.pone.0174396
30. Dellon ES, Selitsky SR, Genta RM, Lash RH, Parker JS. Gene expression-phenotype associations in adults with eosinophilic esophagitis. *Dig. Liver Dis.* 2018;50:804—811.
31. Sallis BF, Acar U, Hawthorne K, Babcock SJ, Kanagaratham C, Goldsmith JD, Rosen R, Vanderhoof JA, Nurko S, Fiebiger EA. Distinct Esophageal mRNA Pattern Identifies Eosinophilic Esophagitis Patients with Food Impactions. *Front. Immunol.* 2018;9:2059.
32. Fricker M, Gibson PG, Powell H, Simpson JL, Yang IA, Upham JW, Reynolds PN, Hodge S, James AL, Jenkins C. A sputum 6-gene signature predicts future exacerbations of poorly controlled asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019;144:51—60.
33. Lewicki Ł, Siebert J, Koliński T, Piekarska K, Reiwier-Gostomska M, Targoński R, Trzonkowski P, Marek-Trzonkowska N. Mast cell derived carboxypeptidase A3 is decreased among patients with advanced coronary artery disease. *Cardiol J.* 2019;26(6):680—686. doi: 10.5603/CJ.a2018.0018

35. Wu B, Tao L, Yang D, Li W, Xu H, He Q. Development of an Immune Infiltration-Related Eight-Gene Prognostic Signature in Colorectal Cancer Microenvironment. *BioMed Res. Int.* 2020;1:1–43.
36. Yan Z, Liu L, Jiao L, Wen X, Liu J, Wang N. Bioinformatics Analysis and Identification of Underlying Biomarkers Potentially Linking Allergic Rhinitis and Asthma. *Med. Sci. Monit.* 2020;26: e924934.
37. Collins MH, Martin LJ, Wen T, Abonia JP, Putnam PE, Mukkada VA, Rothenberg ME. Eosinophilic Esophagitis Histology Remission Score: Significant Relations to Measures of Disease Activity and Symptoms. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020;70(5):598–603. doi: 10.1097/MPG.0000000000002637
38. Xu C, Yan S, Guo Y, Qiao L, Ma L, Dou X, Zhang B. Lactobacillus casei ATCC 393 alleviates Enterotoxigenic Escherichia coli K88-induced intestinal barrier dysfunction via TLRs/mast cells pathway. *Life Sci.* 2020;244:117281. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117281.
39. Winter NA, Gibson PG, McDonald VM, Fricker M. Sputum Gene Expression Reveals Dysregulation of Mast Cells and Basophils in Eosinophilic COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2021;16:2165–2179. doi: 10.2147/COPD.S305380
40. Soria-Castro R, Meneses-Preza YG, Rodríguez-López GM, Romero-Ramírez S, Sosa-Hernández VA, Cervantes-Díaz R, Pérez-Fragoso A, Torres-Ruiz JJ, Gómez-Martín D, Campillo-Navarro M, Álvarez-Jiménez VD, Pérez-Tapia SM, Chávez-Blanco AD, Estrada-Parra S, Maravillas-Montero JL, Chacón-Salinas R. Severe COVID-19 is marked by dysregulated serum levels of carboxypeptidase A3 and serotonin. *J Leukoc Biol.* 2021;110(3):425–431. doi: 10.1002/JLB.4HI0221-087R
41. Pejler G, Abrink M, Wernersson S. Serglycin proteoglycan: regulating the storage and activities of hematopoietic proteases. *Biofactors.* 2009;35(1):61–8. doi: 10.1002/biof.11
42. Schwartz LB, Irani AM, Roller K, Castells MC, Schechter NM. Quantitation of histamine, tryptase, and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol.* 1987;138(8):2611–5. doi: 10.1016/S0344-0338(11)80086-5
43. Caughey GH. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. *Immunol Rev.* 2007;217:141–54. doi: 10.1111/j.1600-065X.2007.00509.x
44. Goldstein SM, Kaempfer CE, Kealey JT, Wintroub BU. Human mast cell carboxypeptidase. Purification and characterization. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1630–6. doi: 10.1172/JCI114061
45. Reynolds DS, Gurley DS, Austen KF. Cloning and characterization of the novel gene for mast cell carboxypeptidase A. *J Clin Invest.* 1992;89(1):273–82.
46. Everitt MT, Neurath H. Rat peritoneal mast cell carboxypeptidase: localization, purification, and enzymatic properties. *FEBS Lett.* 1980;110:292–296.
47. Goldstein SM, Kaempfer CE, Proud D, Schwartz LB, Irani AM, Wintroub BU. Detection and partial characterization of a human mast cell carboxypeptidase. *J Immunol.* 1987;139(8):2724–9. PMID: 2443571.
48. Cole KR, Kumar S, Trong HL, Woodbury RG, Walsh KA, Neurath H. Rat mast cell carboxypeptidase: amino acid sequence and evidence of enzyme activity within mast cell granules. *Biochemistry.* 1991;30:648–655.
49. Reynolds DS, Gurley DS, Stevens RL, Sugarbaker DJ, Austen KF, Serafin WE. Cloning of cDNAs that encode human mast cell carboxypeptidase A, and comparison of the protein with mouse mast cell carboxypeptidase A and rat pancreatic carboxypeptidases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86(23):9480–4. doi: 10.1073/pnas.86.23.9480
50. Reynolds DS, Stevens RL, Gurley DS, Lane WS, Austen KF, Serafin WE. Isolation and molecular cloning of mast cell carboxypeptidase A. A novel member of the carboxypeptidase gene family. *J Biol Chem.* 1989;264(33):20094–9.
51. Li L, Li Y, Reddel SW, Cherrian M, Friend DS, Stevens RL, Krilis SA. Identification of basophilic cells that express mast cell granule proteases in the peripheral blood of asthma, allergy, and drug-reactive patients. *J Immunol.* 1998;161(9):5079–86.
52. Lutzelschwab C, Pejler G, Aveskogh M, Hellman L. Secretory granule proteases in rat mast cells. Cloning of 10 different serine proteases and a carboxypeptidase A from various rat mast cell populations. *J Exp Med.* 1997;185(1):13–29. doi: 10.1084/jem.185.1.13
53. Serafin WE, Dayton ET, Gravalles PM, Austen KF, L. Stevens R. Carboxypeptidase A in mouse mast cells: identification, characterization, and use as a differentiation marker. *J Immunol.* 1987;139:3771–3776.
54. Serafin WE, Sullivan TP, Conder GA, Ebrahimi A, Marcham P, Johnson SS, Austen KF, Reynolds DS. Cloning of the cDNA and gene for mouse mast cell protease 4. Demonstration of its late transcription in mast cell subclasses and analysis of its homology to subclass-specific neutral proteases of the mouse and rat. *J Biol Chem.* 1991;266(3):1934–41.
55. MacDonald AJ, Pick J, Bissonnette EY, Befus AD. Rat mucosal mast cells: the cultured bone marrow-derived mast cell is biochemically and functionally analogous to its counterpart in vivo. *Immunology.* 1998;93(4):533–9. doi: 10.1046/j.1365-2567.1998.00465.x
56. Weidner N, Austen KF. Heterogeneity of mast cells at multiple body sites. Fluorescent determination of avidin binding and immunofluorescent determination of chymase, tryptase, and carboxypeptidase content. *Pathol Res Pract.* 1993;189(2):156–62. doi: 10.1016/S0344-0338(11)80086-5
57. Dougherty RH, Sidhu SS, Raman K, Solon M, Solberg OD, Caughey GH, Woodruff PG, Fahy JV. Accumulation of intraepithelial mast cells with a unique protease phenotype in T(H)2-high asthma. *J Allergy Clin. Immunol.* 2010;125:1046–1053.
58. Takabayashi T, Kato A, Peters AT, Suh LA, Carter R, Norton J, Grammer LC, Tan BK, Chandra RK, Conley DB. Glandular mast cells with distinct phenotype are highly elevated in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin. Immunol.* 2012;130:410–420.
59. Abonia JP, Blanchard C, Butz BB, Rainey HF, Collins MH, Stringer KF, Putnam PE, Rothenberg ME. Involvement of mast cells in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin. Immunol.* 2010;126:140–149.
60. Gurish MF, Ghildyal N, McNeil HP, Austen KF, Gillis S, Stevens RL. Differential expression of secretory granule proteases in mouse mast cells exposed to interleukin 3 and c-kit ligand. *J Exp Med.* 1992;175(4):1003–12. doi: 10.1084/jem.175.4.1003
61. Henningson F, Hergeth S, Cortelius R, Abrink M, Pejler G. A role for serglycin proteoglycan in granular retention and processing of mast cell secretory granule components. *FEBS J.* 2006;273(21):4901–12. doi: 10.1111/j.1742-4658.2006.05489.x
62. Zon LI, Gurish MF, Stevens RL, Mather C, Reynolds DS, Austen KF, Orkin SH. GATA-binding transcription factors in mast cells regulate the promoter of the mast cell carboxypeptidase A gene. *J Biol Chem.* 1991;266(34):22948–53.
63. Dobson JT, Seibert J, Teh EM, Da'as S, Fraser RB, Paw BH, Lin TJ, Berman JN. Carboxypeptidase A5 identifies a novel mast

cell lineage in the zebrafish providing new insight into mast cell fate determination. *Blood*. 2008;112(7):2969—72. doi: 10.1182/blood-2008-03-145011

64. Morii E, Tsujimura T, Jippo T, Hashimoto K, Takebayashi K, Tsujino K, Nomura S, Yamamoto M, Kitamura Y. Regulation of mouse mast cell protease 6 gene expression by transcription factor encoded by the mi locus. *Blood*. 1996;88(7):2488—94.

65. Tchekneva E, Serafin WE. Kirsten sarcoma virus-immortalized mast cell lines. Reversible inhibition of growth by dexamethasone and evidence for the presence of an autocrine growth factor. *J Immunol*. 1994;152:5912—5921.

66. Eklund KK, Humphries DE, Xia Z, Ghildyal N, Friend DS, Gross V, Stevens RL. Glucocorticoids inhibit the cytokine-induced proliferation of mast cells, the high affinity IgE receptor-mediated expression of TNF-alpha, and the IL-10-induced expression of chymases. *J Immunol*. 1997;158(9):4373—80.

67. Dvorak AM. Ultrastructure of human mast cells. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;127(2):100—5.

68. Hammel I, Lagunoff D, Galli SJ. Regulation of secretory granule size by the precise generation and fusion of unit granules. *J Cell Mol Med*. 2010 Jul;14(7):1904—16. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01071.x

69. Robida PA, Puzzovio PG, Pahima H, Levi-Schaffer F, Bochner BS. Human eosinophils and mast cells: Birds of a feather flock together. *Immunol Rev*. 2018;282(1):151—167. doi: 10.1111/imr.12638

70. Vukman KV, Försönits A, Oszvald Á, Tóth EÁ, Buzás EI. Mast cell secretome: Soluble and vesicular components. *Semin Cell Dev Biol*. 2017;67:65—73.

71. Arvan P, Castle D. Sorting and storage during secretory granule biogenesis: looking backward and looking forward. *Biochem J*. 1998;332(Pt3):593—610. doi: 10.1042/bj3320593

72. Blank U. The mechanisms of exocytosis in mast cells. *Adv Exp Med Biol*. 2011;716:107—22. doi: 10.1007/978-1-4419-9533-9_7.

73. De Matteis MA, Luini A. Exiting the Golgi complex. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008 Apr;9(4):273—84. doi: 10.1038/nrm2378. PMID: 18354421

74. Hammel I, Lagunoff D, Krüger PG. Studies on the growth of mast cells in rats. Changes in granule size between 1 and 6 months. *Lab Invest*. 1988;59(4):549—54.

75. Kornfeld S, Mellman I. The biogenesis of lysosomes. *Annu Rev Cell Biol*. 1989;5:483—525. doi: 10.1146/annurev.cb.05.110189.002411

76. Kolset SO, Tveit H. Serglycin—structure and biology. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65(7—8):1073—85. doi: 10.1007/s00018-007-7455-6.

77. Rönnberg E, Melo FR, Pejler G. Mast cell proteoglycans. *J Histochem Cytochem*. 2012;60(12):950—62. doi: 10.1369/0022155412458927

78. Blank U, Madera-Salcedo IK, Danelli L, Claver J, Tiwari N, Sánchez-Miranda E, Vázquez-Victorio G, Ramírez-Valadez KA, Macías-Silva M, González-Espinosa C. Vesicular trafficking and signaling for cytokine and chemokine secretion in mast cells. *Front Immunol*. 2014;5:453.

79. Henningsson F, Ledin J, Lunderius C, Wilén M, Hellman L, Pejler G. Altered storage of proteases in mast cells from mice lacking heparin: a possible role for heparin in carboxypeptidase A processing. *Biol Chem*. 2002;383(5):793—801. doi: 10.1515/BC.2002.083

80. Murakami M, Karnik SS, Husain A. Human prochymase activation. A novel role for heparin in zymogen processing. *J Biol Chem*. 1995 Feb 3;270(5):2218—23.

81. Abrink M, Grujic M, Pejler G. Serglycin is essential for maturation of mast cell secretory granule. *J Biol Chem*. 2004;279(39):40897—905. doi: 10.1074/jbc.M405856200

82. Atiakshin D, Buchwalow I, SamoiloVA V, Tiemann M. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells. *Histochemistry and Cell Biology*. 2018;149(5) 461—477.

83. Atiakshin D, Buchwalow I, Tiemann M. Mast cell chymase: morphofunctional characteristics. *Histochem Cell Biol*. 2019;152(4):253—269. doi: 10.1007/s00418-019-01803-6

84. Springman EB, Dikov MM, Serafin WE. Mast cell procarboxypeptidase A. Molecular modeling and biochemical characterization of its processing within secretory granules. *J Biol Chem*. 1995;270(3):1300—7. doi: 10.1074/jbc.270.3.1300

85. Henningsson F. Mast cell cathepsins C and S control levels of carboxypeptidase A and the chymase, mouse mast cell protease 5. *Biol. Chem*. 2003;384:1527—1531.

86. Henningsson F. A role for cathepsin E in the processing of mast-cell carboxypeptidase A. *J Cell Sci*. 2005;118:2035—2042.

87. Rath-Wolfson L. An immunocytochemical approach to the demonstration of intracellular processing of mast cell carboxypeptidase. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2001 Mar;9(1):81—5.

88. Dikov MM, Springman EB, Yeola S, Serafin WE. Processing of procarboxypeptidase A and other zymogens in murine mast cells. *J Biol Chem*. 1994;269(41):25897—904.

89. Schmidt O, Teis D. The ESCRT machinery. *Curr Biol*. 2012;22(4): R 116—20. doi: 10.1016/j.cub.2012.01.028

90. Blair EA, Castle AM, Castle JD. Proteoglycan sulfation and storage parallels storage of basic secretory proteins in exocrine cells. *Am J Physiol*. 1991;261(5 Pt 1): C 897—905. doi: 10.1152/ajpcell.1991.261.5.C897

91. Atiakshin DA, Shishkina VV, Gerasimova OA, Meshkova VY, Samodurova NY, Samoilenko TV, Buchwalow IB, SamoiloVA VE, Tiemann M. Combined histochemical approach in assessing tryptase expression in the mast cell population. *Acta Histochem*. 2021;123(4):151711. doi: 10.1016/j.acthis.2021.151711

92. Kormelink TG, Arkesteijn GJA, van de Lest CHA, Geerts WJC, Goerdal SS, Altelaar MAF, Redegeld FA, Nolte Hoen ENM, Wauben MHM. Mast Cell Degranulation Is Accompanied by the Release of a Selective Subset of Extracellular Vesicles That Contain Mast Cell-Specific Proteases. *J Immunol*. 2016;197:3382—3392.

93. Lecce M, Molfetta R, Milito ND, Santoni A, Paolini R. FcεRI Signaling in the Modulation of Allergic Response: Role of Mast Cell-Derived Exosomes. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):5464. doi: 10.3390/ijms21155464

94. Raposo G, Tenza D, Mecheri S, Peronet R, Bonnerot C, Desaymard C. Accumulation of major histocompatibility complex class II molecules in mast cell secretory granules and their release upon degranulation. *Mol Biol Cell*. 1997;8(12):2631—45. doi: 10.1091/mbc.8.12.2631

95. Azouz NP, Hammel I, Sagi-Eisenberg R. Characterization of mast cell secretory granules and their cell biology. *DNA Cell Biol*. 2014;33(10):647—51. doi: 10.1089/dna.2014.2543

96. Tiwari N, Wang CC, Brochetta C, Ke G, Vita F, Qi Z, Rivera J, Soranzo MR, Zabucchi G, Hong W, Blank U. VAMP-8

segregates mast cell-preformed mediator exocytosis from cytokine trafficking pathways. *Blood*. 2008;111(7):3665–74. doi: 10.1182/blood-2007-07-103309

97. Grimberg E, Peng Z, Hammel I, Sagi-Eisenberg R. Synaptotagmin III is a critical factor for the formation of the perinuclear endocytic recycling compartment and determination of secretory granules size. *J Cell Sci*. 2003;116(Pt 1):145–54. doi: 10.1242/jcs.00186

98. Nakazawa S, Sakanaka M, Furuta K, Natsuhara M, Takano H, Tsuchiya S, Okuno Y, Ohtsu H, Nishibori M, Thurmond RL, Hirasawa N, Nakayama K, Ichikawa A, Sugimoto Y, Tanaka S. Histamine synthesis is required for granule maturation in murine mast cells. *Eur J Immunol*. 2014;44(1):204–14. doi: 10.1002/eji.201343838

99. Rickard A, Lagunoff D. Eosinophil peroxidase accounts for most if not all of the peroxidase activity associated with isolated rat peritoneal mast cells. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994;103(4):365–9. doi: 10.1159/000236655. PMID: 7510560.

100. Ohtsu H, Kuramasu A, Tanaka S, Terui T, Hirasawa N, Hara M, Makabe-Kobayashi Y, Yamada N, Yanai K, Sakurai E, Okada M, Ohuchi K, Ichikawa A, Nagy A, Watanabe T. Plasma extravasation induced by dietary supplemented histamine in histamine-free mice. *Eur J Immunol*. 2002;32(6):1698–708. doi: 10.1002/1521-4141(200206)32:6<1698::AID-IMMU1698>3.0.CO;2-7.

101. Olszewski MB, Groot AJ, Dastyh J, Knol EF. TNF trafficking to human mast cell granules: mature chain-dependent endocytosis. *J Immunol*. 2007;178(9):5701–9. doi: 10.4049/jimmunol.178.9.5701

102. Duelli A, Rönnerberg E, Waern I, Ringvall M, Kolset SO, Pejler G. Mast cell differentiation and activation is closely linked to expression of genes coding for the serglycin proteoglycan core protein and a distinct set of chondroitin sulfate and heparin sulfotransferases. *J Immunol*. 2009;183(11):7073–83. doi: 10.4049/jimmunol.0900309

103. Moon TC, Befus AD, Kulka M. Mast cell mediators: their differential release and the secretory pathways involved. *Front Immunol*. 2014;5:569. doi: 10.3389/fimmu.2014.00569

104. Feyerabend TB, Hausser H, Tietz A, Blum C, Hellman L, Straus AH, Takahashi HK, Morgan ES, Dvorak AM, Fehling HJ, Rodewald HR. Loss of histochemical identity in mast cells lacking carboxypeptidase A. *Mol Cell Biol*. 2005;25(14):6199–210. doi: 10.1128/MCB.25.14.6199-6210.2005

105. Stevens RL, McNeil HP, Wensing LA, Shin K, Wong GW, Hansbro PM, Krilis SA. Experimental Arthritis Is Dependent on Mouse Mast Cell Protease-5. *J Biol Chem*. 2017;292(13):5392–5404. doi: 10.1074/jbc.M116.773416

106. Dvorak AM, Morgan ES, Lichtenstein L, Weller PF, Schleimer RP. RNA is closely associated with human mast cell secretory granules, suggesting a role(s) for granules in synthetic processes. *J Histochem Cytochem*. 2000;48:1–12.

107. Dvorak AM, Morgan ES. Ribosomes and secretory granules in human mast cells: Close associations demonstrated by staining with a chelating agent. *Immunol Rev*. 2001;179:94–101.

108. Dvorak AM. Ultrastructural studies of human basophils and mast cells. *J Histochem Cytochem*. 2005;53(9):1043–70. doi: 10.1369/jhc.5R6647.2005

109. Atiakshin D, Buchwalow I, Horny P, Tiemann M. Protease profile of normal and neoplastic mast cells in the human bone marrow with special emphasis on systemic mastocytosis. *Histochem Cell Biol*. 2021;155(5):561–580. doi: 10.1007/s00418-021-01964-3

110. Craig SS, Schechter NM, Schwartz LB. Ultrastructural analysis of human T and TC mast cells identified by immunoelectron microscopy. *Lab Invest*. 1988;58(6):682–91.

111. Craig SS, Schechter NM, Schwartz LB. Ultrastructural analysis of maturing human T and TC mast cells in situ. *Lab Invest*. 1989;60(1):147–57.

112. Weidner N, Austen KF. Ultrastructural and immunohistochemical characterization of normal mast cells at multiple body sites. *J Invest Dermatol*. 1991;96(3 Suppl):26S-30S. doi: 10.1111/1523-1747.ep12468966

113. Crivellato E, Beltrami CA, Mallardi F, Ribatti D. The mast cell: an active participant or an innocent bystander? *Histol Histopathol*. 2004;19(1):259–270.

114. De Boer P, Hoogenboom JP, Giepmans BN. Correlated light and electron microscopy: ultrastructure lights up! *Nat Methods*. 2015;12:503–13.

115. Caughey GH. Mast cell proteases as pharmacological targets. *Eur J Pharmacol*. 2016;778:44–55. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.04.045

116. Schwartz LB. Localization of carboxypeptidase A to the macromolecular heparin proteoglycan-protein complex in secretory granules of rat serosal mast cells. *J Immunol*. 1982;128:1128-1133.

117. Goldstein SM, Leong J, Schwartz LB, Cooke D. Protease composition of exocytosed human skin mast cell protease-proteoglycan complexes. Tryptase resides in a complex distinct from chymase and carboxypeptidase. *J Immunol*. 1992;148(8):2475–82.

118. Schwartz LB, Riedel C, Caulfield JP, Wasserman SI, Austen KF. Cell association of complexes of chymase, heparin proteoglycan, and protein after degranulation by rat mast cells. *J Immunol*. 1981;126(6):2071–8.

119. Forsberg E, Pejler G, Ringvall M, Lunderius C, Tomasini-Johansson B, Kusche-Gullberg M, Eriksson I, Ledin J, Hellman L, Kjellén L. Abnormal mast cells in mice deficient in a heparin-synthesizing enzyme. *Nature*. 1999;400(6746):773–6. doi: 10.1038/23488

120. Humphries DE, Wong GW, Friend DS, Gurish MF, Qiu WT, Huang C, Sharpe AH, Stevens RL. Heparin is essential for the storage of specific granule proteases in mast cells. *Nature*. 1999;400(6746):769–72. doi: 10.1038/23481

121. Dvorak AM, McLeod RS, Onderdonk A, Monahan-Earley RA, Cullen JB, Antonioli DA, Morgan E, Blair JE, Estrella P, Cisneros RL. Ultrastructural evidence for piecemeal and anaphylactic degranulation of human gut mucosal mast cells in vivo. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;99(1):74–83.

122. Xu H, Bin NR, Sugita S. Diverse exocytic pathways for mast cell mediators. *Biochem Soc Trans*. 2018;46(2):235–247.

123. Crivellato E, Nico B, Mallardi F, Beltrami CA, Ribatti D. Piecemeal degranulation as a general secretory mechanism? *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;274(1):778–84.

124. Williams RM, Webb WW. Single granule pH cycling in antigen-induced mast cell secretion. *J Cell Sci*. 2000;113 Pt 21:3839–50.

125. Atiakshin D, Buchwalow I, Tiemann M. Mast cells and collagen fibrillogenesis. *Histochem Cell Biol*. 2020 Jul;154(1):21–40.

126. Veerappan A, Thompson M, Savage AR, Silverman ML, Chan WS, Sung B, Summers B, Montelione KC, Benedict P, Groh B, Vicencio AG, Peinado H, Worgall S, Silver RB. Mast cells and exosomes in hyperoxia-induced neonatal lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2016;310(11): L1218–32.

127. Atiakshin D, SamoiloVA V, Buchwalow I, Boecker W, Tiemann M. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification. *Histochem Cell Biol.* 2017;147(6):683—694.
128. Melo FR, Wallerman O, Paivandy A, Calounova G, Gustafson AM, Sabari BR, Zabucchi G, Allis CD, Pejler G. Tryptase-catalyzed core histone truncation: A novel epigenetic regulatory mechanism in mast cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(2):474—485.
129. Alanazi S, Grujic M, Lampinen M, Rollman O, Sommerhoff CP, Pejler G, Melo FR. Mast Cell beta-Tryptase Is Enzymatically Stabilized by DNA. *Int J Mol Sci.* 2020;21(14):5065. doi: 10.3390/ijms21145065
130. Alanazi S, Rabelo Melo F and Pejler G Tryptase Regulates the Epigenetic Modification of Core Histones in Mast Cell Leukemia Cells. *Front. Immunol.* 2021;12:804408. doi: 10.3389/fimmu.2021.804408
131. Kunder CA, St John AL, Li G, Leong KW, Berwin B, Staats HF, Abraham SN. Mast cell-derived particles deliver peripheral signals to remote lymph nodes. *J Exp Med.* 2009;206(11):2455—67.
132. Puri N, Roche PA. Mast cells possess distinct secretory granule subsets whose exocytosis is regulated by different SNARE isoforms. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008;105:2580—2585.
133. Mulloy B, Lever R Page CP. Mast cell glycosaminoglycans. *Glycoconjugate journal.* 2017;34(3):351—361.
134. Metz M, Piliponsky AM, Chen CC, Lammel V, Abrink M, Pejler G, Tsai M, Galli SJ. Mast cells can enhance resistance to snake and honeybee venoms. *Science.* 2006;313(5786):526—30. doi: 10.1126/science.1128877
135. Rivera J. Snake bites and bee stings: the mast cell strikes back. *Nat Med.* 2006;12(9):999—1000. doi: 10.1038/nm0906-999
136. Asai S, Sato T, Tada T, Miyamoto T, Kimbara N, Motoyama N, Okada H, Okada N. Absence of procarboxypeptidase R induces complement-mediated lethal inflammation in lipopolysaccharide-primed mice. *J Immunol.* 2004;173(7):4669—74. doi: 10.4049/jimmunol.173.7.4669
137. Sanglas L, Aviles FX, Huber R, Gomis-Rüth FX, Arolas JL. Mammalian metallopeptidase inhibition at the defense barrier of *Ascaris* parasite. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(6):1743—7. doi: 10.1073/pnas.0812623106
138. Maurer M, Wedemeyer J, Metz M, Piliponsky AM, Weller K, Chatterjea D, Clouthier DE, Yanagisawa MM, Tsai M, Galli SJ. Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nat. Cell Biol.* 2004;432:512—516.
139. Pejler G. The emerging role of mast cell proteases in asthma. *Eur Respir J.* 2019;54(4):1900685. doi: 10.1183/13993003.00685-2019
140. Owens EP, Vesey DA, Kassianos AJ, Healy H, Hoy WE, Gobe GC. Biomarkers and the role of mast cells as facilitators of inflammation and fibrosis in chronic kidney disease. *Transl Androl Urol.* 2019;8(Suppl2): S 175-S 183. doi: 10.21037/tau.2018.11.03.
141. Magnúsdóttir EI, Grujic M, Bergman J, Pejler G, Lagerström MC. Mouse connective tissue mast cell proteases tryptase and carboxypeptidase A3 play protective roles in itch induced by endothelin-1. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):123. doi: 10.1186/s12974-020-01795-4
142. Hültner L, Ehrenreich H. Mast cells and endothelin-1: A life-saving biological liaison? *Trends Immunol.* 2005;26:235—238.
143. Reddanna P, Prabhu KS, Whelan J, Reddy CC. Carboxypeptidase A-catalyzed direct conversion of leukotriene C4 to leukotriene F4. *Arch Biochem Biophys.* 2003;413(2):158—63. doi: 10.1016/s0003-9861(03)00080-8
144. Goldstein SM, Leong J, Bunnett NW. Human mast cell proteases hydrolyze neurotensin, kinetensin and Leu5-enkephalin. *Peptides.* 1991;12(5):995—1000. doi: 10.1016/0196-9781(91)90049-u
145. Bunnett NW, Goldstein SM, Nakazato P. Isolation of a neuropeptide-degrading carboxypeptidase from the human stomach. *Gastroenterology.* 1992;102(1):76—87. doi: 10.1016/0016-5085(92)91786-4
146. Cochrane DE, Carraway RE, Boucher W, Feldberg RS. Rapid degradation of neurotensin by stimulated rat mast cells. *Peptides.* 1991;12(6):1187—94. doi: 10.1016/0196-9781(91)90193-s
147. Piliponsky AM, Chen CC, Nishimura T, Metz M, Rios EJ, Dobner PR, Wada E, Wada K, Zacharias S, Mohanasundaram UM, Faix JD, Abrink M, Pejler G, Pearl RG, Tsai M, Galli SJ. Neurotensin increases mortality and mast cells reduce neurotensin levels in a mouse model of sepsis. *Nat Med.* 2008;14(4):392—8. doi: 10.1038/nm1738
148. Kokkonen JO, Vartiainen M, Kovanen PT. Low density lipoprotein degradation by secretory granules of rat mast cells. Sequential degradation of apolipoprotein B by granule chymase and carboxypeptidase A. *J Biol Chem.* 1986;261(34):16067—72.
149. Abe M, Kurosawa M, Ishikawa O, Miyachi Y. Effect of mast cell-derived mediators and mast cell-related neutral proteases on human dermal fibroblast proliferation and type I collagen production. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106(1Pt2): S 78—84. doi: 10.1067/mai.2000.106058
150. Dell'Italia LJ, Collawn J, Ferrario CM. Multifunctional Role of Chymase in Acute and Chronic Tissue Injury and Remodeling. *Circ Res.* 2018;122:319—336.
151. Okamoto Y, Takai S, Miyazaki M. Significance of chymase inhibition for prevention of adhesion formation. *Eur. J. Pharmacol.* 2004;484:357—359.
152. Balzar S, Fajt ML, Comhair SA, Erzurum SC, Bleeker E, Busse WW, Castro M, Gaston B, Israel E, Schwartz LB, Curran-Everett D, Moore CG, Wenzel SE. Mast cell phenotype, location, and activation in severe asthma. Data from the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(3):299—309. doi: 10.1164/rccm.201002-0295OC
153. Lill M, Köks S, Soomets U, Schalkwyk LC, Fernandes C, Lutsar I, Taba P. Peripheral blood RNA gene expression profiling in patients with bacterial meningitis. *Front Neurosci.* 2013;7:33. doi: 10.3389/fnins.2013.00033
154. Mikus MS, Kolmert J, Andersson LI, Östling J, Knowles RG, Gómez C, Ericsson M, Thörngren JO, Khoonsari PE, Dahlén B, Kupczyk M, De Meulder B, Auffray C, Bakke PS, Beghe B, Bel EH, Caruso M, Chanez P, Chawes B, Fowler SJ, Gaga M, Geiser T, Gjomarkaj M, Horváth I, Howarth PH, Johnston SL, Joos G, Krug N, Montuschi P, Musial J, Nizankowska-Mogilnicka E, Olsson HK, Papi A, Rabe KF, Sandström T, Shaw DE, Siafakas NM, Uhlen M, Riley JH, Bates S, Middelveld RJM, Wheelock CE, Chung KF, Adcock IM, Sterk PJ, Djukanovic R, Nilsson P, Dahlén SE, James A; U-BIOPRED (Unbiased Biomarkers for the Prediction of Respiratory Disease outcome) Study Group; BIOAIR (Longitudinal Assessment of Clinical Course and Biomarkers in Severe Chronic Airway Disease) Consortium. Plasma proteins elevated in severe asthma despite oral steroid use and unrelated to Type-2 inflammation. *Eur Respir J.* 2021 Nov 4;2100142. doi: 10.1183/13993003.00142-2021

Ответственный за переписку: Дмитрий Андреевич Атякшин — доктор медицинских наук, директор научно-образовательного ресурсного центра инновационных технологий иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая 8. E-mail: atyakshin-da@rudn.ru

Атякшин Д.А. SPIN-код 3830-8152; ORCID 0000-0002-8347-4556

Костин А.А. SPIN-код 8073-0899; ORCID 0000-0002-0792-6012

Троценко И.Д. SPIN-код 5522-4303; ORCID 0000-0002-6667-0125

Шишкина В.В. SPIN-код 9339-7794; ORCID 000-0001-9185-4578

Тиманн М. ORCID 0000-0002-6499-4855

Бухвалов И.Б. ORCID 0000-0003-1142-7483

Corresponding author: Dmitrii Atiakshin — MD, Director of the Scientific and Educational Resource Center for Innovative Technologies of Immunophenotyping, Digital Spatial Profiling and Ultrastructural Analysis of the RUDN University, Peoples' Friendship University of Russia, 117198, ul. Miklukho-Maklaya, 8, Moscow, Russian Federation. E-mail: atyakshin-da@rudn.ru

Atiakshin D.A. ORCID 0000-0002-8347-4556

Kostin A.A. ORCID 0000-0002-0792-6012

Trotsenko I.D. ORCID 0000-0002-6667-0125

Shishkina V.V. ORCID 000-0001-9185-4578





Tiemann M. ORCID 0000-0002-6499-4855

Buchwalow I.B. ORCID 0000-0003-1142-7483

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-34-41


REVIEW
ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Physiological features of cells and microvasculature under the local hypothermia influence

Nijat A. Guseynov¹  , Sergey G. Ivashkevich¹ , Evgeniy M. Boyko² 

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

²Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

 nid.gus@mail.ru

Abstract. Hypothermia or cold therapy is the local or systemic application of cold for therapeutic purposes. Local application of cold is used to control inflammation: pain and swelling, hematoma and trismus reduction. Despite the frequent use of cooling in prosthodontic rehabilitation and in physical therapy, as evidenced by many reports in the literature, there is scientific documentation that suggests disadvantages of using this treatment in maxillofacial surgery and oral surgery. Also the clinical studies that have been carried out in maxillofacial surgery and oral surgery have been conducted in an empirical manner, which casts doubt on the results. In view of this, it is relevant to study the mechanisms of microcirculatory preconditioning and hypothermia. This physiological process is so interesting for the development of medical devices of controlled hardware hypothermia to prevent inflammatory symptoms at the stage of rehabilitation by targeting the vascular and cellular component of the inflammatory process in different areas of the human body. To date, the use of local hardware controlled hypothermia in various pathological conditions in humans is a topical trend in medicine. Microcirculatory bloodstream is directly related to temperature factors. Although there are concepts of vascular spasm or dilatation in the microcirculatory bloodstream during systemic hypothermia, there are no reliable data on the cellular and vascular reactions during local hypothermia. In this paper, a search for fundamental and current scientific work on the topic of cellular and vascular changes under the influence of hypothermia was conducted. The search for data revealed that the mechanisms of intracellular hypothermia are of particular interest for the development of therapeutic treatments after surgical interventions in areas with extensive blood supply. With this in mind, it is relevant to investigate several areas: the role of endothelium, glycocalyx and blood cells in microcirculatory-mediated preconditioning and intracellular hypothermia, and in the molecular mechanism that regulates these processes, whether they occur in the same way in all tissues.

Keywords: therapeutic hypothermia, microcirculatory bed, vasodilation, vasospasm, cellular hypothermia

Author contributions. N.A. Guseynov— literature accumulation, analysis and selection of sources, writing the overview text; S.G. Ivashkevich- editing of structure and content of the overview text, writing conclusions; E.M. Boyko— translating, writing conclusions.

Conflict of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

© Guseynov N.A., Ivashkevich S.G., Boyko E.M., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Received 02.01.2022. Accepted 25.01.2022.

For citation: Guseynov NA, Ivashkevich SG, Boyko EM. Physiological features of cells and microvasculature under the local hypothermia influence. Review of the literature. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):34–41. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-34-41

Therapeutic hypothermia. Historical sketch

The idea that cooling a person can slow down biological processes and therefore death was first described by Hippocrates (around 450 BC), who advised laying wounded soldiers in the snow. In the early 1800s, during the French invasion of Russia, a military surgeon observed that wounded soldiers placed closer to fires died earlier than those who placed in colder bunks. During this period cryoanalgesia was also used for amputations and surgeons noticed that hypothermia not only acts as an analgesic but also slows bleeding. Clinical interest in the use of therapeutic hypothermia began in the 1930s with reports of cases of drowning that were successfully resuscitated despite prolonged asphyxia [1].

In 1943 Temple Fay published one of the first scientific papers on therapeutic hypothermia. The author observed improvement in patients after craniocerebral trauma (CCT) when the temperature was lowered from 38.3 to 32.7 degrees Celsius. In the 1950s and 1960s clinical trials using very deep hypothermia were initiated but were soon discontinued due to side effects. In the 1990s, moderate hypothermia was used in three cases of cardiac arrest after successful resuscitation, and in all three cases there was complete recovery without residual neurological damage [2]. Therapeutic hypothermia began to attract attention after two prospective randomised controlled trials, published in the *New England Journal of Medicine* in 2002, showed significant improvements in short and long-term survival as well as neurological outcomes [3]. Today, the term «targeted temperature management» (TTM) is used instead of therapeutic cooling. TTC can be used to prevent fever, maintain normothermia, or induce cooling.

Three decades of research on animals have shown that hypothermia has a strong cerebroprotective effect.

The success of hypothermia in acute brain injury research has not only stimulated continued interest in investigating mechanisms, but has also generated a surge of new interest in elucidating the beneficial signalling molecules that play an important role in cooling [4].

Systemic hypothermia is a treatment option after cardiac arrest, and the neuroprotective benefits of systemic hypothermia after cerebral ischaemia have been demonstrated [5, 6]. Duan, Honglian have proposed the use of local endovascular infusion of cold saline directly into the infarct focus using a microcatheter. In small animal models, the procedure has shown incredible neuroprotective promise [7]. Although total hypothermia is recognized as a clinically applicable neuroprotective treatment, moderate local hypothermia after spinal cord injury is considered a more effective approach. Teh, Daniel Boon Loong et al. (2018) investigated the feasibility and safety of inducing prolonged local hypothermia in the central nervous system in a rodent model. The results showed significant recovery of somatosensory potential amplitudes in groups with local hypothermia [8].

Vipin, Ashwati et al. (2015) demonstrated the neuroprotective effect of short-term moderate total hypothermia by improving electrophysiological and motor parameters as well as histological examination after spinal cord injury in rats. The advantage of short-term local hypothermia over short-term general hypothermia after acute spinal cord injury has also been shown [9]. Lewis, S. R. conducted a meta-analytic review of the scientific evidence and found that mild hypothermia in CMT correlates with such indicators as mortality, and complications after brain surgery. Despite the large number of studies, there is still no qualitative evidence that hypothermia is beneficial in the treatment of people with CHT. Further research is needed in this area, which is methodologically robust,

to establish the effect of hypothermia in people with CHT [6].

Today the therapeutic hypothermia methods can be divided into physical and pharmacological methods. Physical methods are based on devices designed to cool the whole body or its parts. Various means of surface application are used: cooling jackets, water-cooled mattress covers, cooling pillows, ice packs, etc. [10], which work slowly and require a large amount of time, a certain temperature range. Internal cooling agents in the form of intravenous fluids are also used, which provide a rapid decrease in body temperature [11], but these methods cannot be used outside the hospital. In addition, the above-mentioned body cooling methods can cause electrolyte imbalances, cardiovascular dysfunction [12] and promote infections such as pneumonia [13, 12].

Thermoregulation and hypothermia

Thermoregulation is a vital function of the autonomic nervous system in response to cold and heat stress. The physiology of thermoregulation maintains homeostasis in the human body by maintaining an internal body temperature of 37 °C, which ensures normal cell function. Heat production and dissipation depend on a coordinated set of autonomic responses. The clinical detection of impaired thermoregulation provides important diagnostic and localized information in the assessment of disorders that disrupt thermoregulatory pathways, including autonomic neuropathies and gangliopathies. Failure of neural thermoregulatory mechanisms or exposure to extreme, or prolonged, temperatures that inhibit the body's thermoregulatory abilities can also lead to potentially life-threatening deviations from normothermia. Overcooling, defined as an internal temperature <35.0 °C, can be manifested by shivering, respiratory depression, cardiac arrhythmia, impaired mental function, mydriasis, hypotonia and muscular dysfunction, which may progress to cardiac arrest or coma.

Cold stress causes an indirect increase in vascular tone in the peripheral region of the human body, which reduces heat loss to the external environment to maintain thermal homeostasis. Prolonged exposure to cold can lead to impaired function, but moderate controlled

hypothermia has found its application [7, 14]. The era of targeted controlled hypothermia, with an emphasis on a wider temperature range (33—36 °C) shows benefit in acute craniocerebral trauma.

The physiological processes of local tissues under the influence of local hypothermia are poorly understood. Local adaptive changes in tissues occur under the influence of temperature exposure by virtue of many factors. Some of these factors are vascular, hormonal, stress-protein adaptive systems [15].

The origin of cold-induced vasodilation is still a big question. This process may take place via a central pathway, or locally through direct cold paralysis of the peripheral vessels (CPPV). However, we should not forget arteriovenous anastomoses, which also play a major role [16].

There is also evidence that the CPPV has a cryoprotective function against local cold damage. For example, hypothermia is known to reduce the metabolic rate by 5–7 % when the internal body temperature decreases by 1° [17], which reduces cellular oxygen consumption. This is one of the main mechanisms underlying the protective action of therapeutic hypothermia, since oxygen starvation and the accumulation of lactate and other wastes of anaerobic metabolism play a central role in the progression of ischemic cell death. The accumulation of aspartate, glutamate and other excitatory neurotransmitters plays an important role in neuronal death after cerebral ischemia [18]. In animal models it was shown that glutamate release after cerebral ischemia depends on temperature conditions. Mild to moderate hypothermia is associated with the most significant decrease in glutamate levels compared to severe hypothermia and hyperthermia [19]. Hypothermia reduces free radical production and suppresses various inflammatory processes following global ischemia and reperfusion. Reperfusion causes a significant increase in the production of free radicals such as hydrogen peroxide, superoxide, nitric oxide and hydroxyl radicals. High levels of oxidants, cause disruption of redox balance throughout the body and induce peroxidation of lipids, proteins and nucleic acids, which contributes to cellular damage [20]. One study using an *in vitro* model of cerebral ischemia showed that the neuroprotective effects of hypothermia

were associated with a significant reduction in nitric oxide and superoxide formation when the temperature decreased to 31–33 °C [21]. The inflammatory response that follows reperfusion has both positive and negative effects. However, decompensation can last for 5 days, and persistently high cytokine level is devastating over this long time lap. Hypothermia suppresses the inflammatory cascade and, in turn, prevents exacerbation of cellular damage by inflammation.

The regulation of cutaneous blood flow occurs due to the complex and dynamic interaction of body (core) and sheath thermal interactions. In other words, there are concepts of external and internal heat. However, the intensity of vasomotor reactivity to localized thermal stressors is primarily determined by the thermal state of the whole body [22]. In particular, during prolonged exposure to cold, hypothermia-induced sympathetic excitation dominates over vasomotor control in the extremities; noradrenergic constriction of cutaneous arterioles prevails, while the frequency and magnitude of CPPV response are impaired [23].

Under conditions of thermoneutral rest, systemic hypoxia increases the activity of sympathetic innervation and causes vasoconstriction on the outer layers of the skin. Consequently, and based on epidemiological studies, hypoxia was and is considered to be a predisposing factor for the development of local cold injury [24]. However, laboratory studies have shown that hypoxic vasoconstriction in the outer layers of the skin is less pronounced than vasoconstriction caused by a localized cold stimulus [25]. Lingering constrictor effect is mediated by hypoxia, a delay in spontaneous warming of the limb after local cooling [26].

At high altitudes, hypoxia is usually exerted with low ambient temperature, which blunts peripheral vasoconstriction by increasing the rate and magnitude of core cooling. However, the simultaneous effect of hypoxia and low temperature on vasomotor reactivity remains an open question.

Hypothermia and vascular response

Normal vascular microcirculation is a network of perfused capillaries characterized by minimal

heterogeneity, although its extent depends on the metabolic demands of the surrounding tissues. Adaptation to metabolic demands occurs through capillary opening and closing, and modulation of precapillary sphincters is partially influenced by systemic factors [27]. Thus, the microcirculation links the macrocirculation to the cells, facilitating and mediating perfusion of target organs.

Cutaneous blood flow in humans and warm-blooded animals is reduced when exposed to cold. This reaction is usually explained by the fact that reflex-exogenous temperature increase leads to sympathetic tone if cooling threatens to decrease body temperature. Local cooling increases the tone of superficial cutaneous limb veins in proportion to the cooling temperature and is independent of alpha-adrenergic innervation. Cutaneous arterial vasodilation showed the opposite pattern, which was expressed by vasodilation, also not mediated by innervation. Locally cold induced vasoconstriction is the result of a myogenic response and is due to transcellular ion translocation [28].

The effects of temperature on vascular responses to certain agonists such as noradrenaline [29, 30], 5-HT [31, 32], potassium channels [33] and acetylcholine [34] have previously been studied in details. On the other hand, the direct local effect of temperature on vascular tone has scarcely been studied. Vascular contraction induced by cooling has been studied in samples such as rat bladder smooth muscle [35], sheep tracheal muscle [36] and intracerebral arterioles [37]. These studies have established that cooling can affect calcium homeostasis by preventing translocation of extracellular and intracellular calcium. However, there is no extensive information about the mechanisms involved in hypothermic perfusion.

Herrera, B et al. (2000) have shown that hypothermia causes contraction of an isolated renal artery. The response of smooth muscle to cooling in different body organs has been studied [38]. The results showed that cooling has a pronounced effect on smooth muscle. Therefore, it has been hypothesized that elastic fibers are responsible for the atypical relaxation induced by cooling.

Hypothermia causes relaxation of deep vessels such as aorta, pulmonary artery, carotid artery and spasm of superficial vessels [39]. Herrera, B. (2002) showed the role of elastic fibers in various responses of certain vessels when cooling from 37 to 8 °C. Previous results have shown that the nature of the vessel (conduit or muscle vessel) determines the different behavior (dilatation or spasms) of isolated vessel segments when the temperature decreases from 37 to 8 °C [40]. Vessels with a large number of elastic fibers show dilatation upon cooling. On the other hand, muscle vessels with fewer elastic fibers undergo contraction. Calcium release from intracellular depots causes arteries to contract during cooling. Vasodilation occurs only when smooth muscle contraction mechanisms are inactive, as in the case of vessels that have been subjected to cold storage for 48 hours. The results presented in the author's work confirm the presence of two main effects, which are directly dependent on the type of vessel. In arteries, temperature reduction induces vascular relaxation depending on the elastic component of the vascular wall. In muscular vessels, the predominant effect is contraction due to an increase in intracellular calcium. Cooling-induced spasm occurs due to the maintenance of balance of muscle cell metabolism and vascular wall tone.

Stepwise cooling of rabbit carotid arteries caused dilation proportional to temperature [41].

In order to investigate the underlying mechanism of temperature responses in the carotid artery at the cellular level, blocking experiments were carried out that revealed the critical involvement of potassium channels (K^+ channels), important regulators of smooth muscle function and hence of vascular lumen width. Their activation induces a major vasodilatory mechanism through membrane hyperpolarization, whereas their inhibition induces vasoconstriction. Four different types of K^+ -channels have been identified in arterial smooth muscle [42].

Hemodynamic monitoring of critically ill neonates mainly focuses on systemic arterial oxygen saturation. Cellular hypoxia and poor tissue perfusion may be present in these neonates. Ideally, hemodynamic monitoring should provide information on whether

cells are receiving enough oxygen to maintain cellular mitochondrial respiration.

Near-infrared spectroscopy (NIRS) is a promising technique by which real-time monitoring of the cerebral perfusion in neonates can be performed [43]. The depth of the NIRS measurement is 1–3 cm, depending on the design of the probe. Fredly, Siv (2016) investigated differences in skin microcirculation and its ability to deliver oxygen during cooling and after warming in neonates with or without high levels of C-reactive protein (CRP). Twenty-eight infants were divided into two subgroups based on low or high CRP (recurrent values above 30 mg/l for more than 24 h). Differences between the two groups with regard to laser Doppler perfusion measurements (LDF), computer video microscopy and diffuse reflectance spectroscopy during hypothermia on days 1 and 3 and after hyperthermia on day 4 were assessed. After hyperthermia, children with high SRB levels had significantly higher cutaneous perfusion LDF, lower functional vessel density and greater heterogeneity in capillary blood flow velocities compared to children with low CRP levels, while no such differences were found during cooling, suggesting a positive anti-inflammatory effect of hypothermia on cutaneous blood flow [44]. Caminos Eguillor et al. (2021) studied the effect of hypothermia on microcirculation in normal and severe hemorrhagic shock. The authors concluded that hypothermia did not additionally inhibit the microcirculatory disturbances caused by hemorrhagic shock, which contradicts the benefits of therapeutic hypothermia [45]. However, in healthy humans, microcirculation maintains cellular homeostasis through preconditioning. When blood volume decreases, subsequent microcirculatory changes result in heterogeneity of perfusion and tissue oxygenation. Initially, this is partially compensated by preserved autoregulation and increased cellular metabolic rate, but in later stages the loss of autoregulation activates the intracellular hypothermia cascade [46].

A review of the literature revealed that, due to the unclear topic of the vascular response to cold, the several biomedical mechanisms involved in hypothermia are relevant. The type of vessel involved in procedures,

such as post-operative local hypothermia, should also be considered [47].

References/ Библиографический список

- Vaity C, Al-Subaie N, Cecconi M. Cooling techniques for targeted temperature management post-cardiac arrest. *Crit Care*. 2015;19(1):103. doi:10.1186/s13054-015-0804-1
- Yamashita C, Nakagiri K, Yamashita T, Matsuda H, Wakiyama H, Yoshida M, Ataka K, Okada M. Mild hypothermia for temporary brain ischemia during cardiopulmonary support systems: report of three cases. *Surg Today*. 1999;29(2):182—185. doi:10.1007/BF02482247
- Bernard SA, Gray TW, Buist MD, Jones BM, Silvester W, Gutteridge G, Smith K. Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia. *N Engl J Med*. 2002;346(8):557—563. doi:10.1056/NEJMoa003289
- do Nascimento-Júnior EM, Dos Santos GMS, Tavares Mendes ML, Cenci M, Correa MB, Pereira-Cenci T, Martins-Filho PRS. Cryotherapy in reducing pain, trismus, and facial swelling after third-molar surgery: Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Am Dent Assoc*. 2019;150(4):269—277. e1. doi:10.1016/j.adaj.2018.11.008
- Andrews PJ, Sinclair HL, Rodríguez A, Harris B, Rhodes J, Watson H, Murray G. Therapeutic hypothermia to reduce intracranial pressure after traumatic brain injury: the Eurotherm3235 RCT. *Health Technol Assess*. 2018;22(45):1—134. doi:10.3310/hta22450
- Lewis SR, Evans DJ, Butler AR, Schofield-Robinson OJ, Alderson P. Hypothermia for traumatic brain injury. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;9(9): CD001048. doi:10.1002/14651858.CD001048.pub5.
- Duan H, Huber M, Ding JN, Huber C, Geng X. Local endovascular infusion and hypothermia in stroke therapy: A systematic review. *Brain Circ*. 2019;5(2):68—73. doi:10.4103/bc.bc_9_19
- Teh DBL, Chua SM, Prasad A, Kakkos I, Jiang W, Yue M, Liu X, All AH. Neuroprotective assessment of prolonged local hypothermia post contusive spinal cord injury in rodent model. *Spine J*. 2018;18(3):507—514. doi:10.1016/j.spinee.2017.10.066
- Vipin A, Kortelainen J, Al-Nashash H, Chua SM, Thow X, Manivannan J, Astrid, Thakor NV, Kerr CL, All AH. Prolonged Local Hypothermia Has No Long-Term Adverse Effect on the Spinal Cord. *Ther Hypothermia Temp Manag*. 2015;5(3):152—162. doi:10.1089/ther.2015.0005
- Mayer SA, Kowalski RG, Presciutti M, Ostapkovich ND, McGann E, Fitzsimmons BF, Yavagal DR, Du YE, Naidech AM, Janjua NA, Claassen J, Kreiter KT, Parra A, Commichau C. Clinical trial of a novel surface cooling system for fever control in neurocritical care patients. *Crit Care Med*. 2004;32(12):2508—2515. doi:10.1097/01.ccm.0000147441.39670.37
- Kollmar R, Schellinger PD, Steigleder T, Köhrmann M, Schwab S. Ice-cold saline for the induction of mild hypothermia in patients with acute ischemic stroke: a pilot study. *Stroke*. 2009;40(5):1907—1909. doi:10.1161/STROKEAHA.108.530410
- Polderman KH, Herold I. Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the intensive care unit: practical considerations, side effects, and cooling methods. *Crit Care Med*. 2009;37(3):1101—1120. doi:10.1097/CCM.0b013e3181962ad5
- Hemmen TM, Raman R, Guluma KZ, Meyer BC, Gomes JA, Cruz-Flores S, Wijman CA, Rapp KS, Grotta JC, Lyden PD. Intravenous thrombolysis plus hypothermia for acute treatment of ischemic stroke (ICTuS-L): final results. *Stroke*. 2010;41(10):2265—2270. doi:10.1161/STROKEAHA.110.592295
- Truse R, Smyk M, Schulz J, Herminghaus A, Weber APM, Mettler-Altman T, Bauer I, Picker O, Vollmer C. Regional hypothermia improves gastric microcirculatory oxygenation during hemorrhage in dogs. *PLoS One*. 2019;14(12): e0226146. doi:10.1371/journal.pone.0226146
- Jackson TC, Kochanek PM. A New Vision for Therapeutic Hypothermia in the Era of Targeted Temperature Management: A Speculative Synthesis. *Ther Hypothermia Temp Manag*. 2019;9(1):13—47. doi:10.1089/ther.2019.0001
- Bergersen TK, Hisdal J, Walløe L. Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilatation. *Am J Physiol*. 1999;276(3): R731-R737. doi:10.1152/ajpregu.1999.276.3.R731
- Schubert A. Side effects of mild hypothermia. *J Neurosurg Anesthesiol*. 1995;7(2):139—147. doi:10.1097/00008506-199504000-00021
- Globus MY, Busto R, Dietrich WD, Martinez E, Valdes I, Ginsberg MD. Effect of ischemia on the in vivo release of striatal dopamine, glutamate, and gamma-aminobutyric acid studied by intracerebral microdialysis. *J Neurochem*. 1988;51(5):1455—1464. doi:10.1111/j.1471-4159.1988.tb01111.x
- Illievich UM, Zornow MH, Choi KT, Scheller MS, Strnat MA. Effects of hypothermic metabolic suppression on hippocampal glutamate concentrations after transient global cerebral ischemia. *Anesth Analg*. 1994;78(5):905—911. doi:10.1213/0000539-199405000-00012
- Polderman KH. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Crit Care Med*. 2009;37(7 Suppl): S186—S202. doi:10.1097/CCM.0b013e3181aa5241
- McManus T, Sadgrove M, Pringle AK, Chad JE, Sundstrom LE. Intraischemic hypothermia reduces free radical production and protects against ischaemic insults in cultured hippocampal slices. *J Neurochem*. 2004;91(2):327—336. doi:10.1111/j.1471-4159.2004.02711.x
- Caldwell JN, Matsuda-Nakamura M, Taylor NA. Interactions of mean body and local skin temperatures in the modulation of human forearm and calf blood flows: a three-dimensional description. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116(2):343—352. doi:10.1007/s00421-015-3288-4
- Brajkovic D, Ducharme MB, Frim J. Relationship between body heat content and finger temperature during cold exposure. *J Appl Physiol*. 2001;90(6):2445—2452. doi:10.1152/jappl.2001.90.6.2445
- Harirchi I, Arvin A, Vash JH, Zafarmand V. Frostbite: incidence and predisposing factors in mountaineers. *Br J Sports Med*. 2005;39(12):898—901. doi:10.1136/bjsm.2004.016097
- O'Brien C, Castellani JW, Muza SR. Acute Hypobaric Hypoxia Effects on Finger Temperature During and After Local Cold Exposure. *High Alt Med Biol*. 2015;16(3):244—250. doi:10.1089/ham.2015.0024
- Rai RM, Selvamurthy W, Purkayastha SS, Malhotra MS. Effect of altitude acclimatization on thermoregulation efficiency of man. *Aviat Space Environ Med*. 1978;49(5):707—709.
- De Backer D, Durand A. Monitoring the microcirculation in critically ill patients. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2014;28(4):441—451. doi:10.1016/j.bpa.2014.09.005


28. Thulesius O, Yousif MH. Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase inhibition, a new mechanism for cold-induced vasoconstriction in cutaneous veins. *Acta Physiol Scand*. 1991;141(1):127—128. doi:10.1111/j.1748-1716.1991.tb09053.x
29. Harker CT, Ousley PJ, Harris EJ, Edwards JM, Taylor LM, Porter JM. The effects of cooling on human saphenous vein reactivity to adrenergic agonists. *J Vasc Surg*. 1990;12(1):45—49. doi:10.1067/mva.1990.20311
30. Vanhoutte PM, Shepherd JT. Effect of cooling on beta-receptor mechanisms in isolated cutaneous veins of the dog. *Microvasc Res*. 1970;2(4):454—461. doi:10.1016/0026-2862(70)90038-5
31. Bodelsson M, Arnekle-Nobin B, Törnebrandt K. Effect of cooling on smooth muscle response to 5-hydroxytryptamine in human hand veins. *Acta Physiol Scand*. 1990;140(3):331—339. doi:10.1111/j.1748-1716.1990.tb09007.x
32. Sagher O, Huang DL, Webb RC. Induction of hypercontractility in human cerebral arteries by rewarming following hypothermia: a possible role for tyrosine kinase. *J Neurosurg*. 1997;87(3):431—435. doi:10.3171/jns.1997.87.3.0431
33. Saito W, Noguchi K, Okazaki K, Matsuda T, Kato Y, Tanaka H, Shigenobu K. Temperature-sensitive effects of potassium channel openers on isolated guinea pig myocardium and aorta. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31(2):327—329. doi:10.1097/00005344-199802000-00021
34. García-Villalón AL, Fernández N, Monge L, García JL, Gómez B, Diéguez G. Role of nitric oxide and potassium channels in the cholinergic relaxation of rabbit ear and femoral arteries: effects of cooling. *J Vasc Res*. 1995;32(6):387—397. doi:10.1159/000159114
35. Mustafa SM, Thulesius O. Cooling-induced bladder contraction: studies on isolated detrusor muscle preparations in the rat. *Urology*. 1999;53(3):653—657. doi:10.1016/s0090-4295(98)00568-8
36. Mustafa SM, Pilcher CW, Williams KI. Cooling-induced contraction in ovine airways smooth muscle. *Pharmacol Res*. 1999;39(2):113—123. doi:10.1006/phrs.1998.0413
37. Ogura K, Takayasu M, Dacey RG Jr. Effects of hypothermia and hyperthermia on the reactivity of rat intracerebral arterioles in vitro. *J Neurosurg*. 1991;75(3):433—439. doi:10.3171/jns.1991.75.3.0433
38. Herrera B, Eisenberg G, Holberndt O, Desco MM, Rábano A, García-Barreno P, Del Cañizo JF. Paradoxical effects of temperature on vascular tone. *Cryobiology*. 2000;41(1):43—50. doi:10.1006/cryo.2000.2263
39. Mustafa S. Cooling and bronchodilators. *The Clinical Respiratory Journal*. 2015;9:74—78. https://doi.org/10.1111/crj.12108
40. Herrera B, Desco MM, Eisenberg G, García-Barreno P, Del Cañizo JF. Role of elastic fibers in cooling-induced relaxation. *Cryobiology*. 2002;44(1):54—61. doi:10.1016/S0011-2240(02)00004-4
41. Mustafa S, Thulesius O. Cooling-induced carotid artery dilatation: an experimental study in isolated vessels. *Stroke*. 2002;33(1):256—260. doi:10.1161/hs0102.101545
42. Standen NB, Quayle JM. K⁺ channel modulation in arterial smooth muscle. *Acta Physiol Scand*. 1998;164(4):549—557. doi:10.1046/j.1365-201X.1998.00433.x
43. da Costa CS, Greisen G, Austin T. Is near-infrared spectroscopy clinically useful in the preterm infant? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015;100(6): F558—F561. doi:10.1136/archdischild-2014-307919
44. Fredly S, Nygaard CS, Skranes JH, Stiris T, Fugelseth D. Cooling Effect on Skin Microcirculation in Asphyxiated Newborn Infants with Increased C-Reactive Protein. *Neonatology*. 2016;110(4):270—276. doi:10.1159/000446763
45. Caminos Eguillor JF, Ferrara G, Kanoore Edul VS, Buscetti MG, Canales HS, Lattanzio B, Gatti L, Gutierrez FJ, Dubin A. Effects of Systemic Hypothermia on Microcirculation in Conditions of Hemodynamic Stability and in Hemorrhagic Shock. *Shock*. 2021;55(5):686—692. doi:10.1097/SHK.0000000000001616
46. Chalkias A, Mamais I, Xanthos T. Microcirculation-mediated preconditioning and intracellular hypothermia. *Med Hypotheses*. 2018;115:8—12. doi:10.1016/j.mehy.2018.03.006
47. Muraev A.A., Ivanov S. Yu. Compression mask for postoperative cooling patient's soft facial tissue. *Patent for invention RU 2645646 C 1*, 26.02.2018. Application № 2017121995 for 22.06.2017.

Физиологические особенности клеток и микрососудистого русла под влиянием локальной гипотермии

Н.А. Гусейнов¹  , С.Г. Ивашкевич¹ , Е.М. Бойко² 

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

² Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

 nid.gus@mail.ru

Аннотация. Гипотермия или терапия холодом является местным или системным применением холода в терапевтических целях. Местное применение холода используется для контроля воспалительного процесса: боли и отека, гематомы, снизить тризм. Несмотря на частое использование охлаждения в ортопедической реабилитации и физиотерапии, о чем свидетельствует множество сообщений в литературе, существуют научные данные, которые говорят о недостатках

применения в челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии. Также клинические исследования, которые проводились на базе челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, проводились эмпирическим путем, что ставит под сомнения результаты исследования. Ввиду этого актуально изучение механизмов микроциркуляторного прекодиционирования и гипотермии. Данный физиологический процесс представляет особый интерес для разработки медицинских устройств контролируемой аппаратной гипотермии для предотвращения воспалительных симптомов на этапе реабилитации, целенаправленно воздействуя на сосудисто-клеточный компонент воспалительного процесса в разных областях тела человека. На сегодняшний день применение локальной аппаратной контролируемой гипотермии при различных патологических состояниях человека актуальное направление в медицине. Микроциркуляторное русло напрямую связано с температурными факторами. Несмотря на то, что существуют понятия сосудистых спазма или дилатации в микроциркуляторном русле при системной гипотермии, отсутствуют достоверные данные по клеточно-сосудистым реакциям при локальной гипотермии. В данной работе проведен поиск фундаментальных и современных научных работ на тему клеточно-сосудистых изменений под влиянием гипотермии. При поиске данных было выявлено, что механизмы внутриклеточной гипотермии представляет особый интерес для разработки терапевтических методов лечения после оперативных вмешательств в областях с обильным кровоснабжением. Исходя из этого актуально проведение исследований, направленных на изучение нескольких направлений: роль эндотелия, гликокаликса и клеток крови в микроциркуляторно-опосредованном прекодиционирования и внутриклеточной гипотермии, а также при молекулярном механизме, регулирующем эти явления, одинаково ли они проходят во всех тканях.

Ключевые слова: терапевтическая гипотермия, микроциркуляторное русло, вазодилатация, вазоспазм, клеточная гипотермия

Вклад авторов. Н.А. Гусейнов — сбор литературы, анализ, отбор источников, написание текста обзора; С.Г. Ивашкевич — коррекция структуры и содержания текста обзора, написание выводов; С.Г. Ивашкевич — коррекция структуры и содержания текста обзора, написание выводов; Е.М. Бойко — перевод текста статьи, написание выводов.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.01.2022. Принята 25.01.2022.

Для цитирования: Guseynov N.A., Ivashkevich S.G., Boyko E.M. Physiological features of cells and microvasculature under the local hypothermia influence. Review of the literature // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С.34–41. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-34-41

Corresponding author: Guseynov Nijat Aydin oglu — PhD student of the Department of Oral and Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Peoples' Friendship University of Russia, 117198, ul. Miklukho-Maklaya, 10, Moscow, Russian Federation. E-mail: nid.gus@mail

Guseynov N.A. ORCID 0000–0001–7160–2023

Ivashkevich S.G. ORCID 0000–0001–6995–8629

Boyko E.M. ORCID 0000–0002–1827–8487

Ответственный за переписку: Гусейнов Ниджат Айдын оглы — аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая 10. E-mail: nid.gus@mail.ru

Гусейнов Н.А. SPIN 9417–7948; ORCID 0000–0001–7160–2023

Ивашкевич С.Г. SPIN 1070–5070; ORCID 0000–0001–6995–8629

Бойко Е.М. ORCID 0000–0002–1827–8487



DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-42-50


ORIGINAL ARTICLE
ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Trace elements content in the hair of patients at the maxillofacial surgery department

Marat T. Gedulyanov¹  , Elena V. Kiyayeva² 

¹Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russian Federation

²Orenburg State University, Orenburg, Russian Federation

 lambrador2@gmail.com

Abstract. Relevance. The urgency of the problem of traumatism is constantly increasing, which is associated with an increase in road accidents, an increase in the number of interpersonal conflicts, the availability of firearms and cold steel weapon, etc. In addition, the proportion of victims with injuries of the maxillofacial region in a state of alcoholic intoxication is constantly growing. *The aim* of the study is to conduct a comparative analysis of trace elements in hospitalized patients with maxillofacial trauma, intoxicated, acute traumatic stress and the study of the effect of trauma on the balance of trace elements in patients of the Department of Maxillofacial Surgery with various alcohol history. *Materials and Methods.* The study involved 30 male patients of the department of maxillofacial surgery of the Moscow «city clinical F.I. Inozemtseva hospital located in the city of Moscow. All patients were joined to the department for trauma of the maxillofacial tract and were divided into two groups: 15 of them regularly took alcohol and were in a state of alcoholic intoxication at the time of injury (group 1), 15—without alcohol history (comparison group 2). All patients carried a general clinical blood test, a biochemical blood test, and the content of essential and conditionally essential elements in the hair were also determined. *Results and Discussion.* As a result, significant differences were revealed in the content of micro elements between the groups of patients: the content of copper ($p = 0.013$) and zinc ($p = 0.000$) in the hair examined of the first group was 1.4 lower than in the comparison group 2. The manganese content ($p = 0.05$), on the contrary, was also increased by 1.4 times in the hair of group 1 patients. Besides, leukocytosis was detected in the blood in patients with a history of alcohol and an increase in AST levels. *Conclusion.* The study showed an increase in the content of manganese and a decrease in the content of selenium, zinc and copper in the hair of patients with an alcoholic history. Deselementosis was accompanied by a significant increase in aspartate aminotransferase activity, as well as leukocytosis and lymphocytosis. Such an imbalance of chemical elements, together with a changes of peripheral blood and an increase in the activity of ASaT, can be reflected on the period the timing and peculiarities of the course of the reparative process.

Key words: traumatic stress, alcohol, trace elements

Author contributions. The authors made an equal contribution to the preparation of the manuscript.

Conflict of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

© Gedulyanov M.T., Kiyayeva E.V., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Received 02.07.2021. Accepted 14.09.2021.

For citation: Gedulyanov M.T., Kiyayeva E.V. Trace elements content in the hair of patients at the maxillofacial surgery department. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):42–50. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-42-50

Introduction

In the city of Moscow, thousands of people are daily victims of interpersonal violence and are involved in road traffic accidents, generating high emotional and social costs. Head, neck and face trauma is one of the most common etiological factors of facial trauma.

Acute traumatic stress (traumatic depression) is a type of anxiety disorder that usually develops as a result of life-threatening physical or mental events [1, 2]. ATS lasts two days after the onset of a critical event and smoothly turns into acute stress disorder, which can last up to one month [3].

The aim of the study was to conduct a comparative analysis of micronutrients (for levels of magnesium, calcium, sodium, potassium, phosphorus, selenium, zinc and chromium) of hospitalized patients with maxillofacial trauma in a state of alcohol intoxication, acute traumatic stress and to study the effect of trauma to the balance of microelements, mechanisms of changes in the concentration of microelements, influencing the occurrence of side effects [4, 5, 6].

Maxillofacial injuries constitute a significant part of the total number of patients in a surgical hospital. The urgency of the problem of injuries is constantly increasing, which is associated with an increase in the number of road accidents, an increase in the number of interpersonal conflicts against the background of socio-economic instability, the availability of firearms and cold steel weapons, etc [7, 8]. Besides, the proportion of victims with injuries of the maxillofacial tract in a state of alcoholic intoxication is constantly growing [9, 10]. Alcohol dependence is accompanied by disturbances in the normal functioning of various systems of the human body, which can lead to a greater number of complications, an increase in fatal nature, even with the optimal tactics of surgical help [11–13]. With the systematic abuse of alcoholic drinks, the reparative process in the break line is more often

complicated by a prolonged course and a complicated inflammatory process with a manifestation of the failure of regenerative processes. The situation is further complicated by the fact that the overwhelming number of injured patients belong to the able-bodied part of the population (from 25 to 40 years old), which makes the problem not only medical, but also socio-economic [14].

Despite numerous studies of domestic and foreign scientists on the period of reparative processes and the factors influencing them, there is not enough data on the microelement status of patients with maxillofacial injuries [15, 16]. In this regard, the aim of our study was to study the content of essential and conditionally essential elements in patients' hair of the department of maxillofacial surgery with various alcohol histories.

Materials and methods

The study involved 30 patients of the department of maxillofacial surgery of the F.I. Inozemtseva hospital, located in the city of Moscow. All surveyed were males, the average age of the respondents was 30.7 years. All patients were joined to the department for trauma to the maxillofacial area and provided informed voluntary consent to participate in the study and personal data processing according to the Helsinki Declaration of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). The examined patients were divided into two groups: 15 of them regularly took alcohol and were in a state of alcoholic intoxication at the time of injury (group 1), 15 had no alcohol history (comparison group 2).

All patients carried out a general clinical blood test, a biochemical blood test, and the content of essential and conditionally essential elements in the hair was also determined. Hematological and biochemical blood tests were carried out using standard methods in the laboratory of the hospital named F.I. Inozemtseva.

The analysis of the studied samples (hair) was carried out in the laboratory of ANO «Center for Biotic Medicine», Moscow (certificate of accreditation GSEN.RU.Ts.O.A.311, registration number in the state register ROSS R.U.001. 513118 from 29.05.2003). The determination of the content of chemical elements in the hair was carried out by atomic emission and mass spectrometry using an Elan 9000 mass spectrometer (PerkinElmer, USA) and an Optima 2000 V atomic emission spectrometer (PerkinElmer, USA).

The obtained material was processed using generally accepted statistical methods using an Excel spreadsheet editor from the Microsoft Office XP package. Descriptive statistics parameters for quantitative indicators are given as median (Me) and interquartile latitude (25th; 75th percentile—Q1; Q3).

The statistical data were visualized using the Pylab procedural interface for the Matplotlib (Python) library.

Results and discussion

As a result of the study, we obtained the following data. So, in the general clinical analysis of blood, statistically significant differences between the two groups were found for leukocytes and lymphocytes (Table 1). Their number was 1.1 ($p = 0.049$) and 1.4 ($p = 0.022$) times higher, respectively, in the first group of patients. The number of leukocytes in the 1st group of the examined exceeded the reference values of this indicator (4.0–9.0 cells/l *10⁹), while the number of lymphocytes was within the reference values (1.2–3.0 cells/l*10⁹).

Table 1

Indicators of clinical blood analysis of patients, Me (Q1 – Q3)

Index	1 st group	comparison group 2	p
Hemoglobin g/l	150.000 (130.000–159.000)	148.000 (143.000–151.000)	0.602
Erythrocytes cells/l *10 ¹²	5.000 (4.400–5.240)	4.890 (4.470–5.120)	0.928
Hematocrit, %	43.800 (42.300–45.800)	45.400 (43.300–47.300)	0.377
Platelets cells/l *10 ⁹	229.000 (215.000–300.000)	224.000 (204.000–270.000)	0.717
Leukocytes cells/l *10 ⁹	9.900 (6.600–13.800)	8.700 (7.800–12.800)	0.049
Monocytes cells/l *10 ⁹	0.600 (0.400–0.800)	0.500 (0.400–0.700)	0.600
Lymphocytes cells/l *10 ⁹	1.900 (1.800–1.930)	1.400 (1.100–1.760)	0.022
Neutrophils cells/l *10 ⁹	7.200 (4.000–10.400)	6.700 (5.600–9.500)	0.928
Basophils cells/l *10 ⁹	0.000 (0.000–0.050)	0.090 (0.000–0.100)	0.196
Eosinophils cells/l *10 ⁹	0.100(0.000–0.200)	0.100 (0.000–0.190)	0.888

When studying the parameters of the biochemical blood test of patients, statistically significant differences were received for aspartate aminotransferase (Table 2).

Its number was 2.8 times higher ($p = 0.001$) in the group of patients veined to the hospital in a state of alcoholic intoxication.

Table 2

Indicators of biochemical analysis of patients' blood, Me (Q1 – Q3)

Index	1 st group	comparison group 2	p
Total protein g/l	70.900 (0.000–74.000)	69.400 (58.300–73.400)	0.909
AST unit/l	68.000 (60.000–84.000)	24.000 (19.000–36.000)	0.001
Total bilirubin μmol/l	10.800 (9.600–16.700)	15.300 (9.700–18.700)	0.526
Urea μmol/l	4.620 (2.300–5.260)	4.110 (2.760–5.300)	0.777
Creatinine μmol/L	80.000 (76.000–89.100)	86.000 (76.900–97.400)	0.511
Glucose mmol/l	5.130 (4.950–5.610)	5.490 (4.430–6.390)	0.667

The next stage of our study was to study the content of essential and conditionally essential elements in the of patients' hair (Table 3).

The number of the majority of essential and conditionally essential elements in the of patients' hair with an alcoholic history was within the average Russian values. However, significant differences in the number

of elements between the patient groups were obtained for copper, manganese and zinc. Thus, the number of copper ($p = 0.013$) and zinc ($p = 0.000$) in the hair of the examined first group was 1.4 lower than in the comparison group 2. The manganese number ($p = 0.05$), on the contrary, was also increased by 1.4 times in patients' hair of group 1.

Table 3

The number of essential and conditionally essential elements in the hair of the examined patients, Me (Q1 – Q3)

	Central Russian meaning	1 st group	comparison group 2	p
As	0.00–0.56	0.088 (0.056–0.147)	0.065 (0.045–0.103)	0.204
B	0.00–5	1.150 (0.913–1.580)	1.160 (0.719–1.330)	0.892
Co	0.04–0.16	0.010 (0.010–0.016)	0.018 (0.015–0.027)	0.051
Cr	0.32–0.96	0.772 (0.675–1.520)	0.678 (0.506–0.847)	0.094
Cu	9,0–14,0	10.42 (9.81–12.10)	14.76 (12.47–16.21)	0.013
Fe	11,0–24,0	19.46 (14.53–23.18)	24.16 (19.40–35.17)	0.148
I	ref 0,27–4,2	0.653 (0.346–1.450)	0.774 (0.586–1.350)	0.634
Li	0,00–0,02	0.033 (0.025–0.052)	0.033 (0.025–0.045)	0.751
Mn	0,32–1,13	0.993 (0.438–1.670)	0.695 (0.481–0.930)	0.050
Ni	0,14–0,53	0.179 (0.156–0.277)	0.258 (0.190–0.339)	0.175
Se	0,69–2,20	0.372 (0.313–0.423)	0.314 (0.231–0.389)	0.189
Si	11,0–37,0	26.55 (25.10–31.15)	32.60 (25.90–36.96)	0.415
Sn	ref 0,05–1,5	0.180 (0.106–0.186)	0.151 (0.092–0.298)	0.982
V	ref 0,005–0,5	0.144 (0.137–0.292)	0.146 (0.097–0.184)	0.238
Zn	155,0–206,0	160.7 (119.3–171.5)	232.1 (201.9–290.2)	0.000

Note: 1 – reference values (Bertram P., 1992; Skalny A.V., 2000)

The number of the majority of essential and conditionally essential elements in the of patients' hair with an alcoholic history was within the average Russian values. However, significant differences in the number of elements between the patient groups were obtained for copper, manganese and zinc. Thus, the number of

copper ($p = 0.013$) and zinc ($p = 0.000$) in the hair of the examined first group was 1.4 lower than in the comparison group 2. The manganese number ($p = 0.05$), on the contrary, was also increased by 1.4 times in patients' hair of group 1.

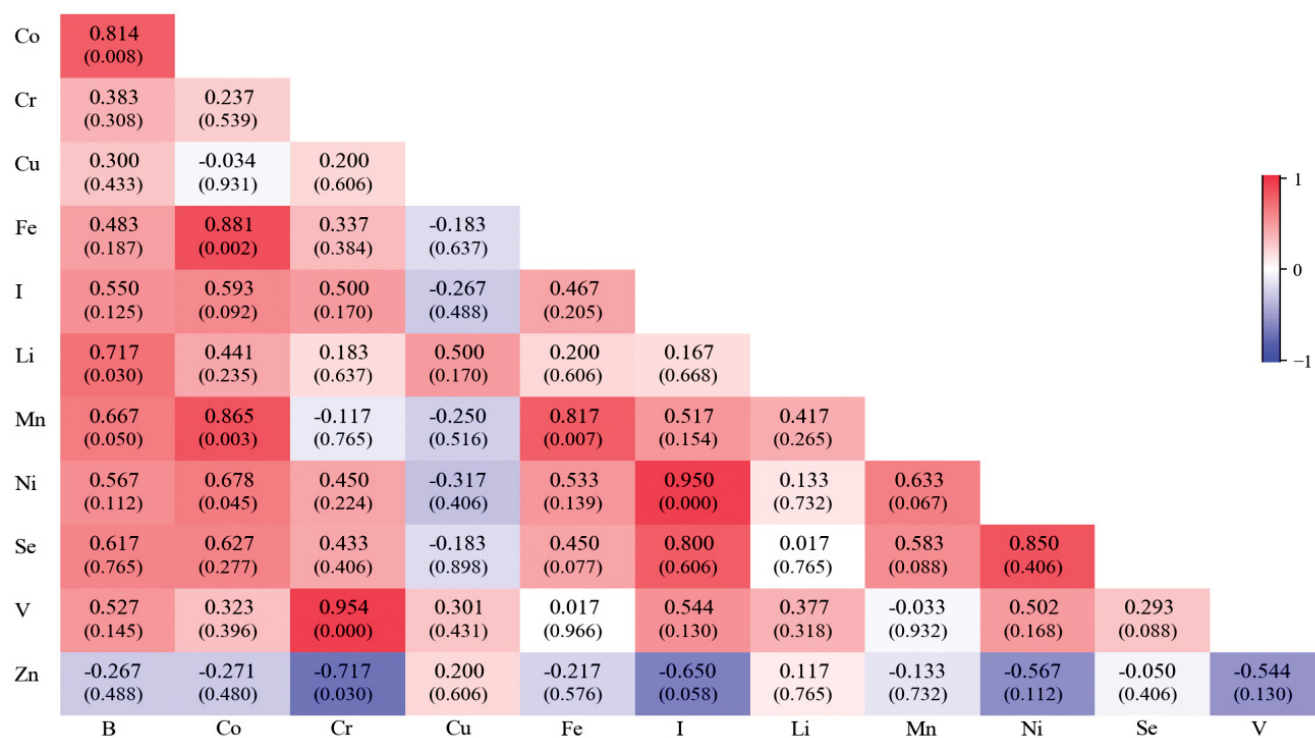


Fig. 1. Correlation matrix of mean values of the number of trace elements in the of patients' hair of group 1

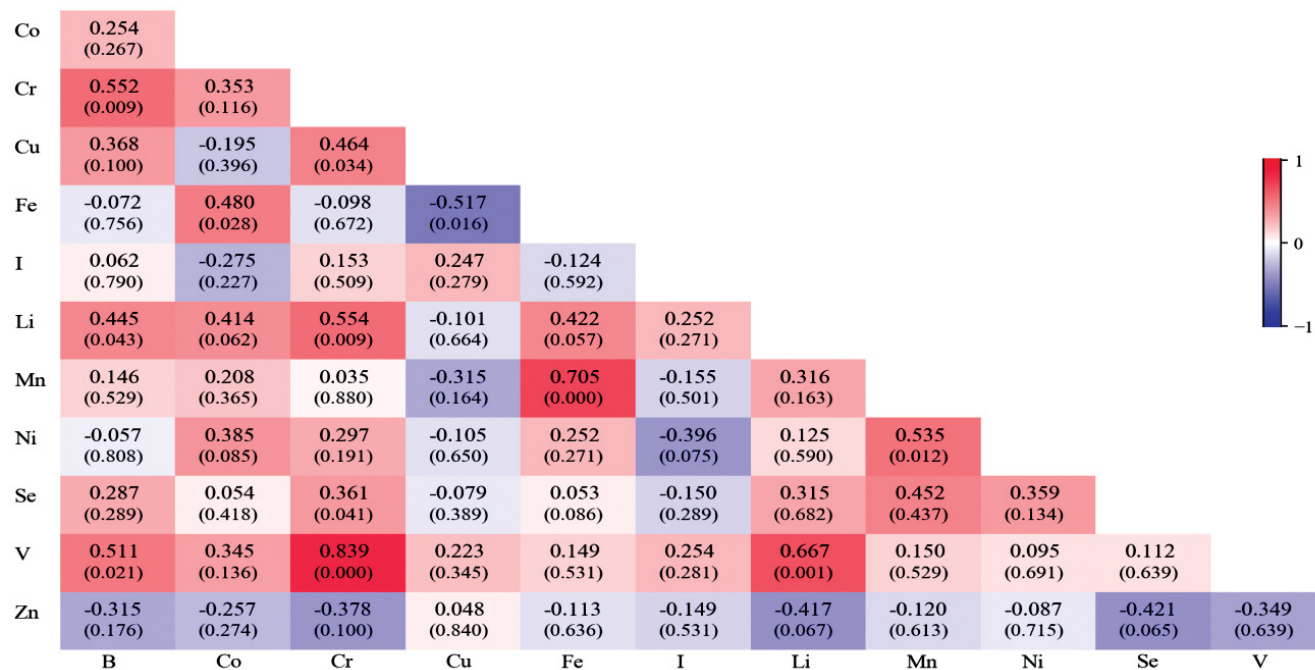


Fig. 2. Correlation matrix of middle values of the content of trace elements in the of patients' hair in the comparison group 2

It is known that chronic alcohol intoxication changes the levels of the main micro- and macroelements, which leads to a significant number of metabolic disorders [17]. Chronic alcohol use breaks zinc homeostasis, lowering its serum concentration by more than 25 % compared to healthy people [18, 19]. Alcohol-caused modulation of zinc transporters has been shown to reduce zinc levels in the lungs, liver, intestines and brain. Deficiency of zinc in the intestine leads to increased permeability of the intestinal wall, which ultimately leads to endotoxemia and systemic inflammation [20]. All this can affect the rate of reparative processes in various injuries. In addition, the data available in the literature indicate that the use of zinc preparations in the complex drug therapy of patients with break of the maxillofacial region who abuse alcohol is quite effective [21].

Attention is drawn to the decrease in the selenium number in the hair of the examined. It has been shown that selenium deficiency has a negative effect on physiological and reparative osteogenesis, manifested by impaired formation of bone regeneration, deterioration of the structural and functional state of bone tissue, the development of degenerative-necrotic changes in bone tissue and epiphyseal cartilage.

After conducting inter-element correlation analysis in each group of patients, we obtained the following data (Fig. 1, 2).

In the group of patients with an alcoholic history, 12 interelement relationships were identified: Co-B, Li-B, Mn-B, Fe-Co, Mn-Co, Ni-Co, V-Cr, Zn-Cr, Mn-Fe, Ni-I, Sn-I and Sn-Ni.

In the patients of the comparison group 2, 12 statistically significant relationships were also revealed: Cr-B, Li-B, V-B, Fe-Co, Cu-Cr, Li-Cr, V-Cr, Fe-Cu, V-Li, Ni- Mn, Sn-Mn. However, the correlations in this group were much weaker than in the group of patients with maxillofacial trauma who regularly took alcohol.

Our findings are consistent with previous studies. For example, Cezary Grochowski analyzed the interactions between seven trace elements (zinc, selenium, manganese, iron, copper, chromium, and cobalt) in the brain of alcohol abusers and people without an alcohol history. The number of correlations

was greater, and their strength was stronger in the group of patients with alcohol history.

Conclusion

In the course of the study, an increase in the content of manganese and a decrease in the content of selenium, zinc and copper were found in the hair of patients who consume alcohol. These elements mediate vital biochemical reactions, acting as cofactors for many enzymes, and also act as stabilizing centers for enzyme and protein structures. Deselementosis was accompanied by a significant increase in aspartate aminotransferase activity, as well as leukocytosis and lymphocytosis. Such an imbalance of chemical elements, in conjunction with a changed picture of peripheral blood and an increase in the activity of ASaT, can affect the timing and characteristics of the course of the reparative process.

As strategic proposals for solving such problems, the following can be noted:

- creation (reconstruction and development) of a resource base for the food and pharmaceutical industries;
- creation and production of adapted preparations for nutraceuticals and pharmaceutical correction of deficiency / excess of trace elements (based on physiological, regional requirements);
- formation of a range of food products for the conducting of information policy on the problem of «functional foods and 220 essential trace elements for human health»;
- consideration of proposals for inclusion in the regional program for monitoring the elemental state of the population, forming a scientific and methodological base for monitoring the elemental status of the population and correcting deviations, forming a joint supply of fortification ingredients for regional producers of products for social and mass food in accordance with the monitoring results;
- carrying out the integration of scientific research, considering the study of an interdisciplinary approach and a bioelementological approach, providing people with «blocks of life», including basic micronutrients as simple primary bio elements that provide real personalized nutrition and therapy in the process of recovery from injuries.

References

1. Ajsuvakova OP, Tinkov AA, Aschner M, Rocha JBT, Michalke B, Skalnaya MG, Skalny AV, Butnariu M, Dadar M, Sarac I, Aaseth J, Bjørklund G. Sulfhydryl groups as targets of mercury toxicity. *Coordination Chemistry Reviews*. 2020;417:213343. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213343>
2. Karganov MY, Medvedeva YS. Alteration of iron (fe), copper (cu), zinc (zn), and manganese (mn) tissue levels and speciation in rats with desferioxamine-induced iron deficiency. *BioMetals*. 2021;149:111973.
3. Tinkov AA, Voskresenskaya ON, Aaseth J, Tsatsakis A, Aschner M, Paoliello MMB, Martins AC, Mazilina AN, Skalny AV, Santamaria A, Notova SV, Lee E, Bowman AB. Molecular targets of manganese-induced neurotoxicity: a five-year update. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22:9:4646. doi: 10.3390/ijms22094646
4. Steinberg A. Prone restraint cardiac arrest: a comprehensive review of the scientific literature and an explanation of the physiology. *Med Sci Law*. 2021;1—12:47. doi:10.1177/0025802420988370
5. Chandrasekaran R, Lacy DB. The role of toxins in Clostridium difficile infection. *FEMS microbiology reviews*. 2019;41:723—750.
6. Garey KW. A randomized, double-blind, placebo-controlled, single and multiple ascending dose Phase 1 study to determine the safety, pharmacokinetics and food and faecal microbiome effects of ibezapolstat administered orally to healthy subjects. *Antimicrob Chemother*. 2020;75:3635—3643.
7. Barrio P, Gual A. Patient-centered care interventions for the management of alcohol use disorders: a systematic review of randomized controlled trials. *Patient Prefer. Adher*. 2016;10:1823—1845.
8. Barrio P, Wurst FM, Gual A. New Alcohol Biomarkers. New challenges. *Alcohol Alcohol*. 2018; 53:762—763.
9. Frazier HN, Maimaiti S, Anderson KL, Brewer LD, Gant JC, Porter NM, Thibault O. Calciums role as nuanced modulator of cellular physiology in the brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2017; 483:981—987.
10. Grochowski C, Blicharska E, Baj J, Mierzwin´ska A, Brzozowska K, Forma A, Maciejewski R. Serum iron, magnesium, copper and manganese levels in alcoholism: a systematic review. *Molecules*. 2019;24:1361.
11. Maini RN, Taylor PC. Anti-cytokine therapy for rheumatoid arthritis. *Annu Rev Med*. 2000;51:207—229. doi: 10.1146/annurev.med.51.1.207
12. Ogawa Y, Kinoshita M, Shimada S, Kawamura T. Zinc and skin disorders. *Nutrients*. 2018;10:199.
13. Palmer BF, Clegg DJ, Taylor SI, Weir MR. Diabetic ketoacidosis, sodium glucose transporter-2 inhibitors and the kidney. *J. Diabetes Complicat*. 2016;30:1162—1166.
14. Vincent JB, Lukaski HC. Chromium. *Adv. Nutr*. 2018;9:505—506.
15. Bogaevskaya OYu, Sokhov ST. Risks of injection pain relief in dental treatment. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24:1:61—68. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-1-61-68 (In Russian).
16. Durnova NA, Sheremetyeva AS, Karetnikova AYU. Analysis of the effect of caffeine and dioxidine on the biochemical parameters of the blood of mice. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25:1:73—79. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-1-73-79 (In Russian).

17. Emelyanova AS, Simonyan LA, Stepura EE. Analysis of the electrocardiogram of students with different levels of motor activity. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25:2:127—135. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-127-135 (In Russian).

18. Merkulova MA, Lapkin MM. Physiological cost as a factor determining the effectiveness of human activity in the reproduction of visual images. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24:3:253—261. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-3-253-26 (In Russian).

19. Sudakov KV. Information principle in physiology: analysis from the standpoint of the general theory of functional systems. *Advances in physiological sciences*. 1995;26:4:3—27. (In Russian).

20. Chests DV, Putintsev VA, Shekera VV, Bogomolov DV, Romanova OL. The use of modern forensic medical methods of postmortem diagnostics of blood loss. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25:2:154—161. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-154-161 (In Russian).

21. Chuchkova NN, Smetanina MV, Kormilina NV, Kanunnikova OM, Pazinenko KA. The cellular composition of the thymus in drug-related magnesium deficiency. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24:1:85—92. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-1-85-92 (In Russian).

Библиографический список


1. Ajsuvakova O.P., Tinkov A.A., Aschner M., Rocha J.B.T., Michalke B., Skalnaya M.G., Skalny A.V., Butnariu M., Dadar M., Sarac I., Aaseth J., Bjørklund G. Sulfhydryl groups as targets of mercury toxicity // *Coordination Chemistry Reviews*. 2020; Vol. 417. P. 213343. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213343>
2. Karganov M.Y., Medvedeva Y.S. Alteration of iron (fe), copper (cu), zinc (zn), and manganese (mn) tissue levels and speciation in rats with desferioxamine-induced iron deficiency // *BioMetals*. 2021; Vol. 149. P. 111973.
3. Tinkov A.A., Voskresenskaya O.N., Aaseth J., Tsatsakis A., Aschner M., Paoliello M.M.B., Martins A.C., Mazilina A.N., Skalny A.V., Santamaria A., Notova S.V., Lee E., Bowman A.B. Molecular targets of manganese-induced neurotoxicity: a five-year update // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. No. 9. P. 4646. doi: 10.3390/ijms22094646
4. Steinberg A. Prone restraint cardiac arrest: a comprehensive review of the scientific literature and an explanation of the physiology // *Med Sci Law*. 2021. Vol. 25. P. 1—12. doi:10.1177/0025802420988370
5. Chandrasekaran R., Lacy D.B. The role of toxins in Clostridium difficile infection // *FEMS microbiology reviews*. 2019. Vol. 41. P. 723—750.
6. Garey K.W. A randomized, double-blind, placebo-controlled, single and multiple ascending dose Phase 1 study to determine the safety, pharmacokinetics and food and faecal microbiome effects of ibezapolstat administered orally to healthy subjects // *J Antimicrob Chemother*. 2020. Vol. 75. P. 3635—3643.
7. Barrio P., Gual A. Patient-centered care interventions for the management of alcohol use disorders: A systematic review of randomized controlled trials. *Patient Prefer // Adher*. 2016. Vol. 10. P. 1823—1845.

8. Barrio P., Wurst F.M., Gual A. New Alcohol Biomarkers. New challenges // Alcohol Alcohol. 2018. Vol. 53. P. 762—763.
9. Frazier H.N., Maimaiti S., Anderson K.L., Brewer L.D., Gant J.C., Porter N.M., Thibault O. Calciums role as nuanced modulator of cellular physiology in the brain. Biochem. Biophys // Res. Commun. 2017. Vol. 483. P. 981—987.
10. Grochowski C., Blicharska E., Baj J., Mierzwin´ska A., Brzozowska K., Forma A., Maciejewski R. Serum iron, Magnesium, Copper, and Manganese Levels in Alcoholism: A Systematic Review // Molecules. 2019. Vol. 24. P. 1361.
11. Maini R.N., Taylor P.C. Anti-cytokine therapy for rheumatoid arthritis. Annu Rev Med. 2000. Vol. 51. P. 207—29. doi: 10.1146/annurev.med.51.1.207
12. Ogawa Y., Kinoshita M., Shimada S., Kawamura T. Zinc and Skin Disorders // Nutrients. 2018. Vol. 10. P. 199.
13. Palmer B.F., Clegg D.J., Taylor S.I., Weir M.R. Diabetic ketoacidosis, sodium glucose transporter-2 inhibitors and the kidney // J. Diabetes Complicat. 2016. Vol. 30. P. 1162—1166.
14. Vincent J.B., Lukaski H.C. Chromium. Adv. Nutr. 2018. Vol. 9. P. 505—506.
15. Богаевская О.Ю., Сохов С.Т. Риски инъекционного обезболивания при стоматологическом лечении // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24. № 1. С. 61—68. doi:10.22363/2313-0245-2020-24-1-61-68
16. Дурнова Н.А., Шереметьева А.С., Каретникова А.Ю. Анализ воздействия кофеина и диоксидина на биохимические показатели крови мышей // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2021. Т. 25. № 1. С. 73—79. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-1-73-79
17. Емельянова А.С., Симонян Л.А., Стенура Е.Е. Анализ электрокардиограммы студентов с разным уровнем двигательной активности // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2021. Т. 25. № 2. С. 127—135. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-127-135
18. Меркулова М.А., Лапкин М.М. Физиологическая стоимость как фактор, определяющий результативность деятельности у человека при воспроизведении зрительных образов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24. № 3. С. 253—261. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-3-253-26
19. Судаков К.В. Информационный принцип в физиологии: анализ с позиций общей теории функциональных систем // Успехи физиологических наук. 1995. Т. 26. № 4. С. 3—27.
20. Сундуков Д.В., Путинцев В.А., Шекера В.В., Богомолов Д.В., Романова О.Л. Использование современных судебно-медицинских методов посмертной диагностики кровопотери // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2021. Т. 25. № 2. С. 154—161. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-154-161
21. Чучкова Н.Н., Сметанина М.В., Кормилина Н.В., Канунникова О.М., Пазиненко К.А. Клеточный состав тимуса при лекарственно-обусловленном дефиците магния // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24. № 1. С. 85—92. doi:10.22363/2313-0245-2020-24-1-85-92

Содержание микроэлементов в волосах пациентов отделения челюстно-лицевой хирургии

М.Т. Гедулянов¹  , Е.В. Кияева² 

¹Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, г. Москва, Российская Федерация

²Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, Российская Федерация
 lambrador2@gmail.com

Аннотация. Актуальность проблемы травматизма постоянно возрастает, что связано с ростом дорожно-транспортных происшествий, увеличением числа межличностных конфликтов, доступностью огнестрельного и холодного оружия и т.д., Кроме того, удельный вес пострадавших с травмами челюстно-лицевой области в состоянии алкогольного опьянения постоянно растет. Целью исследования явился сравнительный анализ микроэлементов госпитализированных пациентов с челюстно-лицевой травмой, находящихся в состоянии алкогольного опьянения, острого травматического стресса, и изучение влияния травмы на баланс микроэлементов у пациентов отделения челюстно-лицевой хирургии с различным алкогольным анамнезом. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 30 пациентов мужского пола отделения челюстно-лицевой хирургии ГБУ здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница им. Ф.И. Иноземцева», расположенной в городе Москве. Все пациенты поступили в отделение по поводу травмы челюстно-лицевой области и были разделены на две группы: 15 из них систематически употребляли алкоголь и находились в состоянии алкогольного опьянения в момент получения травмы (1 группа), 15—без алкогольного анамнеза (группа сравнения 2). Всем пациентам был проведен общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови, а также определялось содержание эссенциальных и условно эссенциальных элементов в волосах. **Результаты и обсуждение.** В результате были выявлены достоверные отличия в содержании микроэлементов между группами пациентов: содержание меди ($p=0.013$) и цинка ($p=0.000$) в волосах обследованных первой группы было ниже в 1,4 по сравнению с группой сравнения

2. Содержание марганца ($p=0.05$), наоборот, оказалось повышенным в волосах пациентов 1 группы также в 1,4 раза. Кроме того, у пациентов с алкогольным анамнезом в крови был выявлен лейкоцитоз и повышение уровня АСТ. *Выводы.* Проведенное исследование показало повышение содержания марганца и снижение содержания селена, цинка и меди в волосах пациентов с алкогольным анамнезом. Дисэлементоз сопровождался достоверным повышением активности аспартатаминотрансферазы, а также лейкоцитозом и лимфоцитозом. Подобный дисбаланс химических элементов, в совокупности с изменением состава периферической крови и увеличением активности АСаТ, может отразиться на сроках и особенностях протекания репаративного процесса.

Ключевые слова: травматический стресс, алкоголь, микроэлементы

Вклад авторов. Авторы внесли равный вклад в подготовке рукописи.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.07.2021. Принята 14.09.2021.

Для цитирования: Gedulyanov M.T., Kiyayeva E.V. Trace elements content in the hair of patients at the maxillofacial surgery department // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 42–50. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-42-50








Corresponding author: Gedulyanov Marat Timurovich—PhD student, National Medical Research Center Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery, 119021, st. Timur Frunze, 16, Moscow, Russian Federation. E-mail: lambrador2@gmail.com
Gedulyanov M.T. ORCID 0000-0002-6819-2067
Kiyayeva E.V. ORCID 0000-0002-6476-7839

Ответственный за переписку: Гедулянов Марат Тимурович—аспирант, НМИЦ Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Российская Федерация, 119021, Москва, ул. Тимура Фрунзе, д. 16. E-mail: lambrador2@gmail.com
Гедулянов М.Т. ORCID 0000-0002-6819-2067 SPIN—код 6918-1117
Кияева Е.В. ORCID 0000-0002-6476-7839 SPIN-код 1007-6602

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-51-61

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ
ORIGINAL ARTICLE


Динамика аутоантител к белкам кардиомиоцитов на разных этапах моделируемых мышечных нагрузок

Н.Г. Беляев¹  , Э.Д. Лёвочкина¹ , В.А. Батулин² , И.В. Ржепаковский¹ ,
Т.В. Абасова^{2,3} , С.И. Писков¹ 

¹ Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

² Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

³ Городская клиническая поликлиника № 1, г. Ставрополь, Российская Федерация

 belyaev_nikolay@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Ранняя диагностика хронического перенапряжения среди спортсменов остается важной проблемой для тренеров и специалистов в области спортивной физиологии и медицины. *Цель* — изучить на модели животных динамику аутоиммунного ответа на физические нагрузки различной длительности и интенсивности и установить перспективность метода определения аутоантител к белкам кардиомиоцитов как индикатора морфофункционального состояния сердца в условиях адаптации к мышечным нагрузкам. *Материалы и методы.* Исследование проводилось на самцах белых крыс. Животные подвергались 9-недельной тренировке, моделируемой с помощью тредбана. Интенсивность нагрузки менялась углом наклона и скоростью движения ленты. Методом иммуноферментного анализа определялось в крови количество кардиоспецифических аутоантител (ауто-АТ) к тропонину I, к альфа-актину 1, к тяжелой цепи бета-миозина 7В. Измерялась относительная масса сердца. Проводилась гистоморфологическая оценка состояния кардиомиоцитов. Статистическая обработка данных проводилась посредством критериев Стьюдента и Манна–Уитни. *Результаты и обсуждение.* Тренировка животных сопровождалась умеренной гипертрофией сердца без патологических изменений кардиомиоцитов. Масса сердца в динамике 6–8–9 недель тренировок увеличилась на 6,9 %; 10,6 %; 12,9 %. Концентрации ауто-АТ к тропонину I и к альфа-актину 1 характеризовались цикличностью, проявляющейся увеличением на 2-й неделе и снижением к 8-й и 9-й неделям тренировки. В динамике 0–2–8–9 недель эксперимента количество ауто-АТ к тропонину I составило: 3,1±0,3; 4,2±0,9; 2,1±0,2; 2,0±0,04 нг/мл. Для ауто-АТ к актину: 26,7±1,2; 31,3±1,4; 13,7±1,8; 12,1±1,6 нг/мл, соответственно. Уровень ауто-АТ к бета-миозину проявился снижением в динамике 0–6–9 недель тренировки и составил: 16,3±0,9; 10,9±1,5; 8,2±0,8; 9,6±0,9 нг/мл. *Выводы.* Результаты определения кардиоспецифических ауто-АТ демонстрируют четкую реакцию иммунной системы на процессы, протекающие в кардиомиоцитах, что позволяет рекомендовать дальнейшее изучение метода определения ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов в качестве диагностического теста функционального состояния сердечной мышцы в период адаптации к физическим нагрузкам.

© Беляев Н.Г., Лёвочкина Э.Д., Батулин В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В., Писков С.И., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Ключевые слова: сердце, аутоантитела, белки кардиомиоцитов, тренировка

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования — Беляев Н.Г., Батуринов В.А., Лёвочкина Э.Д.; сбор и обработка материалов — Ржепаковский И.В., Лёвочкина Э.Д., Абасова Т.В.; анализ полученных данных, написание текста — все авторы; подготовка и редактирование рукописи: Беляев Н.Г., Писков С.И. Все авторы прочитали и согласились с представленной версией рукописи.








Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании. Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (№ 14876 ГУ/2019 от 17.12. 2019).

Поступила 21.12.2021. Принята 24.01.2022.

Для цитирования: Беляев Н.Г., Лёвочкина Э.Д., Батуринов В.А., Ржепаковский И.В., Абасова Т.В., Писков С.И. Динамика аутоантител к белкам кардиомиоцитов на разных этапах моделируемых мышечных нагрузок // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 51–61. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-51-61


Auto-antibodies to cardiomyocyte proteins dynamics at different stages of simulated muscle loads

Nickolai G. Belyaev¹  , Elvira D. Levochkina¹ , Vladimir A. Baturin² ,
Igor V. Rzhepakovsky¹ , Tatyana V. Abasova² , Sergey I. Piskov¹ 

¹ North Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

² Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

³ City Clinical Polyclinic No.1, Stavropol, Russian Federation

 belyaev_nikolay@mail.ru

Abstract. Relevance. Early diagnosis of chronic overtraining among athletes remains an important problem for coaches and specialists in the field of sports physiology and medicine. *The goal* is to study in an animal model the dynamics of autoimmune response to physical activity of different duration and intensity and to establish the prospects of the method of determining autoantibodies to cardiomyocyte proteins as an indicator of the morphofunctional state of the heart in the conditions of adaptation to muscle loads. *Materials and Methods.* The study was conducted in male white rats. Animals were subjected to 9 weeks of training simulated with treadmill. The intensity of the load changed the angle of inclination and the speed of the tape. The amount of cardiospecific autoantibodies (auto-AB) to troponin I, to alpha-actin 1, to the human cardiac beta-myosin heavy chain MYH7 was determined in the blood by enzyme immunoassay. The relative heart mass was measured. Histomorphological assessment of cardiomyocyte condition was carried out. Statistical processing was carried out using the Student and Mann-Whitney criteria. *Results and Discussion.* Animal training was accompanied by moderate cardiac hypertrophy of pathological changes in cardiomyocytes. Heart weight increased by 6.9 %; 10.6 %; 12.9 % in the dynamics of 6–8–9 weeks of training. Concentrations of auto-AB to troponin I and to alpha-actin 1 were characterized by cyclicity, manifested by an increase in week 2 and a decrease by the 8th and 9th weeks of training. In the dynamics of 0–2–8–9 weeks of the experiment, the amount of auto-AB to troponin I was: 3.1±0.3; 4.2±0.9; 2.1±0.2; 2.0±0.04 ng/ml. For auto-AB to actin: 26.7±1.2; 31.3±1.4; 13.7±1.8; 12.1±1.6 ng/ml, respectively. The level of auto-AB to beta-myosin was manifested by a decrease in the dynamics of 0–6–9 weeks of training and amounted to: 16.3±0.9; 10.9±1.5; 8.2±0.8; 9.6 ±0.9 ng/ml. *Conclusion.* The results of determining cardiospecific auto-AB demonstrate a clear response of the immune system to the processes taking place in cardiomyocytes, which makes it possible to recommend further study of the method of determining auto-AB to cardiomyocyte proteins as a diagnostic test of the functional state of the heart muscle during the period of adaptation to physical activity.

Keywords: heart, autoantibodies, cardiomyocyte proteins, training

Author contributions. The concept and design of the study — Belyaev N.G., Baturin V.A., Lyovochkina E.D.; collection and processing of materials — Rzhepakovsky I.V., Lyovochkina E.D., Abasova T.V.; analysis of the data obtained, writing the text — all authors; preparation and editing of the manuscript — Belyaev N.G., Piskov S.I. All authors have read and agreed with the submitted version of the manuscript.

Conflicts of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

Received 21.12.2021. Accepted 24.01.2022.

For citation: Belyaev NG, Levochkina ED, Baturin VA, Rzhepakovsky IV, Abasova TV, Piskov SI. Auto-antibodies to cardiomyocyte proteins dynamics at different stages of simulated muscle loads. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):51–61. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-51-61

Введение

Постоянно растущий объём тренировочных нагрузок, и эмоциональный накал соревновательной борьбы нередко являются причиной истощения адаптивных возможностей организма атлета и развития ряда острых и хронических патологических состояний. Изменения чаще всего возникают в системах, испытывающих наибольшую нагрузку в условиях тренировочной и соревновательной деятельности. Прежде всего, это сердечно-сосудистая система [1–5]. Значительные гемодинамические перестройки непосредственно в миокарде возникают при явном несоответствии интенсивности и объема физических нагрузок функциональным возможностям и состоянию здоровья спортсменов с последующим формированием хронического перенапряжения сердечно-сосудистой системы.

Необходимо отметить, что специфических и надежных способов диагностики хронического перенапряжения на ранних стадиях ее развития в настоящее время не найдено. Спортсмен воспринимает отсутствие прироста результата или его незначительное снижение как следствие неправильно организованных тренировок и наращивает их объем. Возможны и социальные мотивы, но в любом случае интенсификация тренировок и тем более участие в соревнованиях приводит к формированию целого комплекса нарушений в организме и прежде всего в сердечно-сосудистой системе. Изменения в сердечно-сосудистой системе могут быть настолько серьезными, что являться причиной внезапной смерти спортсмена [6–10].

В связи с этим ранняя диагностика и профилактика хронического перенапряжения среди спортсменов остается важной проблемой как для тренерско-преподавательского состава и спортсменов, так и для специалистов, работающих в области спортивной физиологии и медицины.

В настоящее время активно изучается возможность определения сывороточного содержания аутоантител (ауто-АТ) к белкам миокарда как информативного показателя функционального состояния ткани [11–13]. Перспективность применения данного метода для ранней диагностики состояния сердца лиц, занимающихся спортом, определяется тем, что любое заболевание может на начальных этапах не сказываться на общей и специальной работоспособности спортсмена. Однако уже на первых этапах развития нарушений меняется спектр продуктов, выделяемых поврежденными клетками в кровеносное русло, а также аутоантител, утилизирующих избыток секретлируемых продуктов. Такого рода биологические маркеры являются первыми индикаторами возможного неблагополучия, а профилактические меры, вовремя предпринятые, во многих случаях могут предотвратить угрозу развития нарушений. В то же время работы, освещающие динамику ауто-АТ к белкам кардиомиоцитов в процессе тренировочных занятий единичны.

Учитывая изложенное целью настоящего исследования являлось изучение на модели лабораторных животных динамики аутоиммунного ответа на физические нагрузки различной длительности и интенсивности и установление перспективности

метода определения аутоантител к белкам кардиомиоцитов как индикатора морфофункционального состояния сердечно-сосудистой системы в условиях адаптации к мышечным нагрузкам.

Материалы и методы

Экспериментальным материалом в наших исследованиях служили половозрелые лабораторные крысы-самцы линии Вистар с массой тела на начало эксперимента $349,0 \pm 48,0$ г. Экспериментальные работы с животными осуществлялись в соответствии с рекомендациями «О правовых, законодательных и этических нормах и требованиях при выполнении научных морфологических исследований» [14]. Проводимые исследования одобрены комиссией по биоэтике Института живых систем СКФУ (исследование № 2021–005 протокол № 11).

В эксперимент отбирались животные, имеющие одинаковый уровень физической работоспособности. Животные с изначально низкой физической работоспособностью, и у которых затруднена выработка рефлекса выполнения моделируемой мышечной нагрузки, в эксперимент не включались.

Крысы были разделены на две группы: контрольную и опытную по 36 животных в каждой. Животные контрольной группы содержались в обычных условиях вивария. Крысы опытной выборки служили объектом моделирования тренировочных нагрузок [15]. Тренировка животных осуществлялась с использованием тредбана (беговой дорожки) на протяжении 9 недель. В используемой методике выделялись следующие этапы тренировочного цикла: I — подготовительный (1–4 недели); II — разгрузочный (5–6 недели); III — этап интенсивной нагрузки (7–8 недели); IV — активного отдыха (9 неделя).

На каждом этапе тренировок необходимую интенсивность выполняемой беговой нагрузки регулировали углом наклона и скоростью движения ленты. Для I этапа тренировочного цикла скорость ленты составляла 20 м/мин, угол наклона — 0° . На II этапе скорость бега животных увеличивалась до 25 м/мин. Для III этапа скорость ленты составляла 30 м/мин,

угол наклона 10° . На IV этапе скорость бега животных снижалась до 20 м/мин, при угле наклона — 0° .

В процессе проводимых исследований на разных этапах тренировочного цикла ($n=6$) осуществляли взвешивание животных, определение массы сердца и надпочечников. Массу органов измеряли с помощью прецизионных весов ML203E (Mettler Toledo, Китай).

Общеклинические показатели крови (гемоглобин, эритроциты) определяли на ветеринарном гематологическом анализаторе Medonik M16 (Boule Medical AB, Швеция), с использованием специализированных наборов фирмы Boule (Швеция), в лаборатории «Центра клинической фармакологии и фармакотерапии» (г. Ставрополь, Россия).

Кардиоспецифические ауто-АТ определяли количественно, методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью высокочувствительного и высокоспецифичного набора фирмы Cloud-Clone Corp (США): к тропонину I (Anti-cTnI), к альфа-актину 1 (Anti-ACTC 1), к тяжелой цепи бета-миозина 7B (Anti-MYH7B). Использовали фотометр микропланшетного формата Multiskan FC (Thermo Scientific, США) с функцией автоматической калибровки, термостатируемый шейкер ST-3L (Elmi, Латвия), автоматический микропланшетный промыватель (Thermo Scientific, США).

В целях получения информации о возможных структурных изменениях в кардиомиоцитах проводили гистологическое исследование. Образцы тканей сердца фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина на протяжении 72 часов с последующим промыванием водопроводной водой в течение 24 часов, обезвоживанием в изопропиловом спирте и заключением в медицинский парафин Histomix (Biovitrum, Россия). Гистологические срезы толщиной 5–6 мкм производили на ротационном микротоме HM 325 (Termo, Германия). Готовые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Оценку микропрепаратов проводили с использованием лабораторного микроскопа Axio Imager 2 (A2) оснащенного системой визуализации изображений AxioCam MRc5 и программным обеспечением Zen 2012 Pro (Carl Zeiss Microscopy, Oberkochen, Германия).

Полученные данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики с использованием статистических пакетов «Statistics for Windows» v.6.0 и Biostat (version 4.03). Для оценки статистической значимости различий между выборками применяли t-критерий Стьюдента (при нормальном распределении переменных) и критерий Манна-Уитни (в случае отсутствия согласия данных с нормальным распределением). Полученные результаты фиксировали в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего арифметического ($M \pm m$). О достоверности различий величин исследуемых показателей судили при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования было установлено, что до начала тренировок максимальная продолжительность бега по движущейся ленте для животных соответствовала $97,4 \pm 4,3$ мин, через 9 недель тренировок возросла до $190,5 \pm 12,3$ мин ($P < 0,001$). У животных контрольной группы за аналогичный временной период физическая работоспособность не претерпела статистически значимых изменений и составила $84,4 \pm 16,9$ мин ($P = 0,473$).

Работа аэробного характера способствовала определенным адаптивным изменениям в организме животных. Прежде всего, отмечалось увеличение количества эритроцитов и содержания гемоглобина в крови. На начало эксперимента число эритроцитов в крови животных составляло $4,83 \pm 0,31 \times 10^{12}/л$. Через 4 недели тренировок этот показатель возрос до $5,72 \pm 0,25 \times 10^{12}/л$. ($P = 0,049$), к моменту окончания эксперимента концентрация эритроцитов увеличилась до $7,20 \pm 0,44 \times 10^{12}/л$ ($P = 0,001$).

Схожая картина регистрировалась и для значений концентрации гемоглобина. В динамике 0–6–9 недель средние величины уровня гемоглобина в крови составили $116,4 \pm 5,3$ г/л; $134,4 \pm 4,7$ г/л ($P = 0,029$) и $138,6 \pm 4,1$ г/л ($P = 0,008$) соответственно. В крови животных контрольной группы статистически значимых отличий в содержании определяемых форменных элементов крови и гемоглобина

к моменту окончания 9-ти недель эксперимента не отмечалось.

Тренировка физическими нагрузками динамического характера способствовала умеренной гипертрофии сердца животных. У крыс, выполнявших беговые нагрузки, масса сердца в динамике 6–8–9 недель тренировки значительно превосходила массу сердца животных контрольной группы на 6,9 % ($P < 0,001$); 10,6 % ($P < 0,001$); 12,9 % ($P < 0,001$) соответственно. Кроме того, на 8-й и 9-й неделе тренировки отмечалось статистически значимое увеличение массы надпочечников на 48,3 % ($P = 0,006$) и 60,5 % ($P = 0,004$) (рис. 1).

Выполнение животными беговых нагрузок сопровождалось изменениями в уровне ауто-АТ к кардиоспецифическим белкам в крови. При определении ауто-АТ к тропонину I выявлена тенденция к повышению их к концу 2-й недели тренировки и снижение в последующие этапы тренировочного цикла. При этом статистически максимально выраженное снижение уровня ауто-АТ к тропонину I регистрировалось по окончании 8-й и 9-й недель тренировки (табл. 1).

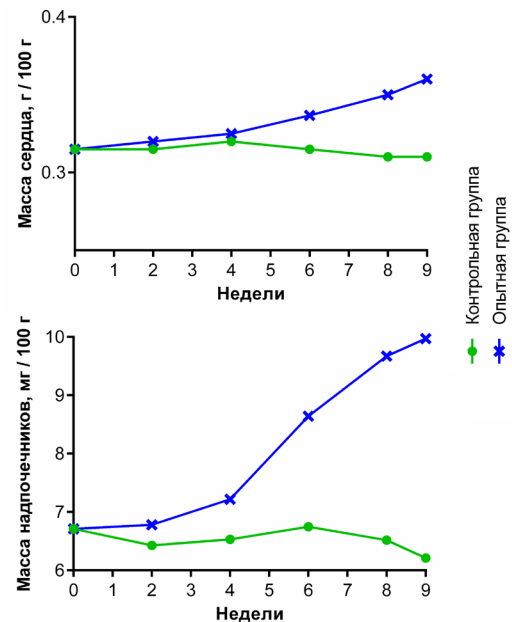


Рис. 1. Масса сердца и надпочечников крыс в динамике тренировочного процесса

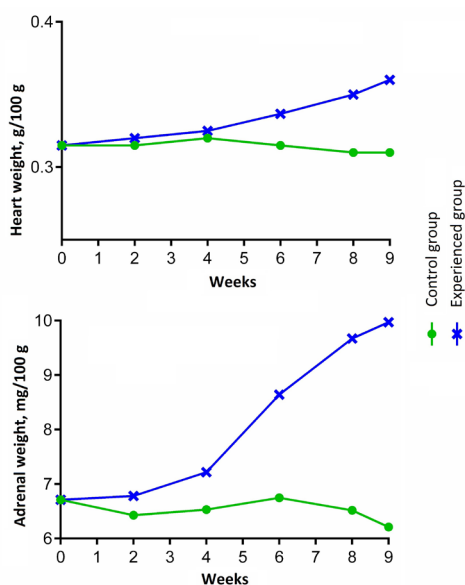


Fig. 1. Weight of the heart and adrenal glands of rats during training process

Таблица 1
Динамика аутоантител к белкам кардиомиоцитов (нг/мл) в крови крыс в процессе 9-ти недель тренировок

Недели тренировок	Аутоантитела к тропонину	Аутоантитела к альфа-актину 1	Аутоантитела к тяжелой цепи бета-миозина 7B
Начало эксперимента, (n=6)	3,1±0,3	26,7±1,2	16,3±0,9
2-я неделя, (n=6) P	4,2±0,9 0,273	31,3±1,4 0,032	16,2±1,2 0,948
4-я неделя (n=6) P	2,7±0,4 0,442	14,8±4,6 0,031	10,9±1,5 0,012
6-я неделя, (n=6) P	2,8±0,3 0,496	12,6±0,9 <0,001	8,2±0,8 <0,001
8-я неделя, (n=6) P	2,1±0,2 0,021	13,7±1,8 <0,001	12,7±2,5 0,205
9-я неделя, (n=6) P	2,0±0,04 0,005	12,1±1,6 <0,001	9,6±0,9 <0,001

Примечание. P – достоверность отличий по сравнению с данными на начало эксперимента

Table 1
Dynamics of autoantibodies to proteins of cardiomyocytes (ng/ml) in the blood of rats during 9 weeks of training, M±m

Training weeks	Autoantibodies to troponin I	Autoantibodies to alpha-actin 1	Autoantibodies to the heavy chain of beta-myosin 7B
Start experiment, (n=6)	3,1±0,3	26,7±1,2	16,3±0,9
2nd week, (n=6) P	4,2±0,9 0,273	31,3±1,4 0,032	16,2±1,2 0,948
4th week, (n=6) P	2,7±0,4 0,442	14,8±4,6 0,031	10,9±1,5 0,012
6th week, (n=6) P	2,8±0,3 0,496	12,6±0,9 <0,001	8,2±0,8 <0,001
8th week, (n=6) P	2,1±0,2 0,021	13,7±1,8 <0,001	12,7±2,5 0,205
9th week, (n=6) P	2,0±0,04 0,005	12,1±1,6 <0,001	9,6±0,9 <0,001

Note. P – reliability of differences in comparison with the data at the beginning of the experiment.

Для ауто-АТ к актину задокументирована схожая динамика, но с четкой статистически выраженной цикличностью: повышение уровня ауто-АТ к завершению 2-й недели тренировки с последующей его низкой величиной в динамике 4–9 недель эксперимента.

Уровень ауто-АТ к миозину у животных, выполнявших мышечные нагрузки динамического характера, на протяжении всего периода наблюдений был ниже величин, определяемых на начало эксперимента. Особо значимое снижение концентрации ауто-АТ к миозину регистрировалось в период окончания 6-й и 9-й недель тренировок.

По результатам гистологического исследования у крыс контрольной группы оболочки сердца эпикард, миокард и эндокард имели классическое строение. Кардиомиоциты образовывали функциональные мышечные волокна, анастомозирующие друг с другом. Сосуды умеренно кровенаполнены (рис. 2).

У животных, выполнявших беговые нагрузки, в период с 6 по 9 неделю тренировок обнаруживалось умеренное утолщение миокарда за счет капилляризации и кровенаполнения сосудов (рис. 3, 4). В кар-

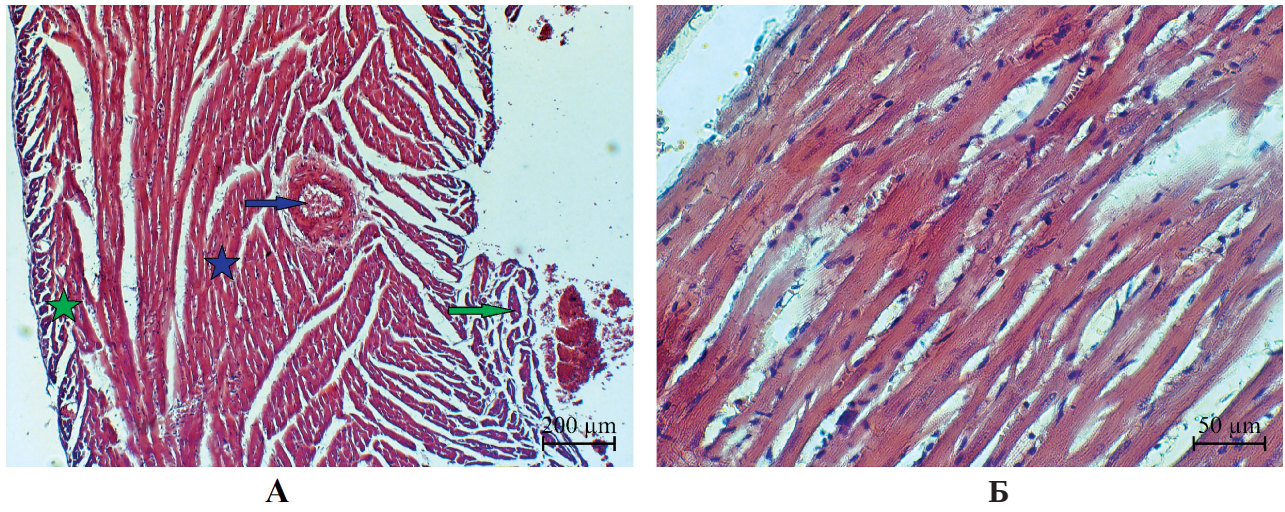


Рис. 2. Сердце крыс контрольной группы: А – поперечный срез, окраска гематоксилином и эозином $\times 50$, эпикард (отмечено зеленой звездочкой), миокард (отмечено синей звездочкой), эндокард (отмечено зеленой стрелкой), артериола (отмечено синей стрелкой); Б – миокард, кардиомиоциты, окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

Fig. 2. The heart of the rats of the control group: А – cross section, coloring with hematoxylin and eosin, $\times 50$, epicardium (indicated by green asterisk), myocardium (indicated by blue asterisk), endocardium (indicated by green arrow), arteriole (indicated by blue arrow); Б – myocardium, cardiomyocytes, coloring with hematoxylin and eosin, $\times 200$

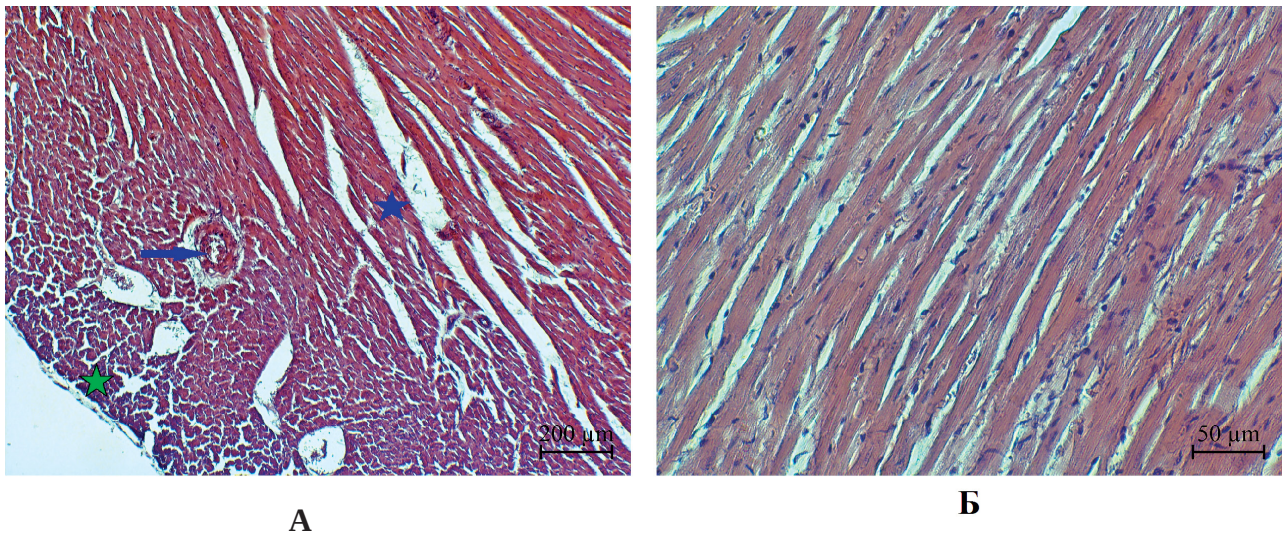


Рис. 3. . Сердце крыс опытной группы на 6-й неделе тренировок: А – поперечный срез, окраска гематоксилином и эозином $\times 50$, эпикард (отмечено зеленой звездочкой), миокард (отмечено синей звездочкой), артериола (отмечено синей стрелкой); Б – миокард, кардиомиоциты, окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

Fig. 3. The heart of the rats of the experimental group at the 6th week of training: А – cross section, coloring with hematoxylin and eosin, $\times 50$, epicardium (indicated by green asterisk), myocardium (indicated by blue asterisk), arteriole (indicated by blue arrow); Б – myocardium, cardiomyocytes, coloring with hematoxylin and eosin, $\times 200$

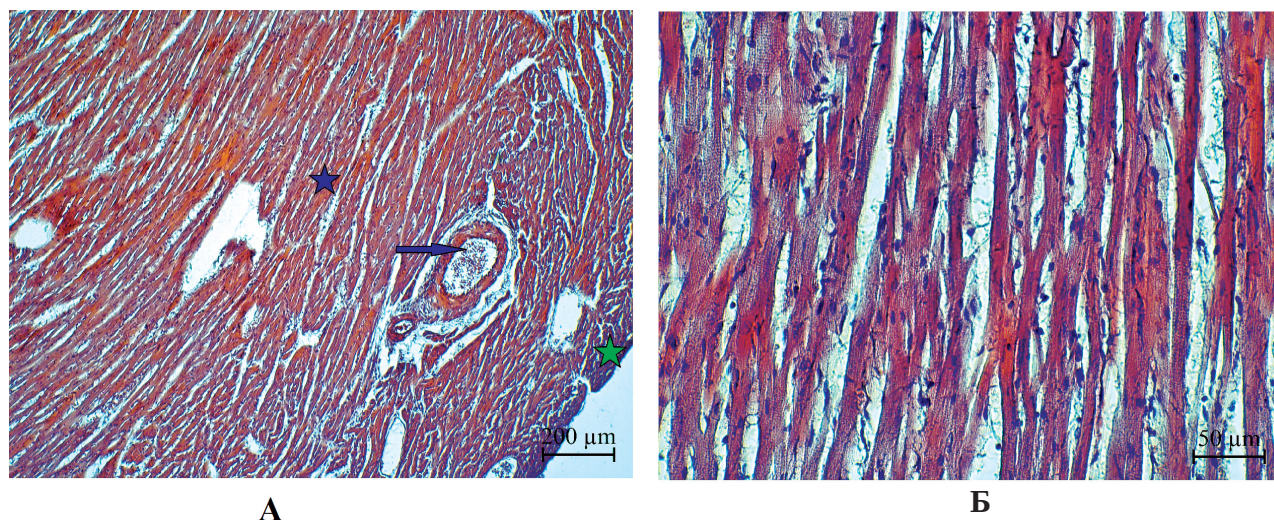


Рис. 4. Сердце крыс опытной группы на 9-й неделе тренировок: А – поперечный срез, окраска гематоксилином и эозином $\times 50$, эпикард (отмечено зеленой звездочкой), миокард (отмечено синей звездочкой), артериола (отмечено синей стрелкой); Б – миокард, кардиомиоциты, окраска гематоксилином и эозином $\times 200$

Fig. 4. The heart of the rats of the experimental group at the 9th week of training: A – cross section, coloring with hematoxylin and eosin, $\times 50$, epicardium (indicated by green asterisk), myocardium (indicated by blue asterisk), arteriole (indicated by blue arrow); Б – myocardium, cardiomyocytes, coloring with hematoxylin and eosin, $\times 200$

диомиоцитах не зарегистрировано патологических изменений, клетки хорошо и равномерно прокрашивались, визуализировалась поперечная исчерченность. Толщина адвентиции сосудов миокарда составляла до 50 % меди, интима без изменений. Обширных разрастаний соединительнотканых волокон не обнаруживалось.

Из представленных данных следует, что регулярное выполнение животными беговых нагрузок способствовало формированию положительных адаптивных изменений в системах вегетативного обеспечения работающего организма. Особый интерес при этом вызвали результаты исследования состояния кардиомиоцитов и динамики ауто-АТ к кардиоспецифическим белкам на разных этапах тренировочного цикла.

Выявленная в результатах тенденция к повышению ауто-АТ к кардиоспецифическим белкам в крови животных к концу 2-й недели тренировки логично перекликается с данными других исследователей [16–18], показывающими рост сердечных и сывороточных концентраций кардиоспецифических белков в ответ на тренировки на выносливость.

Зарегистрированное дальнейшее снижение количества ауто-АТ в процессе адекватных тренировочных нагрузок, по всей видимости, является свидетельством активации пластических процессов в миокарде и может являться показателем положительных адаптивных изменений в кардиомиоцитах под влиянием тренировочных нагрузок. Кроме того, опираясь на сведения Chen, Y. [19] полагаем, что это связано также с возвращением концентрации сывороточных кардиоспецифических белков к исходному уровню или даже ниже его и может объясняться локализованной и обратимой дегенерацией миоцитов, поскольку выраженное повреждение ткани миокарда сопровождается повышенным уровнем сывороточных белков кардиомиоцитов более длительно. В подтверждение этому выступают полученные нами результаты гистологического исследования, указывающие на умеренную гипертрофию миокарда и отсутствие выявленных патоморфологических изменений кардиомиоцитов. При этом наличие большого количества визуализируемых сосудов может свидетельствовать о протекании адаптивных изменений в сердце по рациональному типу, так

как не столько гипертрофия миоцитов, сколько капилляризация миокарда играют основную роль в повышении функциональных возможностей сердца [20]. Полученные результаты демонстрируют зависимость количественной динамики аутоантител от морфофункциональных процессов, протекающих в кардиомиоцитах в условиях адаптации к мышечным нагрузкам различной длительности и интенсивности. Вместе с тем с полной уверенностью о динамике аутоантител к белкам кардиомиоцитов как предиктора можно говорить только при имеющихся сведениях о состоянии иммунной системы в условиях физического перенапряжения. Возможность использования аутоантител к белкам кардиомиоцитов для донозологического обнаружения начинающихся патологических процессов в миокарде в случаях хронического физического перенапряжения требует дополнительных исследований и является целью нашего дальнейшего научного поиска.

Выводы

Результаты определения ауто-АТ к тропонину I, к альфа-актину 1, к тяжелой цепи бета-миозина 7В демонстрируют четкую реакцию иммунной системы на процессы, протекающие в кардиомиоцитах мышцы сердца, что позволяет рекомендовать дальнейшее изучение использования определения ауто-АТ к кардиоспецифическим белкам в качестве диагностического теста функционального состояния сердечной мышцы в период адаптации к физическим нагрузкам.

Библиографический список

1. Дорофейков В.В., Смирнов М.С., Зырянова И.В., Каешаров Ю.Ф. Высокочувствительный тропонин — новая эра в диагностике повреждений сердца у спортсменов // Мир спорта. 2019. № 2. С. 20—23.
2. Елфимова И.В., Елфимов Д.А., Белова А.А. Перенапряжение сердечно-сосудистой системы у биатлонистов // Медицинская наука и образование Урала. 2018. № 2. С. 108—113.
3. Кузнецова И.А. Нейрогуморальная регуляция сердечного ритма при различных электрокардиографических синдромах хронического физического перенапряжения у спортсменов // Современные вопросы биомедицины. 2018. Т. 2. № 1. С. 12—20.
4. Ходасевич Л.С., Чупрова С.Н., Абакумов А.А., Хечумян А.Ф. Внезапная сердечная смерть в спорте: факторы риска, нозологическая характеристика, направления профилактики // Спортивная медицина: наука и практика. 2016. Т. 6. № 3. С. 76—85.
5. Sitges M., Merino B., Butakoff C., de la Garza M.S., Paré C., Montserrat S. Characterizing the spectrum of right ventricular remodelling in response to chronic training // The International Journal of Cardiovascular Imaging. 2016;33(3):331—339. doi:10.1007/s10554-016-1014-x
6. Алимсултанов И.И., Крайнюков И.П. Внезапная смерть в спорте: причины, частота возникновения и профилактика // Известия российской военно-медицинской академии. 2020. Т. 39. № 2. С. 19.
7. Ларинцева О.С. Скрининг спортсменов на предмет внезапной сердечной смерти в разных странах. История и современность // Спортивная медицина: наука и практика. 2018. Т. 8. № 3. С. 96—102.
8. Шувалова Н.В., Драндров Г.Л., Ламмерт А.Г., Леженина С.В., Ильин М.В., Бубнова Л.Е. Внезапная коронарная смерть у спортсменов // Физическое воспитание и спортивная тренировка. 2020. Т. 2. № 32. С. 121—129.
9. Neilan T.G., Januzzi J.L., Lee-Lewandrowski E., Ton-Nu T.—T., Yoerger D.M., Jassal D.S. Myocardial Injury and Ventricular Dysfunction Related to Training Levels Among Nonelite Participants in the Boston Marathon // Circulation. 2006. Vol. 114. N22. P. 2325—2333. doi:10.1161/circulationaha.106.647461
10. Schmieid C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes // Journal of Internal Medicine. 2017. Vol. 275. N 2. P. 93—103. doi:10.1111/joim.12184
11. Мамцева Г.И., Батулин В.А., Нерсесьянц З.В. Диагностическое значение определения уровня антител к миозину при кардиомиопатии // Российский аллергологический журнал. 2012. № 1. С. 195—196.
12. El-Kased R.F. Immuno-analytical approach and its application for cardiac disease marker detection // Journal of Immunoassay and Immunochemistry. 2018. P. 1—13. doi:10.1080/15321819.2018.1518241
13. Тутов В.А., Игнатьева Е.С., Митрофанова Л.Б., Рыжкова Д.В., Зверев Д.А., Лебедев Д.С. Сравнительное исследование информативности неинвазивных методов диагностики воспалительных заболеваний миокарда // Российский кардиологический журнал. 2018. № 2. С. 53—59. doi:10.15829/1560-4071-2018-2-53-59
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. coun. of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
15. Беляев Н.Г. Структурные изменения в мышечном волокне в период адаптации к физическим нагрузкам различной интенсивности // Наука. Инновации. Технологии. Научный журнал Северо-Кавказского федерального Университета. 2014. № 2. С. 179—189.
16. Nie J., George K., Duan F., Tong T.K., Tian Y. Histological evidence for reversible cardiomyocyte changes and serum cardiac troponin T elevation after exercise in rats // Physiological Reports. 2016. Vol. 4. N 24. e13083. doi:10.14814/phy2.13083
17. Nie J., Tong T., Shi Q., Lin H., Zhao J., Tian Y. Serum Cardiac Troponin Response in Adolescents Playing Basketball. // International

Journal of Sports Medicine. 2008. Vol. 29. N 60. P. 449—452. doi:10.1055/s-2007-989236

18. Żebrowska A., Waśkiewicz Z., Nikolaidis P., Mikołajczyk R., Kawecki D., Rosemann T. Acute Responses of Novel Cardiac Biomarkers to a 24-h Ultra-Marathon // Journal of Clinical Medicine. 2019. Vol. 8. N 57. doi:10.3390/jcm8010057

19. Chen Y., Serfass R.C., Mackey-Bojack S.M., Kelly K.L., Titus J.L., Apple F.S. Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise // Journal of Applied Physiology. 2000. Vol. 88. N 5. P. 1749—1755. doi:10.1152/jappl.2000.88.5.1749

20. Pinckard K., Baskin K.K., Stanford K.I. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health // Frontiers in Cardiovascular Medicine. 2019. N 6. doi:10.3389/fcvm.2019.00069

References

1. Dorofeykov VV, Smirnov MS, Zyryanova IV, Kashkarov Yu F. Vysokochuvstvitel'nyy troponin—novaya era v diagnostike povrezhdeniy serdtsa u sportmenov. *Mir sporta*. 2019;2:20—23 (In Russian).

2. Elfimova IV, Elfimov DA, Belova AA. Perenapryazhenie serdechno-sosudistoy sistemy u biatlonistov. *Meditinskaya nauka i obrazovanie Urala*. 2018;2:108—113 (In Russian).

3. Kuznetsova I.A. Neyrogumoral'naya regulyatsii serdechnogo ritma pri razlichnykh elektrokardiograficheskikh sindromakh khronicheskogo fizicheskogo perenapryazheniya u sportmenov. *Sovremennye voprosy biomeditsiny*. 2018;2(1):12—20 (In Russian).

4. Khodasevich LS, Chuprova SN, Abakumov AA, Khechumyan AF. Vnezapnaya serdechnaya smert' v sporte: faktory riska, nozologicheskaya kharakteristika, napravleniya profilaktiki. *Sportivnaya meditsina: nauka i praktika*. 2016;6(3):76—85 (In Russian).

5. Sitges M, Merino B, Butakoff C, de la Garza MS, Paré C, Montserrat S. Characterizing the spectrum of right ventricular remodeling in response to chronic training. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. 2016;33(3): 331—339. doi:10.1007/s10554-016-1014-x

6. Alimsultanov II, Krainyukov IP. Vnezapnaya smert' v sporte: prichiny, chastota vozniknoveniya i profilaktika. *Izvestiya rossiyской voenno-meditsinskoy akademii*. 2020 39(2):19 (In Russian).

7. Larintseva OS. Skrining sportmenov na predmet vnezapnoy serdechnoy smerti v raznykh stranakh. Istoriya i sovremennost'. *Sportivnaya meditsina: nauka i praktika*. 2018;8(3):96—102 (In Russian).

8. Shuvalova NV, Drandrov GL, Lammert AG, Lezhenina SV, Il'in MV, Bubnova L.E. Vnezapnaya koronarnaya smert' u sportmenov. *Fizicheskoe vospitanie i sportivnaya trenirovka*. 2020;2(32):121—129 (In Russian).

9. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, Ton-Nu TT, Yoerger DM, Jassal DS. Myocardial Injury and Ventricular Dysfunction Related to Training Levels Among Nonelite Participants in the Boston Marathon. *Circulation*. 2006;114(22):2325—2333. doi:10.1161/circulationaha.106.647461

10. Schmied C, Borjesson M. Sudden cardiac death in athletes. *Journal of Internal Medicine*. 2017;275(2):93—103. doi:10.1111/joim.12184

11. Mamtseva GI, Baturin VA, Nerses'yants ZV. Diagnosticheskoe znachenie opredeleniya urovnya antitel k miozinu pri kardiomiopatii. *Rossiyskiy allergologicheskii zhurnal*. 2012;(1):195—196 (In Russian).

12. El-Kased R.F. Immuno-analytical approach and its application for cardiac disease marker detection. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*. 2018. doi:10.1080/15321819.2018.1518241

13. Titov VA, Ignat'eva ES, Mitrofanova LB, Ryzhkova DV, Zverev DA, Lebedev DS. Sravnitel'noe issledovanie informativnosti neinvazivnykh metodov diagnostiki vospalitel'nykh zabolevaniy miokarda. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal*. 2018;2:53—59. doi:10.15829/1560-4071-2018-2-53-59 (In Russian).

14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. coun. of Europe. Strasbourg, 1986.53 p.

15. Belyaev NG. Strukturnye izmeneniya v myshechnom volokne v period adaptatsii k fizicheskim nagruzkam razlichnoy intensivnosti. *Nauka. Innovatsii. Tekhnologii. Nauchnyy zhurnal Severo-Kavkazskogo federal'nogo Universiteta*. 2014;2:179—189.

16. Nie J, George K, Duan F, Tong TK, Tian Y. Histological evidence for reversible cardiomyocyte changes and serum cardiac troponin T elevation after exercise in rats. *Physiological Reports*. 2016;4(24): e13083. doi:10.14814/phy2.13083

17. Nie J, Tong T, Shi Q, Lin H, Zhao J, Tian Y. Serum Cardiac Troponin Response in Adolescents Playing Basketball. *International Journal of Sports Medicine*. 2008;29(6):449—452. doi:10.1055/s-2007-989236

18. Żebrowska A, Waśkiewicz Z, Nikolaidis P, Mikołajczyk R, Kawecki D, Rosemann T. Acute Responses of Novel Cardiac Biomarkers to a 24-h Ultra-Marathon. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(57). doi:10.3390/jcm8010057

19. Chen Y, Serfass RC, Mackey-Bojack SM, Kelly KL, Titus JL, Apple FS. Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *Journal of Applied Physiology*. 2000;88(5):1749—1755. doi:10.1152/jappl.2000.88.5.1749.

20. Pinckard K, Baskin KK, Stanford KI. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2019;6. doi:10.3389/fcvm.2019.00069

Ответственный за переписку: Беляев Николай Георгиевич— доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры анатомии и физиологии Медико-биологического факультета Северо-Кавказского федерального университета, Российская Федерация, 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина 1. E-mail: belyaev_nikolay@mail.ru

Беляев Н.Г. SPIN-код 9666-2587; ORCID 0000-0003-1751-1053

Лёвочкина Э.Д. SPIN-код 6883-6480; ORCID 0000-0002-1996-0920

Батурин В.А. SPIN-код 4015-4401; ORCID 0000-0001-6815-0767

Ржепаковский И.В. SPIN-код 4406-8285; ORCID 0000-0002-2632-8923

Абасова Т.А. SPIN-код 8199-6480; ORCID 0000-0003-0366-4446

Писков С.И. SPIN-код 3861-8679; ORCID 0000-0002-5558-5486

Corresponding author: Belyaev Nikolai Georgievich—Doctor of Biol. Sci., Professor, Professor of the Department of Anatomy and Physiology, Faculty of Medicine and Biology, North Caucasian Federal University, 355017, st. Pushkina 1, Stavropol, Russian Federation. E-mail: belyaev_nikolay@mail.ru

Belyaev N.G. ORCID 0000-0003-1751-1053

Levochkina E.D. ORCID 0000-0002-1996-0920

Baturin V.A. ORCID 0000-0001-6815-0767

Rzhepakovsky I.V. ORCID 0000-0002-2632-8923

Abasova T.V. ORCID 0000-0003-0366-4446

Piskov S.I. ORCID 0000-0002-5558-5486



DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-62-68

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ
ORIGINAL ARTICLE

Функциональное состояние сетчатки кроликов после воздействия низкочастотного ультразвука: анализ показателей электроретинограммы

А.С. Вафиев 

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Российская Федерация
ЗАО «Оптимедсервис», г. Уфа, Российская Федерация
✉ a.s.vafiev@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* В настоящее время несколькими группами ученых ведутся разработки по внедрению низкочастотного ультразвука в хирургию сетчатки и стекловидного тела, но нет достаточного количества работ по изучению функциональной активности сетчатки при воздействии данного вида энергии. Электрофизиологические методы исследования позволяют анализировать и оценивать безопасность, эффективность хирургических вмешательств, действие новых лекарственных средств на уровне нейронов и проводящих путей. Метод электроретинографии позволяет регистрировать биоэлектрическую активность нейронов сетчатки во время стимуляции светом при темновой и световой адаптации. *Цель.* Провести сравнительный анализ показателей а- и b- волны электроретинограммы кролика после экспериментального удаления стекловидного тела с помощью низкочастотного ультразвука и механического воздействия. *Материал и методы.* Были проведены эксперименты в двух группах кроликов породы Шиншилла (n=40). В экспериментальной группе хирургическое вмешательство по удалению стекловидного тела проводилось с помощью низкочастотного ультразвука, в контрольной группе применялся фрагментатор с гильотинным механизмом. До и после операции (1, 7, 14, 30 сутки) проводилась запись электроретинограммы, измерялись параметры амплитуды и латентности а- и b- волны. *Результаты и обсуждение.* В обеих группах на 1 сутки наблюдалось резкое снижение всех параметров. В дальнейшем, на 7 сутки динамика латентности а- и b- волн несколько снижалась по сравнению с дооперационными значениями. На 14 суткам после воздействия амплитуда и пиковая латентность а- и b- волн в обеих группах оставалось на том же уровне что и на 7 сутки. На 30 сутки показатели возрастали, что говорит о восстановлении функций фоторецепторов и клеток Мюллера в обеих группах. Статистических значимых различий между исследуемыми группами на всех сроках исследования не выявлено. *Выводы.* Применение низкочастотного ультразвука для удаления стекловидного тела может считаться безопасным и имеет перспективы для дальнейшего развития и применения.

Ключевые слова: электроретинограмма, низкочастотный ультразвук, сетчатка

© Вафиев А.С., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Вклад авторов. А.С. Вафиев — сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста.

Информация о конфликте интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.12.2021. Принята 24.01.2022.

Для цитирования: Вафиев А.С. Функциональное состояние сетчатки кроликов после воздействия низкочастотного ультразвука: анализ показателей электроретинограммы // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 62–68. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-62-68

The rabbits retina functional state after exposure to low-frequency ultrasound: electroretinogram indicators analysis

Aleksander S. Vafiev 

Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation
CJSC «Optimedservice», Ufa, Russian Federation
✉ a.s.vafiev@gmail.com

Abstract. Relevance. Currently, several groups of scientists are working on the implementation of low-frequency ultrasound in surgery of the retina and vitreous body. But there are not enough articles on the study of the functional activity of the retina when exposed to this type of energy. Electrophysiological research methods make it possible to analyze and evaluate the safety, effectiveness of surgical interventions, the effect of new drugs at the level of neurons and visual pathways. The electroretinography method makes it possible to record the bioelectrical activity of retinal neurons during light stimulation during dark and light adaptation. *The aim* of the study is to carry out a comparative analysis of the a- and b-wave indices of the rabbit electroretinogram after experimental removal of the vitreous body using low-frequency ultrasound and mechanical action. *Materials and Methods.* Experiments were carried out in two groups of Chinchilla rabbits (n = 40). In the experimental group, surgery to remove the vitreous body was performed using low-frequency ultrasound, in the control group a fragmentator with guillotine mechanism was used. Before and after the surgery (1, 7, 14, 30 days) an electroretinogram was recorded, the parameters of the amplitude and latency of the a- and b-waves were measured. *Results and Discussion.* In both groups, a sharp decrease in all parameters was observed on day 1. Later, on the 7th day, the dynamics of the latency of a- and b-waves slightly decreased than the preoperative values. On the 14th day after the exposure, the amplitude and peak latency of the a- and b- waves in both groups remained at the same level as on the 7th day. On the 30th day, the indicators increased, which indicates the restoration of the functions of photoreceptors and Mueller cells in both groups. There were no statistically significant differences between the study groups at all periods of the study. *Conclusion.* The use of low-frequency ultrasound for vitreous removal can be considered safe and has prospects for further development and application.

Keywords: electroretinogram, low-frequency ultrasound, retina

Author contributions. Vafiev A.S. — collecting and processing materials, analyzing the data obtained, writing text.

Conflict of interest statement. The author declares no conflict of interest.

Received 10.12.2021. Accepted 24.01.2022.

For citation: Vafiev AS. The rabbits retina functional state after exposure to low-frequency ultrasound: electroretinogram indicators analysis. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):62–68. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-62-68

Введение

На сегодняшний день самым распространенным методом хирургического лечения заболеваний сетчатки является удаление стекловидного тела с помощью механического воздействия [1–4]. Данный способ имеет определенные ограничения, например, уменьшение калибра фрагментатора ведет к снижению производительности системы. Однако технологии не стоят на месте, продолжается поиск медико-технических решений, направленных на уменьшение травматизации, повышение эффективности и безопасности хирургического лечения [5–7]. Актуальным является использование новых высокоэнергетических технологий, в частности перспективным методом является применение низкочастотного ультразвука.

Несколькими группами ученых предложено использование данного вида энергии, под воздействием которого стекловидное тело превращается в легкоудаляемую эмульсию [8–10]. Сотрудники кафедры офтальмологии с курсом ИДПО БГМУ и отдел микрохирургического оборудования ЗАО «Оптимедсервис» на базе отечественной офтальмохирургической системы «Оптимед Профи» разработали фрагментатор на основе ультразвуковых колебаний 32 кГц (РУ № ФСР 2011/11396 от 13.11.2013 г.), позволяющий проводить витрэктомии — удаление стекловидного тела [11–12]. Актуальным является проведение экспериментальных исследований для понимания характера воздействия низкочастотного ультразвука при интравитреальном воздействии на функциональное состояние сетчатки.

В настоящее время электрофизиологические исследования, в частности метод электроретинографии, являются одним из объективных методов оценки функционального состояния сетчатки, в частности фоторецепторов, нейронов первого и второго порядка, а также отражают биохимические и функциональные нарушения [13–17].

Цель исследования — провести сравнительный анализ показателей а- и в- волны электроретинограммы кролика после экспериментального удаления

стекловидного тела с помощью низкочастотного ультразвука и механического воздействия.

Материал и методы

Эксперименты были проведены на 40 кроликах породы Шиншилла (средний возраст $5 \pm 0,5$ месяцев). Опыты выполнялись в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ Минвуза от 13 ноября 1984 г. № 724), «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г., также получено разрешение ЛЭК ФГБОУ ВО БГМУ МФ РФ от 18 октября 2017 г. Кроликов содержали в стандартных условиях вивария, на обычном пищевом рационе.

Все кролики были разделены на 2 группы. В экспериментальной группе ($n=20$) была проведена вмешательство с помощью низкочастотного ультразвука (УЗ), рабочая частота инструмента имела составляла 32 кГц, в контрольной группе ($n=20$) — гильотинный механизм (ГМ), частота резов составляла 6000 рез/мин.

Были проведены однотипные операции на оба глаза. Операции были выполнены одним хирургом на универсальной офтальмологической микрохирургической системе «Оптимед Профи» (ЗАО «Оптимедсервис», Россия).

В полость глаза вводили фрагментатор калибра 25G (500 мкм) для удаления стекловидного тела (рис. 1). Самогерметизирующиеся порты устанавливались на 10, 12 и 14 часах. В обеих группах работали в течение 300 секунд. Выполняли удаление стекловидного тела с помощью ультразвука и механического воздействия.

До и после операции (1, 7, 14, и 30 сутки) в обеих группах кроликов проводилась запись электроретинограммы (ЭРГ) с помощью комплекса для электрофизиологических исследований Tomey ER-1000 (Япония). Все исследования проводились в стандартных условиях регистрации. Для записи и оценки палочковой, колбочковой системы и получения максимальных амплитуд и стабильных параметров латентности измерение проводили при

темновой и световой адаптации. Кроликам накладывались 3 электрода: заземляющий, референтный и линза-присоска на роговицу глаза (рис. 2). Импеданс на обоих глазах не превышал 4 кОм. Измерялась динамика и латентность а- и b- волн.



Рис. 1. Общий вид хирургического вмешательства
Fig. 1. General view of the surgical intervention

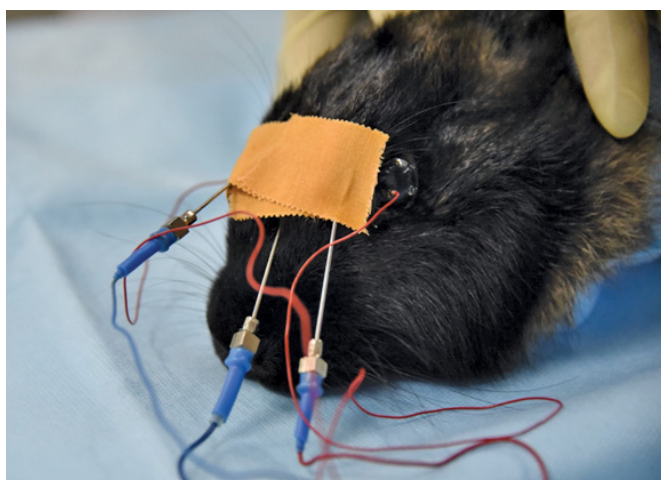


Рис. 2. Пример наложения электродов
Fig. 2. Example of applying electrodes

Для статистической обработки использовался пакет Statistica v. 11, Statsoft (США). Результаты

представлены в виде $M \pm Sd$, где M — выборочное среднее, Sd — стандартное отклонение. Сравнение количественных показателей между группами проводилось с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

До вмешательства с помощью ультразвука и механического воздействия амплитудно-временные характеристики и форма электроретинограммы экспериментальной и контрольной групп кроликов обладали схожими параметрами и имели классический вид. Наблюдались хорошо выраженные а- и b- волны (рис. 3).

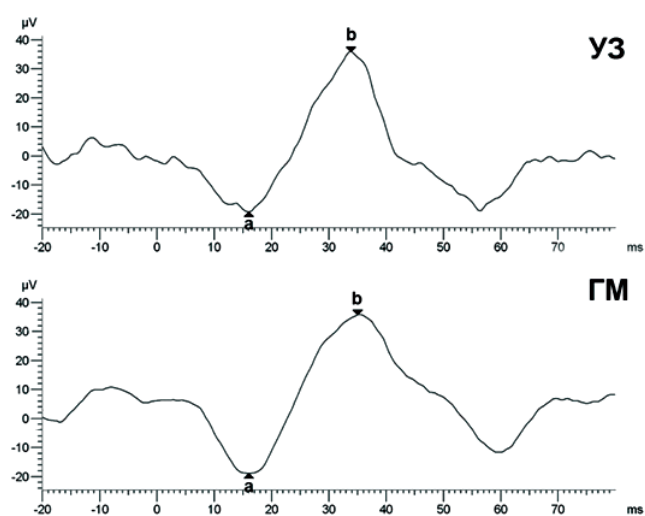


Рис. 3. Пример электроретинограммы кроликов в экспериментальной (УЗ) и контрольной (ГМ) группах до вмешательства

Fig. 3. An example of an electroretinogram of rabbits in the experimental (УЗ) and control (ГМ) groups before intervention

Значения амплитуды и латентности а- и b- волн в экспериментальной (УЗ) и контрольных группах (ГМ) представлены ниже.

Таблица 1

Показатели амплитуды и латентности а- и b- волн на всех сроках исследования (M±Sd)

		До операции	1 сутки	7 сутки	14 сутки	30 сутки
Амплитуда а- волны, мкВ	Экспериментальная группа (УЗ)	31,4±8,0	20,7±6,3	27,3±6,2	30,0±6,5	33,7±6,3
	Контрольная группа (ГМ)	32,3±7,2	21,6±5,8	27,3±5,7	33,2±5,5	34,4±6,2
Латентность а- волны, мс	Экспериментальная группа (УЗ)	15,5±1,3	16,2±1,9	11,9±1,2	14,9±1,1	14,6±1,5
	Контрольная группа (ГМ)	15,9±1,3	15,4±2,2	13,2±1,2	14,8±1,2	14,9±1,2
Амплитуда b- волны, мкВ	Экспериментальная группа (УЗ)	100,2±7,4	69,4±7,2	84,8±6,8	88,8±6,4	89,9±5,6
	Контрольная группа (ГМ)	101,0±7,0	71,2±6,3	85,7±6,6	89,9±6,2	90,9±6,1
Латентность b- волны, мс	Экспериментальная группа (УЗ)	42,8±8,3	32,5±6,4	33,2±6	34,9±6,1	44,8± 4,0
	Контрольная группа (ГМ)	45,2±6,8	34,2±6,2	34,1±5,7	34,9±6,4	44,8± 4,1

Table 1

Amplitude and latency of a- and b-waves at all periods of the study (M±Sd)

		Before surgery	1 day	7 day	14 day	30 day
a- waves amplitude, мкВ	Experimental group (US)	31,4±8,0	20,7±6,3	27,3±6,2	30,0±6,5	33,7±6,3
	Control group (GM)	32,3±7,2	21,6±5,8	27,3±5,7	33,2±5,5	34,4±6,2
a- wave latency, мс	Experimental group (US)	15,5±1,3	16,2±1,9	11,9±1,2	14,9±1,1	14,6±1,5
	Control group (GM)	15,9±1,3	15,4±2,2	13,2±1,2	14,8±1,2	14,9±1,2
b- waves amplitude, мкВ	Experimental group (US)	100,2±7,4	69,4±7,2	84,8±6,8	88,8±6,4	89,9±5,6
	Control group (GM)	101,0±7,0	71,2±6,3	85,7±6,6	89,9±6,2	90,9±6,1
b- wave latency, мс	Experimental group (US)	42,8±8,3	32,5±6,4	33,2±6	34,9±6,1	44,8± 4,0
	Control group (GM)	45,2±6,8	34,2±6,2	34,1±5,7	34,9±6,4	44,8± 4,1

Спустя сутки после воздействия в обеих группах исследования происходило уменьшение амплитуды и удлинение пиковой латентности а- и b- волн, что свидетельствовало о ухудшении функционального состояния колбочковых и палочковых фоторецепторов.

К 7 после воздействия амплитуда а- и b- волн в обеих группах исследования имела тенденцию к возрастанию, в свою очередь, пиковая латентность волн сохранялась, что говорит о незначительном восстановлении функциональных свойств фоторецепторов.

К 14 суткам после воздействия амплитуда и пиковая латентность а- и b- волн в обеих группах оставалось на том же уровне что и на 7 сутки.

На 30 сутки после воздействия амплитуда и пиковая латентность а- и b- волн электроретинограммы восстановились до уровня дооперационных значений как в группе экспериментальных животных, так и в контрольной. Это может говорить о функциональном восстановлении фоторецепторов и клеток Мюллера.

В результате сравнения амплитуды и латентности а- и b- волн на 1, 7, 14, 30 сутки между двумя группами не было выявлено статистических значимых различий ($p < 0,05$).

Таким образом, после проведения вмешательства с помощью низкочастотного ультразвука и гильотинного механизма отмечалось снижение амплитудно-временных характеристик на 1 сутки с последующим постепенным восстановлением к 30 суткам. Статистически значимых различий между группами на всех сроках исследования не наблюдалось.

Выводы

Исходя из сравнительного анализа показателей а- и b- волн электроретинограммы кролика после экспериментального удаления стекловидного тела с помощью низкочастотного ультразвука и механического воздействия не выявлено статистических различий. Таким образом, основываясь на проведенной электрофизиологической оценке, можно заключить, что применение низкочастотного ультразвука для удаления стекловидного тела может считаться безопасным и имеет перспективы для дальнейшего развития и применения.

Библиографический список

1. Charles S., Calzada J., Wood B. Vitreous Microsurgery // Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. 2011. 259 p.
2. Saxena S., Meyer C.H., Ohji M., Akduman L. Vitreoretinal surgery // London: Jaypee Brothers Medical Publishers. 2012. 442 p.
3. Ильяхин О.Е., Фролов М.А., Игнатенко К.В. Функциональные результаты хирургического лечения отслойки сетчатки // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24. № 2. С. 156—162. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-2-156-162

4. Халимов Т.А. Особенности ангиогенеза при заболеваниях глаз // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2021. Т. 25. № 2. С. 106—113. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-106-113
5. Pavlidis M. Two-Dimensional Cutting (TDC) Vitrectome: In vitro flow assessment and prospective clinical study evaluating core vitrectomy efficiency versus standard vitrectome // Hindawi Journal of Ophthalmology. 2016. P. 1—6. doi: 10.1155/2016/3849316
6. Mohamed S., Claes C., Tsang C.W. Review of Small Gauge Vitrectomy: Progress and Innovations // Hindawi Journal of Ophthalmology. 2017. P. 1—9. doi: 10.1155/2017/6285869
7. Pastor-Idoate S., Bonshek R., Irion L., Zambrano I., Carlin P., Mironov A. et al. Ultrastructural and histopathologic findings after pars plana vitrectomy with a new hypersonic vitrector system. Qualitative preliminary report // PLOS one. 2017. № 4. P. 1—16. doi: 10.1371/journal.pone.0173883
8. Aznabaev B.M., Dibaev T.I., Mukhamadeev T.R., Vafiev A.S., Shavaliyev I. Kh. Twenty-five gauge ultrasonic vitrectomy: experimental and clinical performance analysis // Retina. 2020. № 7. P. 1443—1450. doi: 10.1097/IAE.0000000000002863
9. Stanga P.E., Pastor-Idoate S., Zambrano I., Carlin P., McLeod D. Performance analysis of a new hypersonic vitrector system // Plos One. 2017. № 12. P. 1—15. doi: 10.1371/journal.pone.0178462
10. Wuchinich D. Ultrasonic vitrectomy instrument // Physics Procedia. 2015. № 63. P. 217—222. doi: 10.1016/j.phpro.2015.03.035
11. Азнабаев Б.М., Дибаяев Т.И., Мухаммадеев Т.Р., Вафиев А.С., Шавалиев И.Х. Ультразвуковая витрэктомия: исследование скорости удаления стекловидного тела в эксперименте и клинике // Практическая медицина. Т. 16. № 4. С. 56.
12. Азнабаев Б.М., Дибаяев Т.И., Мухаммадеев Т.Р., Рахимов А.Ф. Экспериментальное исследование производительности ультразвукового витреотома // Катарактальная и рефракционная хирургия. 2017. Т. 17. № 2. С. 48—51.
13. Зуева М.В. Фундаментальная офтальмология: роль электрофизиологических исследований // Вестник офтальмологии. 2014. № 6. С. 28—29.
14. Мухаммадеев Т.Р., Ахмадеев Р.Р. Светоиндуцированная суммарная электрическая активность сетчатки при моделировании некоторых патологических процессов in vivo и in vitro // Саратовский научно-медицинский журнал. 2018. Т. 14. № 4. С. 903—909.
15. Кошелев Д.И. Корреляции параметров электроретинограммы, аксиальной длины глаза и остроты зрения при эмметропии у человека // Автореф. дис. канд. биол. наук. — Санкт-Петербург. 2004. 20 с.
16. Куликов А.Н., Сосновский С.В., Николаенко Е.Н. Анализ динамики электрогенеза сетчатки и зрительного нерва после витрэктомии по поводу осложнённой хирургии катаракты // Офтальмологические ведомости. 2018. Т. 11. № 3. С. 34—47. doi: 10.17816/OV11334-47
17. Ахмадеев Р.Р., Тимербулатов И.Ф., Кошелев Д.И., Евтушенко Е.М., Тимербулатова М.Ф. Критическая частота слияния мельканий и зрительные вызванные потенциалы при компьютерной нагрузке // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2019. Т. 23. № 2. С. 178—186. doi: 10.22363/2313-0245-2019-23-2-178-186

References

1. Charles S, Calzada J, Wood B. Vitreous Microsurgery. *Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business*. 2011. 259 p.
2. Saxena S, Meyer CH, Ohji M, Akduman L. Vitreoretinal surgery. *London: Jaypee Brothers Medical Publishers*. 2012. 442 p.
3. Ilyukhin OE, Frolov MA, Ignatenko KV. Functional results of surgical treatment of retinal detachment. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24(2):156—162. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-2-156-162
4. Khalimov TA. Features of angiogenesis in eye diseases. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25(2):106—113. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-2-106-113
5. Pavlidis M. Two-Dimensional Cutting (TDC) Vitrectome: In vitro flow assessment and prospective clinical study evaluating core vitrectomy efficiency versus standard vitrectome. *Hindawi Journal of Ophthalmology*. 2016;1—6. doi: 10.1155/2016/3849316
6. Mohamed S, Claes C, Tsang CW. Review of Small Gauge Vitrectomy: Progress and Innovations. *Hindawi Journal of Ophthalmology*. 2017;1—9. doi: 10.1155/2017/6285869
7. Pastor-Idoate S, Bonshek R, Irion L, Zambrano I, Carlin P, Mironov A. et al. Ultrastructural and histopathologic findings after pars plana vitrectomy with a new hypersonic vitrector system. Qualitative preliminary report. *PLOS one*. 2017;4:1—16. doi: 10.1371/journal.pone.0173883
8. Aznabaev BM, Dibaev TI, Mukhamadeev TR, Vafiev AS, Shavaliyev IKh. Twenty-five gauge ultrasonic vitrectomy: experimental and clinical performance analysis. *Retina*. 2020;7:1443—1450. doi: 10.1097/IAE.0000000000002863
9. Stanga PE, Pastor-Idoate S, Zambrano I, Carlin P, McLeod D. Performance analysis of a new hypersonic vitrector system. *Plos One*. 2017;12:1—15. doi: 10.1371/journal.pone.0178462
10. Wuchinich D. Ultrasonic vitrectomy instrument. *Physics Procedia*. 2015;63:217—222. doi: 10.1016/j.phpro.2015.03.035
11. Aznabaev BM, Dibaev TI, Mukhamadeev TR, Vafiev AS, Shavaliyev IKh. Ultrasonic vitrectomy: performance evaluation in experimental and clinical conditions. *Practical Medicine*. 2018; 6(4):56—62.
12. Aznabaev BM, Dibaev TI, Mukhamadeev TR, Rakhimov AF. Experimental study of the performance of an ultrasound vitrectome. *Cataract and refractive surgery*. 2017;17(2):48—51.
13. Zueva MV. Fundamental ophthalmology: the role of electrophysiological research. *Bulletin of ophthalmology*. 2014;6:28—29.
14. Mukhamadeev TR, Ahmadeev RR. Light-induced total electrical activity of retina in models of particular disorders in vivo and in vitro. *Saratov journal of medical scientific research*. 2018;14(4):903—909.
15. Koshelev DI. Correlation of parameters of electroretinogram, axial length of the eye and visual acuity in emmetropia in humans. *PhD Thesis*. St. Petersburg. 2004. 20 p.
16. Kulikov AN, Sosnovskiy SV, Nikolaenko EN. Analysis of the dynamics of retinal and optic nerve electrogenesis after vitrectomy for complicated cataract surgery. *Ophthalmologicheskie vedomosti*. 2018;11(3):34—47. doi: 10.17816/OV11334-47
17. Akhmadeev RR, Timerbulatov IF, Koshelev DI, Evtushenko EM, Timerbulatova MF. Critical Frequency of Flicker Merging and Visual Potentials under Computer Load. *RUDN Journal of Medicine*. 2019;23(2):178—186. doi: 10.22363/2313-0245-2019-23-2-178-186

Ответственный за переписку: Вафиев Александр Сергеевич — старший лаборант кафедры офтальмологии Башкирского государственного медицинского университета, Российская Федерация, 490059, г. Уфа, ул. 50 лет СССР, д. 8. E-mail: a.s.vafiev@gmail
SPIN-код 2185-0466; ORCID 0000-0002-0541-3248


Corresponding author: Aleksandr S. Vafiev — senior laboratory assistant of the Department of Ophthalmology of Bashkir State Medical University, 490059, 50 let USSR st., 8, Ufa, Russian Federation. E-mail: a.s.vafiev@gmail.com
ORCID 0000-0002-0541-3248

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-69-78

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ
ORIGINAL ARTICLE

Влияние настоя *Astragalus membranaceus* на обучение крыс в радиальном лабиринте

А.Ю. Каретникова , У.А. Матвиенко , Д.А. Савинова ,
Э.А. Деникаева , Н.А. Дурнова  

Саратовский государственный медицинский университет, г. Саратов, Российская Федерация
 ndurnova@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Лечение когнитивных нарушений представляет собой серьезную проблему современной медицины. Болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона являются хроническими прогрессирующим нейродегенеративными заболеваниями и наиболее распространенной причиной развития прогрессирующей деменции у пожилых людей. Эффективной терапии этих заболеваний не существует, поэтому необходим поиск интегрированных методы лечения, включая фитотерапию. *Цель исследования* — изучение кратковременной и долговременной памяти крыс в тесте «восьмирукавный радиальный лабиринт» под влиянием многократного введения настоя травы астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge). *Материалы и методы.* Эксперимент был проведен на 18 нелинейных крысах, разделенных на 3 группы — контрольную и 2 опытные. Животные в течение 21-х суток ежедневно внутрижелудочно получали кофеин в дозе 5 мг/кг, настой астрагала перепончатого в дозе 100 мг/кг. Контрольной группе вводили питьевую воду по массе. Для изучения когнитивных функций проводили тест радиальный лабиринт, выполняя две серии тестирований — на 2–7 и 16–21 сутки. *Результаты и обсуждение.* В ходе проведенного исследования было установлено, что при продолжительности тестирования животных на протяжении 2–7 дней, значимые изменения между группами отсутствовали. При увеличении длительности введения исследуемых веществ к 16–21 суткам эксперимента при второй серии тестирования наблюдалось увеличение баллов памяти как у второй (кофеин, 5 мг/кг), так и у третьей (астрагал перепончатый, 100 мг/кг) опытных групп. *Выводы.* Введение кофеина в дозировке 5 мг/кг влияло на активацию кратковременной и долговременной памяти при продолжительности введения более 17-ти суток — на 2-ом этапе тестирования. Астрагал перепончатый (100 мг/кг) вызывал активацию рабочей и долговременной пространственной памяти с 16-х суток эксперимента — на 2-ой серии тестов.

Ключевые слова: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge, настой, экстракт, когнитивные функции, поведенческие реакции, кофеин

Вклад авторов: все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

© Каретникова А.Ю., Матвиенко У.А., Савинова Д.А., Деникаева Э.А., Дурнова Н.А., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>


Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.12.2021. Принята 24.01.2022.

Для цитирования: Каретникова А.Ю., Матвиенко У.А., Савинова Д.А., Деникаева Э.А., Дурнова Н.А. Влияние настоя *Astragalus membranaceus* на обучение крыс в радиальном лабиринте // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 69–78. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-69-78

***Astragalus membranaceus* infusion effect on rats learning in the radial maze**

Alena Yu. Karetnikova , **Uliana A. Matvienko** , **Daria A. Savinova** ,
Elvira A. Denikaeva , **Natalya A. Durnova**  

Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation
 ndurnova@mail.ru

Abstract. Relevance. Treatment of cognitive impairment is a serious problem for modern medicine. Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease are chronic progressive neurodegenerative diseases and the most common cause of progressive dementia in the elderly. There is no effective therapy for these diseases, so it is necessary to search for integrated therapies, including herbal medicine. *The aim* was to study a short-term and long-term memory of rats in the test «eight-arm radial maze» under the influence of repeated administration of an aqueous extract of the herb *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge. *Materials and Methods.* The experiment was carried out on 18 non-linear rats, divided into 3 groups — control and 2 experimental. For 21 days, the animals received daily intragastric caffeine at a dose of 5 mg/kg, infusion an aqueous extract of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge at a dose of 100 mg/kg. The control was injected with drinking water by weight. To study the cognitive functions of the maze, performing two series of tests — at 2–7 and 16–21. *Results and Discussion.* In the course of the study, it was found that when the animals were tested for 2–7 days, there were no significant changes between the groups. With an increase in the duration of administration of the test substances by the 16–21 days of the experiment, in the second test series, an increase in memory points was observed both in the second (caffeine, 5 mg/kg) and in the third (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge, 100 mg/kg) of the experimental groups. *Conclusion.* The introduction of caffeine at a dosage of 5 mg/kg influenced the activation of short-term and long-term memory with a duration of more than 17 days of administration — at the 2nd stage of testing. *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge (100 mg/kg) caused the activation of working and long-term spatial memory from the 16th day of the experiment — on the 2nd series of tests.

Keywords: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge, infusion, extract, cognitive functions, behavioral responses, caffeine

Author contributions. All authors made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Conflicts of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

Received 22.12.2021. Accepted 24.01.2022.

For citation: Karetnikova AYu, Matvienko UA, Savinova DA, Denikaeva EA, Durnova NA. *Astragalus membranaceus* infusion effect on rats learning in the radial maze. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):69–78. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-69-78

Введение

Когнитивные расстройства — это категория нарушений психического здоровья, которые в первую очередь влияют на обучение, память, восприятие и решение проблем [1]. Лечение нарушений памяти, и в более общем понятии — когнитивных нарушений, представляет собой, в свете их влияния на глобальное общественное здравоохранение, серьезную проблему для современной медицины. Болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона являются хроническими прогрессирующим нейродегенеративными заболеваниями и наиболее распространенной причиной развития прогрессирующей деменции у пожилых людей [2–4]. На сегодняшний день научные исследования более 50-ти препаратов, перспективных для лечения болезни Альцгеймера, успешно прошли фазу II клинических испытаний, но ни один из них не прошел фазу III [5]. Терапевтический подход, основанный на парадигме «один препарат — одна мишень», оказался ограниченно эффективен, поэтому более предпочтительны мультимодальные подходы, реализующие новые интегрированные методы лечения, включая фитотерапию [1, 6].

В течение последних десятилетий в ряде исследований рассмотрен потенциал лекарственных растений в управлении нарушениями памяти и борьбе с возрастными снижениями памяти [7, 8]. Клинические исследования и работы на экспериментальных моделях болезни Альцгеймера показали, что сборы природных фармакологических средств китайской медицины способны оказывать выраженные нейробиологические эффекты, такие как улучшение показателей памяти, предотвращение дегенерации и апоптоза нейронов, защита синапсов, антиоксидантное действие, модулирование активности микроглии, улучшение процессов энергетического обмена и др. [9].

Астрагал перепончатый (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge) используется в традиционной китайской медицине в качестве тонизирующего средства [10]. Исследования показали, что препараты, полученные из астрагала, проявляют

иммуномодулирующую [11], противовоспалительную [12], противоопухолевую и другие виды биологической активности [13, 14]. Основными компонентами, способствующими проявлению биологических эффектов, являются флавоноиды, сапонины и полисахариды этого растения [15]. Установлено, что биологически активные соединения астрагала перепончатого проявляют выраженный эффект при коррекции нарушений памяти [8, 16].

В исследовании Фэй Хуанг (Fei Huang) и соавторов с применением поведенческих тестов «radial arm maze test» и «shuttle-box test» доказано, что Astragaloside IV (водорастворимый сапонин), содержащийся в астрагале перепончатом, может улучшать память и модулировать ГАМК-ергическую синаптическую передачу в гиппокампе у мышей [17], помогает защитить дофаминергические нейроны и способствует ускорению нервных процессов [12]. Несмотря на успешные исследования ряда механизмов, вопрос о влиянии настоя травы астрагала перепончатого на когнитивные процессы остается открытым.

Целью исследования являлось изучение кратковременной и долговременной памяти крыс в тесте «восьмирукавный радиальный лабиринт» под влиянием многократного введения настоя травы астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge).

Материалы и методы

Объектом исследования являлся настой травы астрагала перепончатого (растительное сырье — трава астрагала перепончатого, производитель — ООО «Компания ХОРСТ»). Настой из травы астрагала перепончатого (1:10) получали согласно методике, изложенной в Государственной фармакопее РФ XIV издания ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» [18]. Полученный настой травы астрагала перепончатого представлял собой прозрачное извлечение желтого цвета со специфическим сладковатым запахом с суммарным содержанием $5,59 \pm 0,02$ мг/мл фла-

воноидов. Полученный настой упаривали, а сухой остаток растворяли в воде очищенной до получения концентрации 100 мг/мл.

Перед проведением эксперимента определяли острую токсичность, с целью нахождения доз настоя для последующих исследований. Острую токсичность настоя травы астрагала перепончатого изучали по методу Прозоровского [19]. Животные получали настой в дозах 1000 мг/кг, 3000 мг/кг и 5000 мг/кг в объемах 1,0 мл на 40 г массы тела животного. Контрольная группа получала физиологический раствор по массе. Наблюдение за состоянием животных вели в течение двух недель, в течение первых суток после введения животные находились под непрерывным наблюдением. После введения настоя фиксировали особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, нарушения координации движения.

При исследовании токсичности настоя астрагала перепончатого в дозе 1000 мг/кг не отмечали признаков острого отравления, в дозах 3000 мг/кг и 5000 мг/кг наблюдали снижение двигательной активности, увеличение частоты дыхательных движений, однако случаев гибели животных зарегистрировано не было. На 2-е сутки у экспериментальных животных признаков интоксикации отмечено не было. Установленный показатель $LD_{50} > 5000$ мг/кг для настоя травы астрагала перепончатого соответствует по классификации токсичности химических веществ (ГОСТ 12.1.007–76) к IV классу токсичности (малотоксичные вещества).

Исследование влияния настоя *Astragalus membranaceus* на обучение крыс в радиальном лабиринте проводили на 18 нелинейных крысах-самцах массой 230–250 г., содержащихся в виварии. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета. Животных размещали в отдельные клетки (по 6 в каждую). Поддерживался 24-часовой цикл (12 ч день/12 ч ночь). Вода была в свободном доступе, суточный пищевой рацион снижали. Комнатную температуру поддерживали на уровне 20–22 °С, а влажность — 65 %.

Лабораторные животные были разделены на 3 группы: контрольную и две опытные. Исследуемые группы в течение 21 дня ежедневно внутрижелудочно получали следующие вещества: 1-я — раствор кофеина в дозе 5 мг/кг («Белорусский завод медицинских препаратов», Беларусь), 2-я — настой травы астрагала перепончатого в дозе 100 мг/кг. Группа контроля получала воду в эквивалентном объеме.

Для изучения когнитивных функций животных (обучение и память) проводили тест «радиальный лабиринт» («radial maze») (Open Science, Россия), выполняя две серии экспериментов — на 2–7 и 16–21 сутки. Использовался восьмирукавный радиальный лабиринт с равными по длине рукавами, расходящимися из круглого центра. В конце каждого рукава размещалось пищевое подкрепление (кусочек моркови), которое было невидимо из центра лабиринта. Тест был длительностью по 3 минуты каждый, с тридцатисекундным перерывом между ними. Сначала были открыты четыре рукава напротив друг друга, тогда как четыре других закрыты. Затем ранее открытые рукава закрывали на конце, изолируя пищевое подкрепление, но при этом открывали прежде закрытые. При этом осуществляли видеорегистрацию поведения [20].

По окончании тестирования проводили подсчет балла памяти (memory score) по формуле: $MS = (\text{верный вход} - \text{неверный вход}) / (\text{верный вход} + \text{неверный вход})$. При этом верным входом считали однократное посещение рукава, тогда как неверным — повторное посещение рукава.

В первой и второй серии экспериментов продолжительность тестирования составляла 5 дней, с пропуском после 4-х суток для оценки долговременной памяти [20]. Первый день не фиксировали — проводили тренировку животных для ознакомления с установкой (табл. 1).

Крыс из эксперимента выводили на 21-е сутки путем передозировки препаратов для наркоза — Золетила (Virbac, Франция) в дозе 0,1 мг/кг и Ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0,1 мг/кг (вводили внутривенно).

Таблица 1

Модель эксперимента

Table 1

Experiment model

Дни введения веществ/ Days of administration of substances	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Дни тестирования/ Testing days	-	1 +	2 +	3 +	4 +	5 -	6 +	-	-	-	-	-	-	-	-	1 +	2 +	3 +	4 +	5 -	6 +

Примечание: в описании результатов эксперимента указаны сутки тестирования.

Note: the description of the experiment results indicates the day of testing.

Полученные результаты обрабатывали при помощи программы Statistica 12 (StatSoft®, США). Для каждой исследуемого параметра вычисляли среднее арифметическое и стандартную ошибку среднего. Сравнение показателей проводили при помощи t-критерия Стьюдента (с проверкой на нормальность распределения по методу Колмогорова–Смирнова). Значимыми считали изменения при $p < 0,05$ (p_1 — по сравнению с контролем, p_2 — со второй опытной группой).

Результаты и обсуждение

В ходе проведенного исследования было установлено, что при продолжительности тестирования животных на протяжении 2–7 дней, значимые изменения между группами отсутствовали. При увеличении длительности введения исследуемых веществ к 16–21 суткам эксперимента при второй серии тестирования наблюдалось увеличение баллов памяти как у второй (кофеин, 5 мг/кг), так и у третьей (астрагал перепончатый, 100 мг/кг) опытных групп.

В первой серии эксперимента (рис. 1) животные контрольной группы показали следующие баллы памяти: на 2-е сутки — $0,013 \pm 0,37$, на 3-и — $-0,17 \pm 0,31$, на 4-е $0 \pm 0,26$, на 6-е $-0,5 \pm 0,22$.

Первая опытная группа, получавшая кофеин в дозе 5 мг/кг, на 1-ом этапе тестов на 2-е, 3-и и 4-е сутки показала снижение баллов памяти по сравнению с контролем ($-0,36 \pm 0,24$, $p_1 = 0,42$, $-0,53 \pm 0,29$, $p_1 = 0,41$, $-0,75 \pm 0,26$, $p_1 = 0,08$,

соответственно). На 6-е сутки балл памяти незначительно увеличился по сравнению с контролем ($-0,47 \pm 0,19$, $p_1 = 0,91$).

Введение кофеина в дозировке 5 мг/кг к 6-м суткам тестирования не приводит к выраженной активации когнитивных функций — количество ошибок снижалось незначительно, активации рабочей и пространственной долговременной памяти практически не происходило [21].

Вторая опытная группа, получавшая водное извлечение травы астрагала перепончатого в дозе 100 мг/кг, в 1-й серии тестирования на 2-е сутки демонстрировала снижение балла памяти ($-0,34 \pm 0,3$), однако на 3-е сутки отмечалось повышение ($0,33 \pm 0,22$), а на 4-е и 6-е — снова снижение баллов памяти ($0 \pm 0,26$ и $-0,22 \pm 0,31$ соответственно).

При сравнении второй опытной группы с контролем на 2-е сутки отмечалось снижение балла памяти ($p_1 = 0,48$), на 3-и — повышение ($p_1 = 0,22$). На 4-е сутки балл памяти обеих групп оказался равным ($p_1 = 1$), на 6-е сутки балл памяти увеличился ($p_1 = 0,47$). По отношению к первой опытной группе отмечалось увеличение баллов памяти на протяжении всех дней эксперимента ($p_2 = 0,96$, $p_2 = 0,04$, $p_2 = 0,08$, $p_2 = 0,50$).

Балл памяти на 3–6 сутки эксперимента при 1-м этапе тестирования у второй опытной группы превышал значения контроля и группы кофеин (5 мг/кг), при этом положительной динамики в увеличении баллов на протяжении указанных дней исследова-



Рис 1. Динамика изменений баллов памяти на 2–7 сутки эксперимента у исследуемых групп (контроль, кофеин, 5 мг/кг, настой астрагала перепончатого, 100 мг/кг). Значимость ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и первой опытной группой обозначена символами, представленным на рисунке.

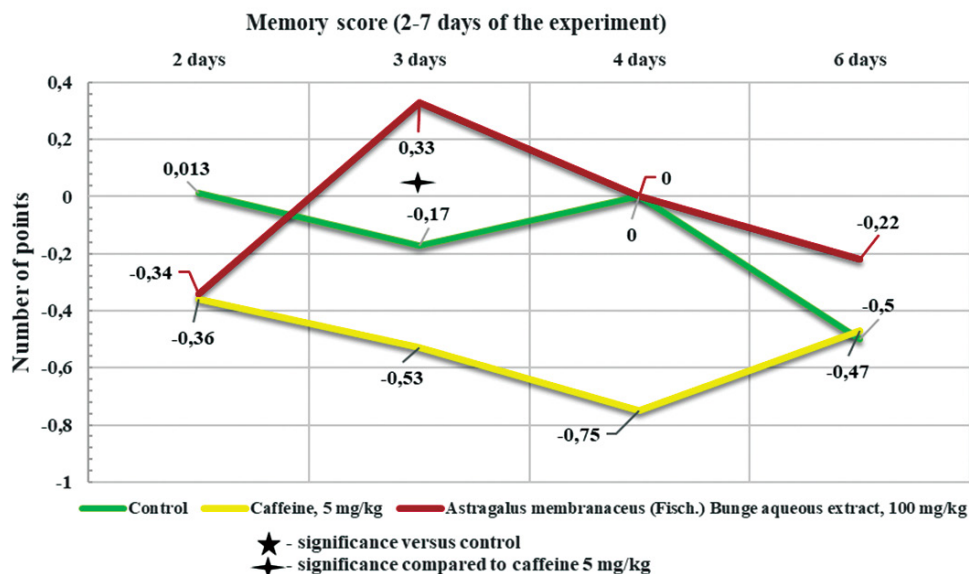


Fig 1. Dynamics of changes in memory points on days 2–7 of the experiment in the studied groups (control, caffeine, 5 mg/kg, aqueous extract of *Astragalus membranaceus*, 100 mg/kg). Significance ($p < 0.05$) in comparison with the control and the first experimental group is indicated by the symbols shown in the figure

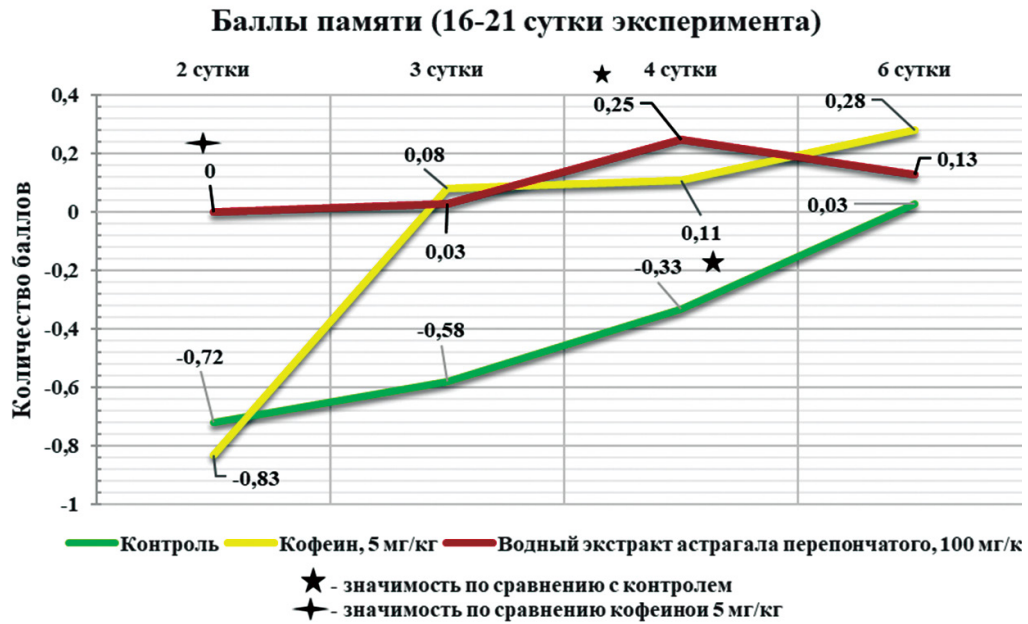


Рис. 2. Динамика изменений баллов памяти на 16–21 сутки эксперимента у исследуемых групп (контроль, кофеин, 5 мг/кг, настой астрагала перепончатого, 100 мг/кг). Значимость ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и первой опытной группой обозначена символами, представленным на рисунке

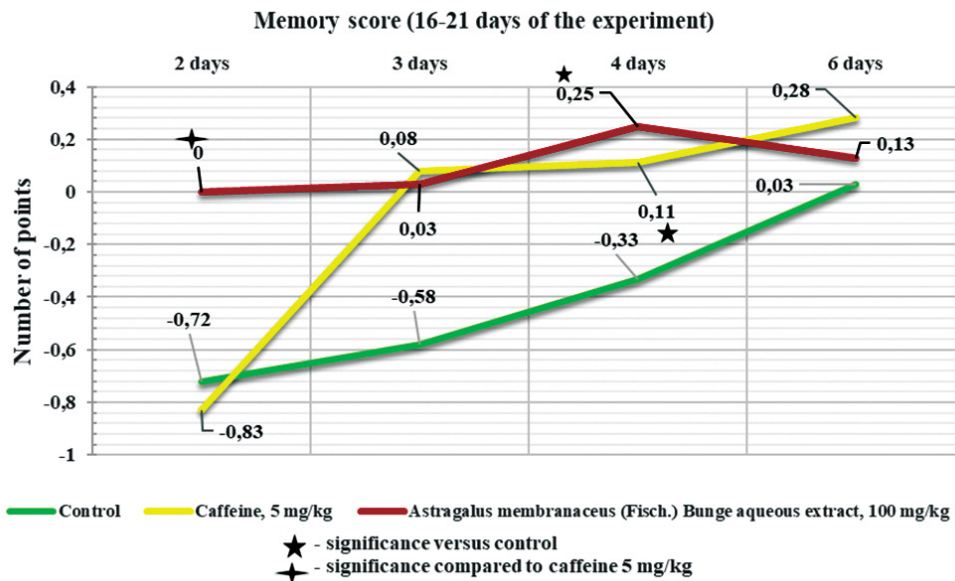


Fig. 2. Dynamics of changes in memory points on days 16–21 of the experiment in the studied groups (control, caffeine, 5 mg/kg, aqueous extract of *Astragalus membranaceus*, 100 mg/kg). Significance ($p < 0.05$) in comparison with the control and the first experimental group is indicated by the symbols shown in the figure

ния установлено не было, что позволяет сказать о незначительной активации когнитивных функций.

Во второй серии эксперимента (рис. 2), на 2-е сутки тестирования животные контрольной группы показали балл памяти $-0,33 \pm 0,33$, на 3-е и 4-е сутки балл памяти снизился ($-0,72 \pm 0,18$ и $-0,58 \pm 0,20$, соответственно), а на 6-е сутки отмечалось повышение ($0,03 \pm 0,28$).

Первая опытная группа на втором этапе на 2-е сутки показывала снижение балла памяти по сравнению с контролем ($-0,83 \pm 0,17$, $p_1=0,25$), однако в последующие дни эксперимента (3-и, 4-е и 6-е сутки) наблюдалось его стабильное увеличение ($0,08 \pm 0,03$, $p_1=0,16$, $0,11 \pm 0,2$, $p_1=0,036$, $0,28 \pm 0,2$, $p_1=0,51$).

Таким образом, введение кофеина в дозе 5 мг/кг при продолжительности введения более 17-и дней на 2-м этапе тестирования приводит к снижению количества ошибок, что свидетельствует о формировании кратковременной и долговременной памяти животных [22].

Вторая опытная группа во время второй серии эксперимента на 2-е сутки показывает балл памяти (0 ± 0). На 3-е и 4-е сутки баллы памяти увеличиваются ($0,03 \pm 0,01$ и $0,25 \pm 0,17$, соответственно), однако на 6-е сутки снижаются ($0,13 \pm 0,09$). При этом стоит отметить, что на протяжении всех дней эксперимента баллы памяти были выше, чем у контрольной группы (2-е — $p_1=0,34$; 3-и — $p_1=0,10$; 4-е — $p_1=0,01$; 6-е — $p_1=0,74$).

По отношению к группе кофеин 5 мг/кг наблюдалось увеличение баллов памяти на 2-е сутки ($p_2=0,0005$), на 3-и — незначительное снижение ($p_2=0,18$), на 4-е — увеличение ($p_2=0,61$), на 6-е — снижение ($p_2=0,49$).

Изменение указанных значений у второй опытной группы, получавшей настой астрагала перепончатого в дозировке 100 мг/кг, свидетельствует о формировании как кратковременной памяти, так и долговременной памяти при введении в течение 21-х суток. Активация долговременной памяти менее выражена, чем у первой опытной группы (кофеин 5 мг/кг), однако снижение количества ошибок по сравнению с контролем говорит об ее активизации [17].

Выводы

1. Введение кофеина в дозировке 5 мг/кг влияло на активацию кратковременной и долговременной памяти при продолжительности введения более 17-и суток — на 2-ом этапе тестирования.

2. Настой астрагала перепончатого (100 мг/кг) вызывал активацию рабочей и долговременной пространственной памяти с 16-х суток эксперимента — на 2-ой серии тестов.

Библиографический список

1. May B.H., Lit M., Xue C.C., Yang A.W., Zhang A.L., Owens M.D., Head R., Cobiac L., Li C.G., Hugel H., Story D.F. Herbal medicine for dementia: a systematic review // *Phytother Res.* 2009. Vol. 23. № 4. P. 447—59. doi: 10.1002/ptr.2656
2. Tohda C., Tamura T., Matsuyama S., Komatsu K. Promotion of axonal maturation and prevention of memory loss in mice by extracts of *Astragalus mongholicus* // *Br J Pharmacol.* 2006. Vol. 149. № 5. P. 532—41.
3. Xie A., Gao J., Xu L., Meng D. Shared mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease and Parkinson's disease // *BioMed Research International.* 2014. Vol. 2014. P. 1—8. doi:10.1155/2014/648740
4. Орлов М.А. Терапия болезни Альцгеймера: вызовы и перспективы. *Успехи геронтологии* // 2019. Т. 32. № 4. С. 639—651.
5. Bachurin S.O., Bovina E.V., Ustyugov A.A. Drugs in clinical trials for Alzheimer's disease: the major trends // *Medicinal research reviews.* 2017. Vol. 37 № 5. P. 1186—1225.
6. DeFina P.A., Moser R.S., Glenn M., Lichtenstein J.D., Fellus J. Alzheimer's disease clinical and research update for health care practitioners // *J Aging Res.* 2013. Vol. 2013. P. 207178. doi: 10.1155/2013/207178
7. Howes M.J.R., Perry N.S., Houghton P.J. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders // *Phytother Res.* 2003. Vol. 17. P. 1—18.
8. Perry N.S., Bollen C., Perry E.K., Ballard C. *Salvia* for dementia therapy: Review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial // *Pharmacol Biochem Behav.* 2003. Vol. 75. P. 651—659.
9. Березуцкий М.А., Дурнова Н.А., Андропова Т.А., Сунчикова О.В. Болезнь Альцгеймера: экспериментальные и клинические исследования нейробиологических эффектов природных фармакологических средств китайской медицины (обзор литературы) // *Успехи геронтологии.* 2020. Т. 33. № 2. С. 273—281.
10. Zhou R., Chen H., Chen J., Chen X., Wen Y., Xu L. Extract from *Astragalus membranaceus* inhibit breast cancer cells proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway // *BMC Complement Altern Med.* 2018. Vol. 18. № 1. P. 83. doi:10.1186/s12906-018-2148-2
11. Bedir E., Pugh N., Calis I., Pasco D.S., Khan I.A. Immunostimulatory effects of cycloartane-type triterpene glycosides

from Astragalus species // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2000. Vol. 23 № 7. P. 834—837.

12. Chan W.S., Durairajan S.S.K., Lu J.H., Wang Y., Xie L.X., Kum W.F., Kooa I., Yung K.K.L., Li M. Neuroprotective effects of Astragaloside IV in 6-hydroxydopamine-treated primary nigral cell culture // *Neurochemistry International*. 2009. Vol. 55 № 6. P. 414—422.

13. Choi H.S., Joo S.J., Yoon H.S., Kim K.S., Song I.G., Min, K.B. Quality characteristic of Hwangki (Astragalus membranaceus) Chungkukjang during fermentation // *Korean Journal of Food Preservation*. 2007. Vol. 14. № 4. P. 356—363.

14. Park H.J., Park S.H. Induction of Apoptosis by Ethyl Acetate Fraction of Astragalus membranaceus in Human Nonsmall Cell Lung Cancer Cells: Apoptosis Induction by Astragalus membranaceus // *J. Pharmacopuncture*. 2018. Vol. 21. № 4 P. 268—276.

15. Fu J., Wang Z., Huang L., Zheng S., Wang D., Chen S., Zhang H., Yang S. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of Astragalus membranaceus (Huangqi) // *Phytother Res*. 2014. Vol. 28. № 9. P. 1275—83. doi:10.1002/ptr.5188

16. Shi R., He L., Hu Y., Yi N., Weng S., Cao Y.J. The regulatory action of Radix Astragali on M-cholinergic receptor of the brain of senile rats // *Tradit Chin Med*. 2001. Vol. 21. № 3. P. 232—5.

17. Huang F., Xue W., Lan Yu., Tao, Y., Zhou J., Yang L., Guan H., Zhang X., Wu X., Hu Z. Astragaloside IV suppressed hippocampal GABAergic synaptic transmission and enhanced memory through EGR-1 mediated BDNF/TrkB signaling pathway in mice // *Research Square*. 2020. doi:10.21203/rs.3.rs-35057/v2

18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. МЗ РФ. Москва Т. 1. 2018. 1814 с.

19. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробитанализа кривых летальности. // *Фармакол. и токсикол.* 1962. Т. 25. № 1. С. 115—120.

20. Иптышев А.М., Горина Я.В., Лопатина О.Л., Комлева Ю.К., Черных А.И., Белова О.А., Салмина А.Б. Сравнение тестов «восьмирукавный радиальный лабиринт» и «водный лабиринт Морриса» при оценке пространственной памяти у экспериментальных животных в ходе нейроповеденческого тестирования // *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2017. Т. 2. № 2. С. 62—68.

21. Арушанян Э.Б., Попов А.В. Особенности временной организации поведенческого ответа крыс на кофеин // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2005. Т. 68. № 1. С. 10—12.

22. Alzoubi K.H., Mhaidat N.M., Obaid E.A., Khabour O.F. Caffeine Prevents Memory Impairment Induced by Hyperhomocysteinemia // *J Mol Neurosci*. 2018. Vol. 66. № 2. P. 222—228. doi:10.1007/s12031-018-1158-3

References

1. May BH, Lit M, Xue C, Yang A.W, Zhang AL, Owens MD, Head R, Cobiac L, Li CG, Hugel H, Story DF. Herbal medicine for dementia: a systematic review. *Phytother Res*. 2009;23(4):447—59. doi: 10.1002/ptr.2656

2. Tohda C, Tamura T, Matsuyama S, Komatsu K. Promotion of axonal maturation and prevention of memory loss in mice by extracts of Astragalus mongholicus. *Br J Pharmacol*. 2006;149(5):532—41.

3. Xie A, Gao J, Xu L, Meng D. Shared mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *BioMed Research International*. 2014;14:1—8. doi:10.1155/2014/648740

4. Orlov MA. Alzheimer's disease therapy: challenges and perspectives. *Advances in Gerontology*. 2019;32(4):639—651 (In Russian).

5. Bachurin SO, Bovina EV, Ustyugov AA. Drugs in clinical trials for Alzheimer's disease: the major trends. *Medicinal research reviews*. 2017;37(5):1186—1225.

6. DeFina PA, Moser RS, Glenn M, Lichtenstein JD, Fellus J. Alzheimer's disease clinical and research update for health care practitioners. *J Aging Res*. 2013;2013:207178. doi: 10.1155/2013/207178

7. Howes MJR, Perry NS, Houghton PJ. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytother Res*. 2003;17:1—18.

8. Perry NS, Bollen C, Perry EK, Ballard C. Salvia for dementia therapy: Review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacol Biochem Behav*. 2003;75:651—659.

9. Berezutsky MA, Durnova N, Andronova TA, Sinichkina OV. Alzheimer's disease: experimental and clinical researches of chinese herbal medicine neurobiological effects (a review). *Advances in Gerontology*. 2020;33(2):273—281 (in Russian).

10. Zhou R, Chen H, Chen J, Chen X, Wen Y, Xu L. Extract from Astragalus membranaceus inhibit breast cancer cells proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):83. doi:10.1186/s12906-018-2148-2

11. Bedir E, Pugh N, Calis I, Pasco DS, Khan IA. Immunostimulatory effects of cycloartane-type triterpene glycosides from Astragalus species. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2000;23(7):834—837.

12. Chan WS, Durairajan SS, Lu JH, Wang Y, Xie LX, Kum WF, Kooa I, Yung KKL, Li M. Neuroprotective effects of Astragaloside IV in 6-hydroxydopamine-treated primary nigral cell culture. *Neurochemistry International*. 2009;55(6):414—422.

13. Choi HS, Joo SJ, Yoon HS, Kim KS, Song IG, Min KB. Quality characteristic of Hwangki (Astragalus membranaceus) Chungkukjang during fermentation. *Korean Journal of Food Preservation*. 2007;14(4):356—363.

14. Park HJ, Park SH. Induction of Apoptosis by Ethyl Acetate Fraction of Astragalus membranaceus in Human Nonsmall Cell Lung Cancer Cells: Apoptosis Induction by Astragalus membranaceus. *J. Pharmacopuncture*. 2018;21(4):268—276.

15. Fu J, Wang Z, Huang L, Zheng S, Wang D, Chen S, Zhang H, Yang S. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of Astragalus membranaceus (Huangqi). *Phytother Res*. 2014;28(9):1275—83. doi:10.1002/ptr.5188

16. Shi R, He L, Hu Y, Yi N, Weng S, Cao YJ. The regulatory action of Radix Astragali on M-cholinergic receptor of the brain of senile rats. *Tradit Chin Med*. 2001;21(3):232—5.

17. Huang F, Xue W, Lan Yu, Tao Y, Zhou J, Yang L, Guan H, Zhang X, Wu X, Hu Z. Astragaloside IV suppressed hippocampal GABAergic synaptic transmission and enhanced memory through EGR-1 mediated BDNF/TrkB signaling pathway in mice. *Research Square*. 2020. doi:10.21203/rs.3.rs-35057/v2

18. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 1. MZ RF. Moscow. 2018. 1814 p.

19. Prozorovsky VB. Using the least squares method for probit analysis of mortality curves. *Pharmacol. and toxicol.* 1962;25(1):115—120 (In Russian).

20. Iptyshev AM, Gorina YaV, Lopatina OL, Komleva YuK, Chernykh AI, Belova OA, Salmina AB. Comparison of the eight-arm radial maze and Morris water maze tests in assessing spatial memory in experimental animals during neurobehavioral testing. *Fundamental and Clinical Medicine.* 2017;2(2):62—68 (In Russian).

21. Arushanyan EB, Popov AV. Features of the temporal organization of behavioral rats on caffeine. *Eksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2005;68(1):10—12 (In Russian).

22. Alzoubi KH, Mhaidat NM, Obaid EA, Khabour OF. Caffeine Prevents Memory Impairment Induced by Hyperhomocysteinemia. *J Mol Neurosci.* 2018;66(2):222—228. doi:10.1007/s12031-018-1158-3

Ответственный за переписку: Дурнова Наталья Анатольевна — доктор биологических наук, доцент, зав. кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники Саратовского государственного медицинского университета, Российская Федерация, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112. E-mail: ndurnova@mail.ru

Каретникова А.Ю. SPIN-код 1374-9994; ORCID 0000-0002-8043-3142

Матвиенко У.А. SPIN-код 6828-5910; ORCID 0000-0002-1714-9165

Савинова Д.А. ORCID 0000-0001-7825-3620

Деникаева Э.А. ORCID 0000-0002-4954-4717

Дурнова Н.А. SPIN-код 3348-2957; ORCID 0000-0003-4628-9519

Corresponding author: Durnova Natalya Anatolievna — Doctor of Biological Sciences, Assistant Professor, Head of the Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany, Saratov State Medical University, 410012, Bolshaya Kazachia Str., 112, Saratov, Russian Federation. E-mail: ndurnova@mail.ru

Karetnikova A. Yu. ORCID 0000-0002-8043-3142

Matvienko U.A. ORCID 0000-0002-1714-9165

Savinova D.A. ORCID 0000-0001-7825-3620

Denikaeva E.A. ORCID 0000-0002-4954-4717

Durnova N.A. ORCID 0000-0003-4628-9519



ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-79-87

RESEARCH ARTICLE
НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

Nursing process application in Nepal teaching hospital

Katel Kalpana 

Gandaki Medical College Teaching Hospital and Research Center, Pokhara, Nepal
✉ katelkalpana@gmail.com

Abstract. Relevance. Nursing process is a scientific method of organizing and providing nursing care. Due to imbalance of nurse patient ratio, application of nursing process in actual clinical setting is very limited which reduces the quality nursing care. Despite the importance of application of nursing process, there is no standard nursing process protocol available in the hospital where study was carried out. The governments set a standard nurse patient ratio in Nepal, UK and USA is 1:10, 1:8, and 1:5 respectively. However, global statistic has been revealed due to improper nurse patient ratio which cannot implement the nursing process for patient caring which are being for leading cause of mortality of patient in hospitals. *Aim of the study.* The study was conducted to assess the application of the nursing process among nurses working in teaching hospital. Additionally, this study explores the association between status of application of nursing process and selected variables. *Materials and Methods.* Based on a descriptive cross-sectional study design. A simple random sampling technique was applied for nurses working in tertiary hospital of Chitwan, Nepal. The data was collected using structured questionnaire among 182 nurses. The statistical analysis tool chi-square was used to find out the association and logistic bivariate to find out the odds ratio. *Results and Discussion.* The result indicates that only 23.1 % of nurses have moderate level of application of nursing process. Majority of nurses did not follow standard ways of nursing process. This study also explored the influencing variable for barriers related to nurses and profession. Age ($p=0.001$), professional qualification ($p=0.001$) and learning approach ($p=0.022$) were the significant influencing variable for barriers related to nurses whereas practical skill ($p < 0.001$), cooperation among nurses ($p=0.008$) and difficulty in diagnosis characteristic ($p=0.010$) were the barrier related to profession. *Conclusion.* It was concluded that the majority of nurses working in teaching hospital of Nepal did not follow the standard ways of nursing process so that barriers for the application of nursing process are identified. The overall ratio of nurses to patients in the teaching hospital is 1:16, that is in the lower range than the standards set by the government. Therefore, special attention must be paid to adherence to a standardized nursing process protocol for quality medical care.

Key words: application, nurses, barriers, nursing process

Author contributions. Katel K.—concept, collection and processing of material, analysis of the data obtained, interpretation of the data and approval of final manuscript.

© Katel K., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Received 07.11.2021. Accepted 17.01.2022.

Conflict of interest statement. The author declares no conflict of interest.

Acknowledgement. I would like to thank all the study subjects who kindly cooperate in providing required information even during the research period.

For citation: Katel K. Nursing process application in Nepal teaching hospital. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):79–87. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-79-87

Introduction

Nursing is the profession which concern with protection, promotion and optimization of health and abilities, prevention of illness and injury; alleviation of suffering through the diagnosis and treatment of human response; and advocacy in health care for individuals, families, communities and population [1]. The discipline of nursing is synonymous with the nursing process. It is an organized, systematic approach used by nurses to meet the individualized health care needs of their patients. Nursing Process is the use of clinical judgment in the provision of care to the enable people to improve their health, to cope with health and their problems, and to achieve the possible quality of healthy life, whatever their disease or disability, until death [2].

Lydia Hall, first referred to nursing as a «process» on journal article in 1955. The nursing process was widely used from early 1970s [3]. The nursing process is referred as a series of steps: assessment, planning and evaluation [4]. The study described nursing process as a principle of an effective interaction with the patient that lead to effective interventions and most likely to positive outcomes [4]. Only the single effort of the nurse side was not sufficient for the patients. Orlando emphasized on creating the good environment for mutual understanding with the patient. Since, every patient and nurse are individual and it is understandable that persons taking part in interaction might perceive the situations in a very different way.

Currently nursing process is widely accepted as a scientific method to guide procedures and quality nursing care. The process consists of systematic and dynamic way to deliver nursing care operating through five interrelated steps: assessment, diagnosis, planning, implementation, and evaluation [5]. In fact,

nursing process provides holistic and quality nursing care and effective implementation is critical part for patients. However, it was highly challenges for its fully implementation in most of the hospitals in developing countries [6]. In Sweden, standardized nursing care plans (SNCPs) was successful in 73 %. In spite of their knowledge of the nursing process, certain barriers limited the ability of nurses to implement it in their daily practice; including lack of time, high patient volume, and high patient turnover [7]. Despite of hurdles, the daily application of nursing process is characterized by the scientific background of the professionals involved [8]. The several international health organizations highly recommended for the documentation and promote the use of nursing process in patients care [9]. World Health Organization (WHO) measured shortages with nurse to people rations that can vary from region to region within country, country to country and continent to continent.

In Nepal, the average ratio of nurse is 70 per 100,000 population [10]. The ratio was 21, 847 and 858 in Ethiopia, UK and USA respectively [11]. The previous studies indicate that the average ratio of nurse to population is high developed countries almost 8 times greater than in developing countries. Low availability of nurses in many developing countries is exacerbated by geographical maldistribution [6]. These were the clear indication of shortage of nurses in different parts of the world. The researches highlight that as nurse-to-patient ratios increased from 1:4 to 1:10, the number of post-op surgical patient death also climbed up dramatically [12]. Adverse events occur in an estimated 2.9 to 3.7 percent of acute care hospitalizations in the United States America (U.S.A), and it is estimated that between 44,000 and 98,000 patients die in hospital each year as a result, with nearly half due to errors in delivery

of care [13]. On the other hand, nurse who work in stressful environment were 0.23 time less likely to implement nursing process than working in organized environment. Highly knowledgeable nurses were 8.78 times more likely to implementation of nursing process than nurses who were not knowledgeable [14].

The researchers also highlighted the challenges in the implementation of the nursing process. The main barriers were lack of sufficient enthusiasm in using the nursing process, shortage of nursing staff, lack of standard format for writing, lack of follow up and monitoring, inadequate time for using, lack of attention to its importance, deficient in clear instruction, inadequate education and no believe in applying the patient care according to the nursing process [15]. A study reported that the barriers for the implementation of the nursing process were inadequate nursing staff (75.6 %), inadequate equipment (71.5 %), lack of time (62.6 %), lack of theoretical and practical knowledge (47.2 %), lack of nursing records (26 %) and lack of institution for nursing care with in the hospital (17 %) [16].

In practical aspect all the steps are not implemented systematically. The main difficulties in establishing

and using the nursing process within institutions is the complexity potentially associated study variables. Advancing in knowledge on this process involves the exploration and analysis of variables related not only to the usage characteristics of the NP at institutions, but also to the characteristics of the institutional and nursing professionals' environment [17]. In this context, this study explores the status of application of nursing process among nurses working in teaching hospital in Nepal. The research will also analyze the association between status of application of nursing process for different variables.

Materials and methods

Research variables

In this study, dependent and independent variable were considered for statistical analysis purpose. The application of nursing process was considered as dependent variable whereas independent variables were tabulated in Table 1.

Table 1.

Independent variable		
Nurses related factor	Institutional factors	Profession related variables
<ul style="list-style-type: none"> • Age • Professional qualification • Professional experiences • Current work experiences • Working unit • Self-awareness • Learning approaches • Level of performances • Professional attitude • Participation in in-services education of nursing process 	<ul style="list-style-type: none"> • Learning environment • Adequate resources • Available guidelines/ protocol on nursing process • Nurse patient ratio • Positive reinforcement • Practice to motivation • Evidence based practice • Nursing audit • Working environment • Provision for supervision • Staff turnover 	<ul style="list-style-type: none"> • Professional role model • Professional commitment • Lack of time • variation between theory and practice • Structural barriers within the hospital's facility • High patients turn over • Attitude of patients • Lack of process check list in patients' medical records • Lack of positive attitude towards Nursing process • Time consuming • Training for the nursing process • Practical skills • Complex process • Exposure to Nursing process • Nurses autonomy • Nurses co operation • Difficulty with in diagnostic characteristic • Frequent change of working wards • Appropriate format for nursing process • Attention by authority

Theoretical model

In this study, Synergy Model is used in which nurse-patient interaction as reciprocal and constantly evolving. Synergy, or ideal patient outcomes, can be reached by matching patient needs and characteristics with appropriate nurse competencies to work towards common goals in a mutually enhancing manner. It identifies the patient as the central focus, describing the patient’s needs and the skills required of the nurse to best meet those needs. It also provides a framework for outcome evaluation for the patient, the nurse, and healthy working environment. The basic premise of the model is that patient needs drive nurse skill sets; when nurse skills are matched to the needs of the patients, synergy occurs and patient’s outcomes are optimized (Fig. 1).

Research setting and population

The setting of study was in Chitwan Medical College Teaching Hospital (CMCTH) which has 750 beds. It provided different services like outpatient services, inpatient services and different wards. The institution is one of the referral hospitals in Chitwan, Nepal. The study was conducted among nurses working in all departments, except Operation theatre and Outpatient Department. The study population (N=325) staff nurse working at CMCTH.

- *Sample size calculation*

Sample size was calculated by using the empirical relationship for finite population on the basis of proportion of application of nursing process. The total of 33.1 % from the study total sample were considered for assessing barriers to implementation of nursing process among nurses [18].

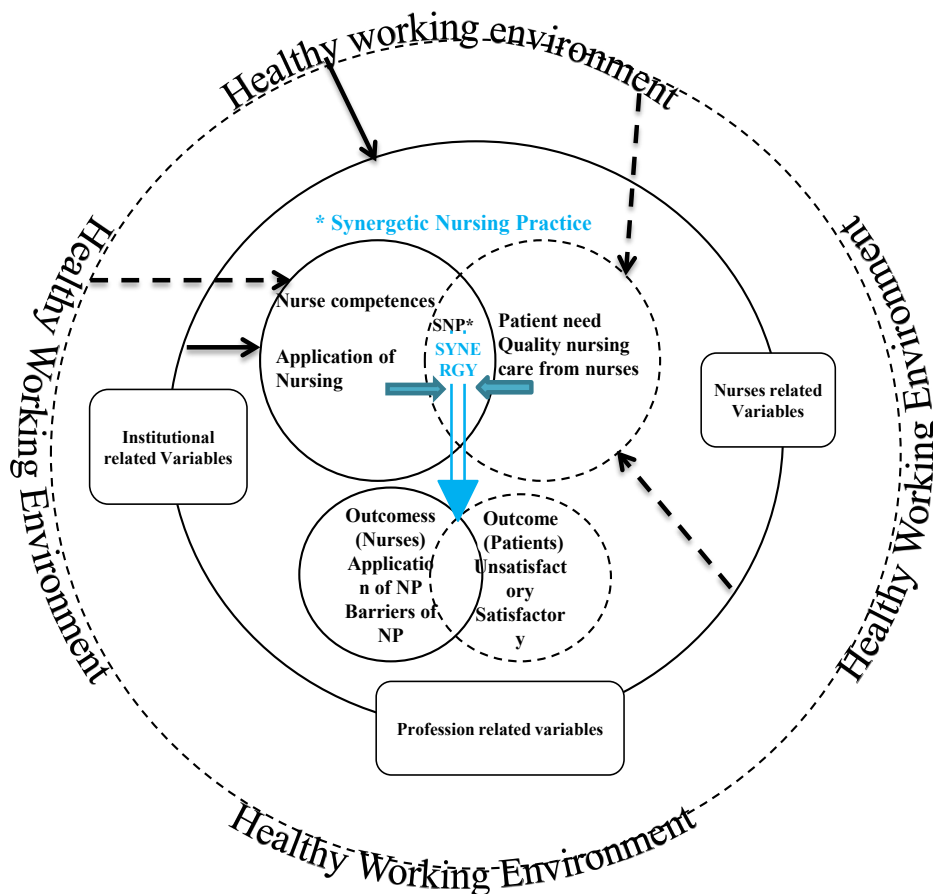


Fig.1. Theoretical model on application of nursing process among nurses working in teaching hospital

- *Inclusion criteria*

Nurses who were qualified of PCL/BN/BSC working at CMCTH and giving inform consent to participate and personal data processing were included in the study.

- *Exclusion Criteria*

The nurses who are working at outpatient department and the Matron of the hospital as well as nurses having educational degree of Master in Nursing was excluded.

- *Sampling Technique*

Sampling technique with simple random table method was used for selection of nurses by considering CMCTH.

Research instrumentation

A structured questionnaire for application of nursing process and barriers for the application of nursing process was developed by the researcher through extensive literature review. The research instrument consists two parts: a) questions related to barriers for the application of nursing process (nurses related, institution related and profession related) and b) question related to application of nursing process.

Analysis of statistical data

The collected data was checked, edited, coded and entered into epi data then was exported to IBM SPSS program. The results were calculated in terms of descriptive statistics for frequency, percentage and inferential statistic for chi-square test.

Results and discussion

Analysis and interpretation of results

In this section, the analysis and interpretation of the results obtained from the 182 nurses working in different wards of Chitwan Medical College and Teaching Hospital in Nepal was presented and discussed.

Status of the application of nursing process

Age, education, professional experience, self-awareness level and professional attitude are considered as nurse related variables. The data exposes that nurses

age ranged from 19–35 years with the median age of 22. Majority of the nurses (67.6 %) belongs to age group of 20–25 years. Total 78.6 % of nurses have Proficiency Certificate Level Nursing (PCL) degree. In regards professional experience 37.4 % of nurses had more than 1-year work experience. More than half of the nurses (67 %) reported that they were self-awareness by themselves. Regarding level of performance 45.6 % nurses are competent in performance. Majority of nurses 97.3 % reported that they had good professional attitude towards friends. Most of the nurses (95.6 %) did not received the in-service education.

The clinical learning environment, resources for patient care, protocol/ guidelines, nurse patient ratio, awareness aware the application of nursing process, evidence-based care and staff turnover are considered as institutional related variable. The results show that 78 % of nurses reported that there is inadequate clinical learning environment. Majority of nurses 90.1 % reveals that inadequate resources for the patient care in the wards. 90.1 % of nurses reported that there are no any protocol/guidelines for nursing process in their wards. Must of the nurses 89 % reveals that nurse patient ratio is not maintained according to ward. Majority of nurses 80.8 % had positive reinforcement toward nursing process. 84.1 % nurses reveal that they are motivated to apply nursing process by seniors. More than half 51.1 % of nurses are practicing evidence-based care for the patients. Majority of nurses 82.4 % reported that nursing audit had done monthly. More than half 67 % of nurses reveals that they had stressful working environment. Regarding supervision by seniors is adequate, 95.6 % nurses reported. Majority of nurses 98.9 % reported due to high turn-over of staff is the barriers for the application of nursing process.

The participants respond on the barriers for the application of nursing process related to professional reason are: lack of professional role models (80.8 %), lack of commitment with in profession (79.7 %), lack of time (85.2 %), variation between theory and practice (90.7 %), structural barriers within hospital (96.7 %), high patient turn over (94 %), attitude of patient (95.1 %), lack of nursing process check list

in patient medical records (94 %), lack of positive attitude towards nursing process (81.3 %), due to time consuming (76.4 %), lack of training for nursing process (74.2 %), lack of exposure to nursing process (89.6 %), lack of nurses cooperation (63.7 %), difficulty in diagnosis (61.5 %), frequent change of staff in wards (67.6 %), lack of appropriate formats for nursing process (97.8 %), lack of attention of authority for the importance of nursing process (61 %).

The finding of the present study revealed that overall compliance of practice to application of nursing process was 100 % not applicable which is similar to the study [19]. In level of application of nursing process only 23.1 % of nurses had moderate level of practice followed by 76.9 % of nurses had low level of practice regarding application of nursing process which is less than the previous studies [18, 20]. The discrepancy may be because of many barriers within the country which are normally associated with nurse, institution and profession. Overall compliance of practice along with moderate level of practice regarding nursing process among nurses less than 25 % indicate that low level of practice which warrants very immediate action for the improvement. The differences in the overall compliances of practice regarding application of nursing process among nurses in context of Nepal might be due to lack of protocol /guidelines regarding application of nursing process, nurses competency level, shrinking of clinical field, lack of exposure to the care plan, privatization of nursing education with profit motive, limited use of evidence based practice, limited exposure of nurses, brain drain, loop holes during accreditation of nursing college and hospitals, lack of attention by the authority regarding importance of nursing process.

Findings of the study unveiled that practice level of the nurses regarding nursing process was significantly associated with age ($p=0.001$) younger nurses were more likely to do application of nursing process which is similar to the study [21]. Bachelor nurses were more likely to do application of nursing process, though only 21.4 % nurses acquired bachelor level nursing education which is less than the previous study [22]. Likewise,

level of practice of nurses regarding nursing process was significantly associated with lack of practical skill among nurses ($p<0.001$), lack of nurses' cooperation among nurses ($p=0.008$), difficulty with diagnostic characteristic ($p=0.010$) which is similar to the study [23].

Association between status of application of nursing process among nurses and selected variables

The analysis indicates that the application of nursing process is 100 % not applicable. The application status has been further divided into three different levels as low, moderate and high. Among 182 nurses 76.9 % had low (< 55 %) application of nursing process, 23.1 % moderate (55–80 %) application of nursing process among nurses.

Barriers encountered for the application of nursing process

Results indicate that there was statistically significant association between the application of nursing process and age of the nurses ($p=0.001$), professional qualification (0.001), learning approach (0.022). It indicates that application of nursing process is comparatively higher in bachelor level nurses. There was no significant association between application of nursing process and others nurses related variables. There was no significant association between application of nursing process and institution related variables. The results also show that there is significant association between application of nursing process and lack of practical skill among nurses ($p<0.001$), lack of cooperation among nurses ($p=0.008$), difficulty with diagnosis characteristic ($p=0.010$). There was no significant association between application of nursing process and others profession related variables.

The nurses in this study had positive attitude (80.8 %) towards nursing process but did not practice nursing process. The barriers for the application of nursing process were did not get in-service education (95.6 %), no any protocol/guidelines for nursing process (92.9 %), inappropriate nurse patient ratio (89 %), stressful working environment (67 %), lack of training (85.7 %), lack of time

(85.2 %), inadequate resources for patient care (90.1 %), were not found statistically significant with the level of application of nursing process among nurses.

Bivariate logistic regression for the application of nursing process

In the bivariate analysis of logistic regression, six variables were statistically associated with the level of application of nursing process. Namely age of the more than 25 years was almost double more likely to do the application of nursing process than less than age of 20 years (OR=0.044, 95 % CI= 0.005–0.373) and more than age of 20–25 years (OR=0.411, 95 % CI= 0.175–0.969). Professional qualification of the BN/BSC nurses were more likely to do application of nursing process than PCL nurses (OR=0.274, 95 % CI=0.127–0.590). Learning approaches of deep learner (OR=2.551, 95 % CI= 1.120–5.813) were more than two times likely to use application of nursing process than surface learner (OR=0.891, 95 % CI=0.297–2.676) and strategic learner. Due to lack of practical skill among nurses were four time likely to be the profession related barriers for the application of nursing process were moderately applying the nursing process during care of patient (OR= 3.805, 95 % CI= 1.821–7.949). Due to lack of cooperation among nurses were double likely to be the barriers related to profession where moderately application of the nursing process (OR=0.333, 95 % CI=0.144–0.771). Due to difficulty in diagnostic characteristic were double likely to be the barrier related to the profession where moderately application of the nursing process (OR=0.353, 95 % CI =0.157–0.793).

Conclusion

From the study, it is concluded that more than three 75 % of nurses falls under the low level of application of nursing process and 25 % nurses fall under moderate level of application of nursing process. The study indicates that the level of application of nursing process was low among nurses working at teaching hospital during the study period. The general practice in study hospital is 1:16 which is in the lower range than the standards set by the government. Barriers

associated with application of nursing process among nurses working in hospital were; age of the respondent, professional qualification, learning approaches, practical skills, cooperation among nurses, difficulty in diagnosis characteristic and low level of application for nursing process were identified in this study.

Implications for nursing practice

- The study findings can enable the nurses to focuses on patients' needs and to apply the nursing knowledge in the organization.
- The findings of this study can be helpful to the nursing administrator/ Matron, Nursing Council, Nursing Association for planning and implementation of in-service education program on application of nursing process by nurses.
- It develops and implement guidelines on «application of nursing process».
- The findings of this study can be useful as a source of baseline information for future researcher.

References/ Библиографический список

1. American Nurses Association (ANA). 2015. Retrieved from: www.nursing world.org/Especially for You/What-is Nursing.
2. Royal College of Nursing. Defining Nursing. London RCN. 2014. Retrieved from <https://www2.rcn.org.uk/newsevents/congress/2014>
3. Nahid KK, Hasantehrani T. A Survey Comparison Quality of Writing and Application Nursing Process Between Students of Hamadan City, 2010. *Procedia — Social and Behavioral Sciences*. 2012;31:762–767.
4. Orlando JI. The dynamic nurse-patient relationship. National League of Nursing, Re-issue of the 1961 edition, New York. 1990. 754 p.
5. Fernandezsola C. Strategies to develop the nursing process and nursing care plan in the health system in Bolivia. *International Nursing Review*. 2011;58:392–399.
6. Mohmoud HM, Bayoumy MH. Barriers and facilitators for execution of nursing process from nurses. *International Journal of Advanced Research*. 2014;2(2):300–315.
7. Wagoro MCA, Rakuom CP. Mainstreaming Kenya-Nursing Process in clinical settings: The case of Kenya. *International Journal of Africa Nursing Sciences*. 2015;3:31–39.
8. Clarke SP, Aiken LH. Failure to rescue. *American Journal of Nursing*. 2003;103(1):42–47.
9. Catrin., B. (2002). Nursing documentation in clinical practice. Department of Nursing, Karolinska Institute, Stockholm, sweden. Retrieved from: <http://www.sciencepublishinggroup.com/j/ajns>.

10. WHO global Atlas of the Health Workforce 2010. Retrieved from <https://www.who.int/workforcealliance/countries/npl/en/>
11. WHO global Atlas of the Health Workforce 2006. from <https://www.who.int/workforcealliance/countries/npl/en/>
12. Aiken LH, Clarke SP, Sloane DM, Sochalski JA, Silber JH. Hospital nurse staffing and patient mortality, nurse burnout, and job dissatisfaction. *Journal of the American Medical Association*. 2002;288:1987—1993.
13. Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS. To Err is Human: Building a Safer Health System. Washington (DC): National Academies Press (US); 2000. 2, *Errors in Health Care: A Leading Cause of Death and Injury*. Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK225187/>
14. Shewangiza Z, Mersha A. Determinants towards Implementation of Nursing process. *American Journal of Nursing Science*. 2015;4(3): 45—49.
15. Curtis K, Murphy M, Hoy S, Lewis MJ. The emergency nursing assessment process-A structured framework for a systematic approach. *Australasian Emergency Nursing Journal*. 2009;12(4):130—136.
16. Folami F, Olowe A, Olugbade H. Factors affecting the use of nursing process in Lagos University Teaching Hospital, Lagos, Nigeria. *International Journal of Africa Nursing Sciences*. 2019;10:26—30.
17. Mahnaz K, Shahin T, Shahdous, M.). Effects of applying a patient assessment form based on the health functional patterns on nursing student's attitude and skills in developing nursing process. *International Journal of Nursing Sciences*. 2019;6(3):329—333, doi:10.1016/j.ijnss.2019.06.004
18. Mbithi DN, Blasio O, Antony A, Githui SN, Wambugu P. Assessing barriers to implementation of nursing process among nurses working at a tertiary hospital in Kenya. *Journal of Public Health*. 2018;4(1):1—11.
19. Julie NK, Simon IK, Irène KU, Charles MM, Mahuridi A, Narcisse M, Francoise MK. (). Barriers to the implementation of the nursing approach in public hospitals in Lubumbashi in the Democratic Republic of Congo. *Open Access Library Journal*. 2017;4:1—14. doi: 10.4236/oalib.1103721
20. Habtamu NA, Mulatu, A. The implementation of nursing process and associated factors among nurses working in Debremarkos and Finoteselam Hospitals, Northwest Ethiopia. *Journal of Nursing & Care*. 2014;3(2):1—7. doi:10.4172/2167-1168.1000149
21. Hagos F, Alemseged F, Balcha F, Berhe S, Aregay A. Application of Nursing Process and Its Affecting Factors among Nurses Working in Mekelle Zone Hospitals, Northern Ethiopia. *Nursing Research and Practice*. 2014;1:8. doi:10.1155/2014/675212
22. Kim S, Shin G. Effects of nursing process-based simulation for maternal child emergency nursing care on knowledge, attitude, and skills in clinical nurses. *Nurse Education Today*. 2016;37:59—65.
23. Michalopoulos A, Michalopoulos H. Management's possible benefits from teamwork and the nursing process. *Nurse Leader*. 2006;4(3):52—55.

Применение сестринского процесса в клинической больнице Непала

К. Кател 

Больница и исследовательский центр медицинского колледжа Гандаки, г. Покхара, Непал
✉ katelkalpana@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Сестринский процесс — это научный метод организации и оказания сестринской помощи. Из-за дисбаланса соотношения медсестер и пациентов применение сестринского процесса в реальных клинических условиях очень ограничено, что снижает качество сестринского ухода. Несмотря на важность применения сестринского процесса, в больнице, где проводилось исследование, не существует стандартного протокола сестринского процесса. Правительство установило стандартное соотношение медсестер и пациентов в Непале, Великобритании и США: 1:10, 1:8 и 1:5 соответственно. Тем не менее, при исследовании было выявлено неправильное соотношение медсестер и пациентов, которые не могут реализовать сестринский процесс для ухода за пациентами, что является основной причиной смертности пациентов в больницах. *Цель исследования.* Исследование было проведено для оценки применения сестринского процесса среди медицинских сестер, работающих в поликлинике. Кроме того, в этом исследовании изучается связь между статусом применения сестринского процесса и выбранными переменными. *Материалы и методы.* Был использован дизайн перекрестного исследования. Для медсестер, работающих в больнице третичного уровня в Читване, Непал, был применен простой метод случайной выборки. Данные были собраны с помощью структурированного вопросника у 182 медсестер. Инструмент статистического анализа хи-квадрат использовался, чтобы выяснить связь переменных, препятствующих применению сестринского процесса, связанных с медсестрами и профессией; и логистический двумерный метод, — чтобы выяснить отношение шансов. *Результаты и обсуждение.* Результаты показывают, что только 23,1 %

медицинских сестер имеют средний уровень применения сестринского процесса. Большинство медсестер не следовали стандартам сестринского процесса. В этом исследовании также изучались переменные, препятствующие применению сестринского процесса, связанные с медсестрами и профессией. Возраст ($p = 0,001$), профессиональная квалификация ($p = 0,001$) и подход к обучению ($p = 0,022$) были значимой переменной, связанной с медсестрами, тогда как практические навыки ($p = <0,001$), сотрудничество между медсестрами ($p = 0,008$) и трудность диагностики ($p=0,010$) — препятствия, связанные с профессией. **Выводы.** Большинство медсестер, работающих в клинической больнице Непала, не следовали стандартным протоколам сестринского процесса, поэтому были выявлены препятствия для применения сестринского процесса. Общее соотношение медсестер и пациентов в учебной больнице составляет 1:16, что ниже стандартов, установленных правительством. Таким образом, необходимо уделять особое внимание соблюдению стандартизированного протокола сестринского процесса для качественного оказания медицинской помощи.

Ключевые слова: применение, медсестры, препятствие, сестринский процесс

Вклад авторов. Катель К. — концепция, сбор и обработка материала, анализ полученных данных, интерпретация данных и написание рукописи.

Благодарности. Автор благодарит всех участников исследования, которые любезно сотрудничали в предоставлении необходимой информации даже во время пандемии.

Информация о конфликте интересов. Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

Поступила 07.11.2021. Принята 17.01.2022.

Для цитирования: *Kaplana K. Nursing process application in Nepal teaching hospital // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 79–87. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-79-87*







Corresponding author: Katel Kaplana — Lecturer, College of Nursing, Gandaki Medical College Teaching Hospital and Research Center. 33700, Pokhara-27, Nayabazar Rd, Kaski, Nepal. E-mail: katelkalpana@gmail.com
ORCID 0000-0002-1615-4261

Ответственный за переписку: Кател Каплана — доцент Медицинского колледжа, клинического и исследовательского центра Гандаки, Непал, 33700, ул. Найабазар, г. Покхара. E-mail: katelkalpana@gmail.com
Каплана К. ORCID 0000-0002-1615-4261

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-88-95

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ
ORIGINAL ARTICLE


Ошибки в диагностике как причины расхождения клинического и патологоанатомического диагнозов

А.М. Лебедева¹  , А.В. Березников^{1,2} , Е.А. Берсенева^{3,4} ,
Ю.О. Онуфрийчук², С.О. Шкитин¹ , Н.В. Макарец¹ 

¹ АльфаСтрахование-ОМС, г. Москва, Российская Федерация

² Московский государственный университет пищевых производств, г. Москва, Российская Федерация

³ Национальный институт качества Росздравнадзора, г. Москва, Российская Федерация

⁴ Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья, г. Москва, Российская Федерация
 lebedevaa2010@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность.* Развитие медицинской науки упростило клиницистам диагностический поиск в рамках конкретных заболеваний, часто это приводит к редуцированию традиционных методов диагностики, включая дифференциальную диагностику. Как следствие — увеличение врачебных ошибок в диагностике, выборе тактики лечения, в том числе в случаях с развитием неблагоприятного исхода. Целью исследования явилось выявление типовых ошибок дифференциальной диагностики заболеваний в случаях с летальным исходом в отделениях терапевтического и хирургического профиля. *Материалы и методы.* На первом этапе ретроспективного когортного исследования проанализированы случаи с летальным исходом на предмет правильности формулировки заключительного посмертного клинического диагноза и результаты его сопоставления с патологоанатомическим диагнозом по результатам экспертизы качества медицинской помощи в обязательном медицинском страховании. Выявлены ошибки в формулировке посмертного клинического диагноза, определены их причины. На втором этапе сценарным методом определены три варианта реализации рисков при расхождении заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов, с оценкой частоты реализации вариантов рисков в хирургических и терапевтических профилях. *Результаты и обсуждение.* При анализе случаев летальных исходов с расхождением заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов определены основные ошибки при формулировке заключительного клинического диагноза. При первом варианте реализации рисков причиной расхождения является неверная формулировка заключительного посмертного диагноза. В случае реализации второго сценария нарушения касаются неверной диагностической тактики при появлении нового заболевания или обострения хронического заболевания. При третьем сценарии нарушения связаны с неверной дифференциальной диагностикой: исходным ограничением круга нозологий для диагностического поиска. *Выводы.* Определены типовые нарушения диагностики и дифференциальной диагностики, приводящие к расхождению заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов. В рамках оказания медицинской помощи при хирургических специальностях чаще

© Лебедева А.М., Березников А.В., Берсенева Е.А., Онуфрийчук Ю.О., Шкитин С.О., Макарец Н.В., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

выявляется второй сценарий: неверная диагностическая тактика при появлении нового заболевания или обострения хронического заболевания. При оказании медицинской помощи по терапевтическим специальностям чаще выявляются нарушения по третьему сценарию: неверная дифференциальная диагностика, исходное ограничение круга нозологий для диагностического поиска. Второй и третий сценарии создают правовые риски для врача и медицинской организации при оценке соответствующими органами.

Ключевые слова: летальность, диагноз, расхождение, дефект, риски, страхование







Вклад авторов. Лебедева А.М.— концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка материала, Березников А.В.— анализ полученных данных, написание текста; Берсенева Е.А.— анализ полученных данных, написание текста; Онуфрийчук Ю.О.— сбор материала, анализ полученных данных; Шкитин С.О.— сбор материала, анализ полученных данных; Макарец Н.В.— сбор материала, анализ полученных данных.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.08.2021. Принята 25.10.2021.

Для цитирования. Лебедева А.М., Березников А.В., Берсенева Е.А., Онуфрийчук Ю.О., Шкитин С.О., Макарец Н.В. Ошибки в диагностике как причины расхождения клинического и патологоанатомического диагнозов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 88–95. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-88-95

Diagnostics errors as the reasons for the discrepancy between clinical and pathoanatomical diagnoses

Anastasia M. Lebedeva¹  , Alexei V. Bereznikov^{1,2} , Evgenia A. Berseneva⁴ ,
Yulia O. Onufriyчук², Sergei O. Shkitin¹ , Nadezhda V. Makarets¹ 

¹ AlfaStrakhovanie—OMS, Moscow, Russian Federation

² Moscow State University of Food Production, Moscow, Russian Federation

³ National Quality Institute of the Federal Health Oversight Service, Moscow, Russian Federation

⁴ National Research Institute for Public Health, Moscow, Russian Federation

 lebedevaa2010@yandex.ru

Abstract. Relevance. The development of medical science has made it easier for clinicians to diagnose specific diseases, often leading to the reduction of traditional diagnostic methods, including differential diagnosis. As a result, there is an increase in medical errors in diagnosis, the choice of treatment tactics, including in cases with the development of an unfavorable outcome. *The aim* of the study was to identify typical errors in the differential diagnosis of diseases in cases with a fatal outcome in the departments of both therapeutic and surgical profiles. *Materials and Methods.* At the first stage of the retrospective cohort study, fatal cases were analyzed for the correctness of the final post-mortem clinical diagnosis and the results of its comparison with the pathoanatomical diagnosis based on the results of the examination of the quality of medical care in compulsory health insurance. Errors in the formulation of the post-mortem clinical diagnosis were identified, and their causes were determined. At the second stage, the scenario method determines three variants of risk realization in the case of divergence of the final clinical and pathoanatomical diagnoses, with an assessment of the frequency of risk variants realization in the surgical and therapeutic profiles. *Results and Discussion.* When analyzing cases of fatal outcomes with a discrepancy between the final clinical and

pathoanatomical diagnoses, the main errors in the formulation of the final clinical diagnosis were identified. In the first variant of risk realization, the reason for the discrepancy is the incorrect formulation of the final post-mortem diagnosis. In the case of the second scenario, violations relate to incorrect diagnostic tactics when a new disease or exacerbation of a chronic disease occurs. In the third scenario, violations are associated with incorrect differential diagnosis: the initial restriction of the range of nosologies for diagnostic search. *Conclusion.* Typical violations of diagnosis and differential diagnosis leading to a discrepancy between the final clinical and pathoanatomical diagnoses are identified. As part of the provision of medical care in surgical specialties, the second scenario is more often identified: incorrect diagnostic tactics when a new disease appears or a chronic disease worsens. When providing medical care in therapeutic specialties, violations are more often detected in the third scenario: incorrect differential diagnosis, initial restriction of the range of nosologies for diagnostic search. The second and third scenarios create legal risks for the doctor and the medical organization when evaluated by the relevant authorities.

Keywords: lethality, diagnosis, discrepancy, defect, risks, insurance

Author contributions. Lebedeva A.M. — concept and design of research, collection of material, processing of material, Bereznikov A.V. — analysis of the received data, writing the text; Berseneva E.A. — collection of material, analysis of the received data; Onufriyuchuk Yu. O. — collection of material, analysis of the received data; Shkitin S.O. — collection of material, analysis of the received data; Makarets N.V. — collection of material, analysis of the received data.

Conflict of interest statement. The authors declare that there is no conflict of interest.

Received 24.08.2021. Accepted 25.10.2021.

For citation: Lebedeva AM, Bereznikov AV, Berseneva EA, Onufriyuchuk Yu O, Shkitin SO, Makarets NV. Diagnostics errors as the reasons for the discrepancy between clinical and pathoanatomical diagnoses. *RUDN Journal of Medicine.* 2022;26(1):88–95. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-88-95

Введение

Развитие медицинской науки: создание современных средств диагностики упростило клиницистам диагностику в рамках конкретных заболеваний. Главными инструментами для врача остаются сбор жалоб, анамнеза, осмотр пациента, дифференциальный диагноз. Вектор диагностики сместился в пользу современных методов обследования, редуцировались традиционные методы обследования [1], что приводит к ошибкам в диагностике, цена которых жизнь и здоровье пациента [2–5].

Цель исследования: проанализировать ошибки в дифференциальной диагностике, разработать методологию формулировки посмертного клинического заключительного диагноза.

Материалы и методы

Работа организована в рамках когортного ретроспективного исследования. Группа исследований 8269 случаев медицинской помощи с летальным

исходом, по которым проведена экспертиза качества медицинской помощи (далее — ЭКМП) в рамках обязательного медицинского страхования.

Критерии включения: летальный исход, медицинская помощь в круглосуточном стационаре (январь 2018 года — май 2020 года), наличие полиса обязательного медицинского страхования ООО «АльфаСтрахование-ОМС», заключительный посмертный диагноз терапевтического профиля (коды МКБ-Х: D 50-D 53, E 10-E 14, E 66.2, I10-I15, I20-I25, I26-I28, I30-I52, J00-J99, K20-K87, M30-M32, N 00–08, N 10–23, D 50–53), проведение патолого-анатомического вскрытия (судебно-медицинского исследования), наличие: протокола патологоанатомического вскрытия, протокола заседания комиссии медицинской организации по изучению летальных исходов.

Критерии исключения: отсутствие протокола патолого-анатомического вскрытия или судебно-медицинского исследования, иные причины смерти (не относящиеся к критериям включения).

Минимальный объем репрезентативной выборки определен по формуле Лера [6].

После отбора в исследование включено 3250 случаев с летальным исходом. Средний возраст умерших 62,3 года (от 18 до 85 лет), из них мужчины — 48 %, женщины — 52 %.

Методы исследования

Патологоанатомические и судебно-медицинские вскрытия, работа комиссии по изучению летальных исходов организованы и проведены в соответствии с нормативными требованиями [7–9]. В рамках исследования применен сценарный метод оценки рисков [10].

Статистическая обработка проведена с использованием методов непараметрической статистики (Хи-квадрат), доверительные интервалы для долей (процентов) вариант рассчитывались методом углового преобразования Фишера.

Результаты и обсуждение

На первом этапе проанализированы случаи с летальным исходом на предмет правильности формулировки заключительного посмертного клинического диагноза (далее — ЗКД) и результатов его сопоставления с патологоанатомическим диагнозом (далее — ПАД) по результатам ЭКМП. Расхождения ЗКД и ПАД выявлены как в случаях с нарушениями при оказании медицинской помощи и без таковых. Расхождения ПКД и ПАД 2 и 3 категорий достоверно чаще встречаются в случаях с нарушениями при оказании медицинской помощи.

На втором этапе при помощи сценарного метода рассмотрены варианты реализации рисков неверной формулировки ЗКД, выделено три сценария реализации рисков расхождений:

1. Первый сценарий: ошибки при формулировке ПКД, при этом все нозологические формы диагностированы (отмечается неверная структура ПКД; заболевание, ставшее основной причиной смерти, не отнесено к основному заболеванию

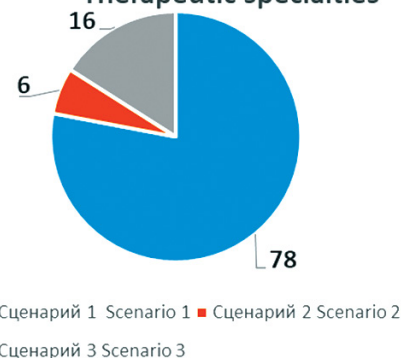
и/или в диагноз не вынесены смертельные осложнения).

2. Второй сценарий: лечащий врач не дает должной оценки изменениям в клинической картине и состоянии больного.

3. Третий сценарий: связан с нарушениями при дифференциальной диагностике.

Первый сценарий достоверно чаще встречается при 1 категории расхождений, тогда как второй и третий сценарии достоверно чаще встречаются при 2 и 3 категории расхождений (для всех случаев $p < 0,05$).

Терапевтические специальности,
Therapeutic specialties



Хирургические специальности,
Surgical specialties

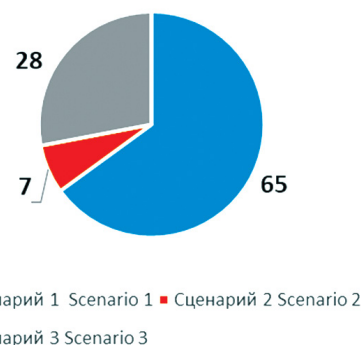


Рис. 1. Распределение сценариев в рамках случаев хирургических и терапевтических специальностей, (%)
Fig. 1. Distribution of scenarios within cases of surgical and therapeutic specialties, (%)

Первый сценарий встречается достоверно чаще (рис. 1) как в хирургическом профиле — 65 % [29,85–40,3], так и в терапевтическом — 78 % [23,2–33,05]). Второй сценарий достоверно чаще выявлен в хирургическом профиле (хирургический профиль — 28 % [22,6–52,35], терапевтический — 6 % [4,9–10,65], $p < 0,05$). Третий сценарий достоверно чаще — при оказании терапевтической помощи (хирургический профиль — 7 % [0,63–3,84], терапевтический — 16 % [3,85–8,9], $p < 0,05$).

При развитии второго сценария врач не дает должной оценки изменениям в состоянии больного (вновь возникшая симптоматика часто не относится к профилю медицинской помощи), новое или обострившееся заболевание формирует непосредственную причину смерти. Помощь по поводу данного заболевания не оказывается до летального исхода (оказывается несвоевременно).

Выделены следующие типовые варианты развития второго сценария (рис. 2):

1. Клинический проявления не отражены в записях врача, присутствуют в иных записях, подтверждающих наличие симптомов в соответствующие периоды — (45 % [35,25–55]):

2. В истории болезни нет данных о патологии, определившей исход, до момента возникновения жизнеугрожающего состояния. По данным ПАВ, проявления до жизнеугрожающего состояния имели место с высокой вероятностью — (20 % [12,65–28,55]);

3. В истории болезни нет данных о клинике патологии, определившей исход, до момента возникновения жизнеугрожающего состояния, по данным ПАВ невозможно предположить наличие клинических проявлений до жизнеугрожающего состояния — (35 % [26–44,75]).

Все вышеперечисленные варианты реализуются в диагностических ошибках в части отражения в посмертном диагнозе патологии, которая явилась основной причиной смерти, ее осложнений и вызванных ей состояний, послуживших непосредственной причиной смерти (это формирует причину расхождения ЗКД и ПАД).

Все изложенные выше варианты реализации второго сценария создают высокие правовые риски

для лечащего врача, т.к. в определенных ситуациях могут быть расценены как халатность или бездействие в зависимости от обстоятельств [2–5, 12–15].

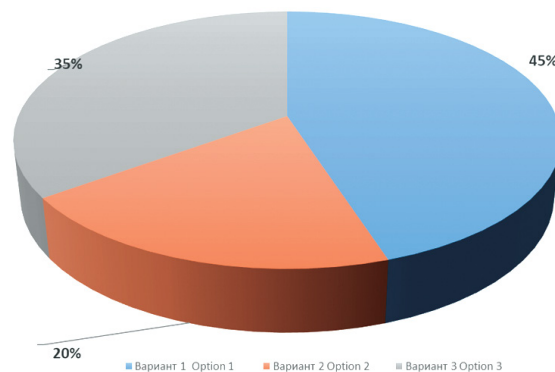


Рис. 2. Частота встречаемости вариантов второго сценария, (%)

Fig. 2. Frequency of occurrence of variants of the second scenario, (%)

Для коррекции данных рисков необходимо обратить внимание на знание врачами всех специальностей принципов диагностики и лечения основных терапевтических заболеваний, которые могут потребовать неотложной и экстренной медицинской помощи.

Аналогично проанализирован третий сценарий, в основе которого лежит нарушение дифференциальной диагностики или ее незавершенность, и выделили следующие варианты (рис. 3):

1. Необоснованное сокращение дифференциально-диагностического поиска, в результате чего патология, определившая исход, была исключена из диагностического поиска. Частота встречаемости данного варианта — 49 % [38,15–58]. Дифференциальная диагностика за последние полвека оказалась сильно редуцированной и упрощенной в понимании клиницистов. В трудах У. Ослера, М. Маттеса, Р. Хегглина, И. Мадьяра дифференциальный диагноз включает помимо терапевтических заболеваний, инфекционную, хирургическую, неврологическую и другую патологию [16–19]. Первая редукция дифференциального диагноза произошла в 40-х годах прошлого столетия, когда из дисциплины внутренние болезни были выделены более узкие специальности

(дерматовенерология, гинекология, педиатрия) [20–21]. В данной парадигме написаны труды профессора А.В. Виноградова [1]. В 60–70-х годах прошлого века наметилась тенденция к узкоспециализированной помощи и метод дифференциального диагноза стал более узкоспециализированным, углубленным в конкретные специальности [22–26]. Однако в практической деятельности врача никто не отменял более широкого подхода к дифференцируемому ряду заболеваний. В итоге основной причиной расхождений ЗКД и ПАД стала использование врачами узкоспециализированного диагностического поиска, с исключением ряда заболеваний других профилей. Изначальное сужение дифференциально-диагностического поиска приводит к неверному результату дифференциальной диагностики и постановке неправильного диагноза, при этом патология, определяющая танатогенез, не выявляется.

2. Ошибки в дифференциальной диагностике, когда врач неверно трактует данные анамнеза, обследований. В итоге диагностический поиск приводит к ошибочному результату. Вариант достаточно просто выявляется при ЭКМП, т.к. в медицинской документации достаточно данных для постановки верного диагноза. Частота встречаемости данного варианта — 23 % [15,25–31,9].

3. Смерть пациента не позволила реализовать дифференциально-диагностический поиск в полном объеме. Частота этого варианта — 28 % [20,4–38,4].

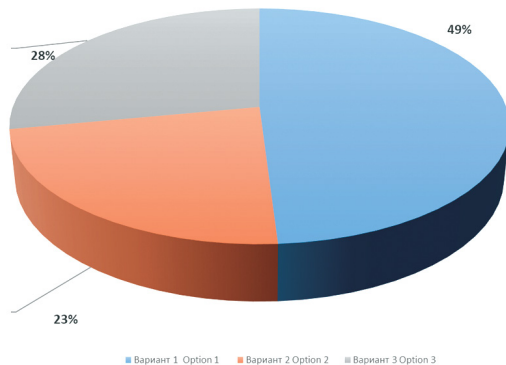


Рис. 3. Частота встречаемости вариантов третьего сценария, (%)

Fig. 3. Frequency of occurrence of variants of the third scenario, (%)

Важно, что первый и второй варианты реализации третьего сценария создают правовые риски для врача и медицинской организации при оценке соответствующими органами [2–5].

Выводы

1. В ходе исследования определены типовые нарушения диагностики и дифференциальной диагностики, приводящие к расхождению ЗКД и ПАД.

2. Сценарий, когда лечащий врач не дает должной оценки изменениям в клинике имеет типовые варианты: имели место типичные проявления, позволявшие предположить тяжелую конкурирующую патологию; нет данных о клинической картине патологии, определившей исход, по данным ПАВ клинические проявления имели место с высокой вероятностью; нет данных о клинической картине патологии, определившей исход, по данным ПАВ предположить наличие клинических проявлений до жизнеугрожающего состояния не представляется возможным.

3. Третий сценарий имеет следующие варианты реализации: сокращение диагностического поиска, в результате чего патология, определившая исход, исключена из числа дифференцируемых заболеваний; ошибки в дифференциальной диагностике, обусловленные неверной трактовкой полученных данных; смерть пациента не позволила реализовать диагностический поиск в полном объеме.

4. Дана оценка рисков для врача и медицинской организации при всех вариантах обоих сценариев.

Библиографический список

1. Виноградов А.В. Дифференциальный диагноз внутренних болезней. М.: Медицина, 1980. 816 с.
2. Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В. Клинико-анатомические сопоставления в оценке качества медицинской помощи // Судебная медицина, 2019. Том 5. № 2. С. 4–9.
3. Полянко Н.И., Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В. Проблема расхождений диагнозов в оценке качества оказания медицинской помощи // Труды научно-исследовательского института организации здравоохранения и медицинского менеджмента. Сборник научных трудов. Том 1. Выпуск 1. 2019. С. 60–61.

4. Ромодановский П.О. Ненадлежащее оказание медицинской помощи. Судебно-медицинская экспертиза: учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 144 с.
5. Семина Т.В., Клевно В.А., Гув А.Ю., Веселкина О.В. Уголовная ответственность врача в современной России: монография. М.: Проспект, 2021. 351 с.
6. Сырцова Л.Е., Косаговская И.И., Авксентьева М.В., Салахов Э.Д. Основы эпидемиологии и статистического анализа в общественном здоровье и управлении здравоохранением. М.: Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 2004. 194 с.
7. Приказ Минздрава России от 06.06.2013 N 354н «О порядке проведения патолого-анатомических вскрытий» (Зарегистрировано в Минюсте России 16.12.2013 N 30612) http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_155839/ (Дата обращения 17.05.2021).
8. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 12.05.2010 N 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации» (Зарегистрировано в Минюсте РФ 10.08.2010 N 18111), http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_103821/ (Дата обращения 17.05.2021).
9. Приказ Минздрава России от 31.07.2020 N 785н «Об утверждении Требований к организации и проведению внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности» (Зарегистрировано в Минюсте России 02.10.2020 N 60192), http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_363867/ (Дата обращения 17.05.2021).
10. Картвелишвили В.М. Риск-менеджмент. Методы оценки риска: учебное пособие / В.М. Картвелишвили, О.А. Свиридова. М.: ФГБОУ ВО «РЭУ им. Г.В. Плеханова», 2017. 120 с.
11. Панкина Э.В., Кравченко О.В., Паклина Л.Х. Клинико-анатомический анализ летальных исходов на современном этапе // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2013. № 4. Т. 147. С. 18—22.
12. Сергеев Ю.Д. Медицинское право. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 784 с.
13. Сергеев Ю.Д. Судебно-медицинская экспертиза по делам о профессиональных правонарушениях медицинских работников (медико-правовые аспекты проблемы). 14.00.24. Автореф. дис... докт. мед. наук. М., 1988. 53 с.
14. Сергеев Ю.Д., Мохов А.А. Ненадлежащее врачевание: возмещение вреда здоровью и жизни пациента. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007. 312 с.
15. Сергеев Ю.Д., Ерофеев С.В. Неблагоприятный исход оказания медицинской помощи. М.: Медицинское издательство, 2001. С. 288.
16. Ослер В. Руководство по внутренней медицине. Л, 1928. 1096 с.
17. Маттес М. Учебник дифференциальной диагностики. М.: Книга по Требовани. 2014. 492 с.
18. Хегглин Р. Дифференциальная диагностика внутренних болезней. М.: Медицина, 1965. 794 с.
19. Мадьяр И. Дифференциальная диагностика заболеваний внутренних органов. Будапешт: Академия наук, Венгрия, 1987. 1155 с.
20. Гельштейн Э.М., Зеленин В.Ф. Частная патология и терапия внутренних болезней. М.: Медгиз, 1949. 896 с.
21. Тареев Е.М. Внутренние болезни. М.: Медгиз, 1956. 582 с.
22. Тареев Е.М. Гипертоническая болезнь. М.: Медгиз, 1948. 156 с.
23. Молчанов Н. Гипотонические состояния. Л.: Медгиз, 1962. 203 с.
24. Тареев Е.М. Основы нефрологии. М.: Медицина, 1972. 944 с.
25. Зеленин В.Ф. Болезни сердечно-сосудистой системы. М.: Медгиз, 1956. 332 с.
26. Наумов Л.Б. Распознавание болезней сердечно-сосудистой системы. Ташкент: Медицина, 1979. 338 с.

References

1. Vinogradov AV. *Differentsial'nyi diagnoz vnutrennikh boleznei*. M.: Meditsina, 1980. 816 p. (In Russian).
2. Zairat'yants OV, Kakturskii LV. *Kliniko-anatomicheskie sopostavleniya v otsenke kachestva meditsinskoj pomoshchi*. *Russian Journal of Forensic Medicine*, 2019;5(2):4—9 (In Russian).
3. Polyanko NI, Zairat'yants OV, Kakturskii LV. *Problema raskhozhdenni diagnostov v otsenke kachestva okazaniya meditsinskoj pomoshchi*. *Trudy nauchno-issledovatel'skogo instituta organizatsii zdravookhraneniya i meditsinskogo menedzhmenta*. *Sbornik nauchnykh trudov*. 2019;1(1);60—61 (In Russian).
4. Romodanovskii PO. *Nenadlezhashchee okazanie meditsinskoj pomoshchi*. *Sudebno-meditsinskaya ehkspertiza: uchebnoe posobie*. M.: GEHOTAR-Media, 2018. 144 p. (In Russian).
5. Semina TV, Klevno VA, Guev A Yu, Veselkina OV. *Ugolovnaya otvetstvennost' vracha v sovremennoi Rossii: monografiya*. M.: Prospekt, 2021. 351 p. (In Russian).
6. Syrcova LE, Kosagovskaya II, Avksent'eva MV, Sakakhov ED. *Osnovy epidemiologii i statisticheskogo analiza v obshchestvennom zdorov'e i upravlenii zdravookhraneniem*. M.: Moskovskij gosudarstvennyj medicinskij universitet im. I.M. Sechenova, 2004. 194 p. (In Russian).
7. Prikaz Minzdrava Rossii ot 06.06.2013 N 354n «O poryadke provedeniya patologo-anatomicheskikh vskrytij» (Zaregistrirvano v Minyuste Rossii 16.12.2013 N 30612). Available from: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_155839/ (Accessed 17.05.2021) (In Russian).
8. Prikaz Minzdravsocrazvitiya RF ot 12.05.2010 N 346n «Ob utverzhenii Poryadka organizacii i proizvodstva sudebno-meditsinskih ekspertiz v gosudarstvennyh sudebno-ekspertnyh uchrezhdeniyah Rossijskoj Federacii» (Zaregistrirvano v Minyuste RF 10.08.2010 N 18111). Available from: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_103821/ (Accessed 17.05.2021) (In Russian).
9. Prikaz Minzdrava Rossii ot 31.07.2020 N 785n «Ob utverzhenii Trebovanij k organizacii i provedeniyu vnutrennego kontrolya kachestva i bezopasnosti medicinskoj deyatel'nosti» (Zaregistrirvano v Minyuste Rossii 02.10.2020 N 60192). Available from: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_363867/ (Accessed 17.05.2021) (In Russian).
10. Kartvelishvili VM. *Risk-menedzhment. Metody otsenki riska: uchebnoe posobie* / Kartvelishvili V M, Sviridova OA. — M: FGBOU VO «REHU im. GV PlekhanovA», 2017. 120 p. (In Russian).

11. Pankina EHV, Kravchenko OV, Paklina LKh Kliniko-anatomicheskii analiz letal'nykh iskhodov na sovremennom ehtape. *Nauchnye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya*. 2013;4(147):18—22 (In Russian).
12. Sergeev YUd. *Meditsinskoe pravo*. M.: GEHOTAR-Media, 2008. 784 p. (In Russian).
13. Sergeev YUd. *Sudebno-meditsinskaya ehkspertiza po delam o professional'nykh pravonarusheniyakh meditsinskikh rabotnikov (mediko-pravovyye aspekty problemy)*. Avtoref. dis... dokt. med. nauk. Moscow. 1988 (In Russian).
14. Sergeev YuD, Mokhov AA. *Nenadlezhashchee vrachevanie: vozmeshchenie vreda zdorov'yu i zhizni patsienta*. M.: GEHOTAR-Media, 2007. 312 p. (In Russian).
15. Sergeev YuD, Erofeev SV. *Neblagopriyatnyi iskhod okazaniya meditsinskoi pomoshchi*. M.: *Meditsinskoe izdatel'stvo*, 2001. 288 p. (In Russian).
16. Osler V. *Rukovodstvo po vnutrennei meditsine*. L., 1928. 1096 p. (In Russian).
17. Mattes M. *Uchebnykh differentsial'noi diagnostiki*.— M.: Kniga po Trebovaniyu, 2014. 492 p. (In Russian).
18. Khegglin R. *Differentsial'naya diagnostika vnutrennikh boleznei*. M.: Meditsina, 1965. 794 p. (In Russian).
19. Mad'yar I. *Differentsial'naya diagnostika zabolevani vnutrennikh organov*. Budapesht: Akademiya nauk, Vengriya, 1987. 1155 p. (In Russian).
20. Gel'shtein EhM, Zelenin VF. *Chastnaya patologiya i terapiya vnutrennikh boleznei*. M.: Medgiz, 1949. 896 p. (In Russian).
21. Tareev EM. *Vnutrennie bolezni*. M.: Medgiz, 1956. 582 p. (In Russian).
22. Tareev EM. *Gipertonicheskaya bolezni'*.— M.: Medgiz, 1948. 156 p. (In Russian).
23. Molchanov N. *Gipotonicheskie sostoyaniya*. L.: Medgiz, 1962. 203 p. (In Russian).
24. Tareev EM. *Osnovy nefrologii*. M.: Meditsina, 1972. 944p. (In Russian).
25. Zelenin VF *Bolezni serdechno-sosudistoi sistemy*. M.: Medgiz, 1956. 332 p. (In Russian).
26. Naumov LB. *Raspoznavanie boleznei serdechno-sosudistoi sistemy*. Tashkent: Meditsina, 1979. 338 p. (In Russian).

Ответственный за переписку: Лебедева Анастасия Михайловна — кандидат медицинских наук, заместитель руководителя дирекции медицинской экспертизы по организационно-методической работе ООО «АльфаСтрахование—ОМС», Российская Федерация, 115162, г. Москва, ул. Шаболовка, 31, стр. 11. E-mail: lebedevaa2010@yandex.ru

Лебедева А.М. SPIN-код 8628-2528; ORCHID 0000-0001-7724-0692

Березников А.В. ORCHID 0000-0003-1432-9467

Берсенева Е.А. SPIN-код 7361-9544; ORCHID 0000-0003-3481-6190

Шкитин С.О. SPIN-код 9074-0609; ORCHID 0000-0001-8291-521X

Макарец Н.В. ORCHID 0000-0001-6766-5726

Corresponding author: Lebedeva Anastasia Mikhailovna — PhD, Deputy Head of the Directorate of Medical Expertise of LLC «AlfaStrakhovanie—OMS», 115162, Shabolovka str., 31, p. 11, Moscow, Russian Federation. E-mail: lebedevaa2010@yandex.ru

Lebedeva A.M. ORCHID 0000-0001-7724-0692

Bereznikov A.V. ORCHID 0000-0003-1432-9467

Berseneva E.A. ORCHID 0000-0003-3481-6190

Shkitin S.O. ORCHID 0000-0001-8291-521X

Makarets N.V. ORCHID 0000-0001-6766-5726










ХИРУРГИЯ. АНДРОЛОГИЯ SURGERY. ANDROLOGY

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-96-102

RESEARCH ARTICLE
НАУЧНАЯ СТАТЬЯ


Reproductive potential repair in men with varicocele

Grigory E. Roitberg^{1,2} , Zhanna V. Dorosh¹ , Tatyana V. Tarasova³  , Igor V. Saushev³ ,
Elena P. Tyurina³ , Irina V. Shuligina³ 

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

² Medicina JSC, Moscow, Russian Federation

³ Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

 9023060@mail.ru

Abstract. Relevance. In majority of men, varicose veins of the testicle—varicocele—does not cause discomfort and is asymptomatic, and scrotal pain only bothers 10 % of patients. In 2/3 of cases, varicocele is a clinical finding. In this case, varicocele is the most common cause of male infertility. **Aim of the study.** Recovery of the reproductive potential of patients with varicocele. **Materials and Methods.** In 219 patients with varicocele, we've carried an ejaculate study out (WHO, 2010) 3, 6, 12 months after surgical treatment of varicocele. We considered the reproductive function restored by normozoospermia in the ejaculate and the onset of pregnancy in the spouse during the follow—up period of 12 months. **Results and Discussion.** The 2/3 men of the 219 patients with varicocele had ejaculate abnormalities. The age of patients who were diagnosed with pathospermia was 31+11 years. 66 (39.5 %) patients with varicocele had spermatozoa with reduced mobility. After surgical treatment (varicocelectomy according to Marmara), normozoospermia was present almost in every second man. Nevertheless, the number of pregnancies in a married couple was higher than 6 months after varicocelectomy—24(32.8 %). The surgical method of treatment of varicocele allows to restore the reproductive function of a man in 30 %. In our study, normozoospermia after varicocelectomy was recorded in almost every second patient. Ultrasound changes in the testicle with varicocele are an unfavorable prognosis for the restoration of male fertility. **Conclusion.** Surgical treatment of varicocele can recover the reproductive potential of almost every second man of reproductive age. Moreover, a greater number of pregnancies six months right after the operation were registered in spouses.

Keywords: varicocele, male infertility, ejaculate pathology, reproductive potential, scrotal ultrasound

Author contributions. Concept, design and definition of intellectual content: G.E. Roitberg, T.V. Tarasova. Literature search and data acquisition: J.V. Dorosh, I.V. Saushev. Manuscript preparation and editing: E.P. Tyurina, I.V. Shuligina.

© Roitberg G.E., Dorosh J.V., Tarasova T.V., Saushev I.V., Tyurina E.P., Shuligina I.V., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Received 31.07.2021. Accepted 25.10.2021.

Conflict of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

For citation: Roitberg GE, Dorosh JV, Tarasova TV, Saushev IV, Tyurina EP, Shuligina IV. Reproductive potential repair in men with varicocele. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):96–102. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-96-102

Introduction

Recently, a lot of attention has been paid to the male factor of infertility. [1–5]. Male infertility occurs in 30–50 % of cases [6–10]. According to many experts, varicocele is the main cause of male infertility [3]. Varicocele occurs in 15 % of the male population in general [1, 11]. And still there is a clear dynamics of the increase in morbidity, depending on the age of the patient. Thus, in boys aged 11–14 years, varicocele occurs in 7.8 %, and at the age of 15–19 years — 14.1 % [12]. According to Levinger U. et al. the prevalence of varicocele progresses by about 10 % as the age of a man increases by ten years [13]. Varicocele is diagnosed in 18 % of patients aged 30–39 years; 24 % in 40–49 year old patients; 33 % in 50–59 years old patients; 42 % in 60–69 years old patients; 53 % in 70–79 years old men and 75 % in 80–89 years old [13].

In the majority of cases, varicocele does not cause discomfort and is asymptomatic, and only 10 % of patients are concerned about scrotal pain [14]. In 2/3 of cases, varicocele is a clinical finding when examining the patient and palpating the dilated veins of the spermatic cord. In 30 % of cases, subclinical forms of varicocele can be detected by ultrasound of the scrotum.

The role of varicocele in the development of male infertility is still unknown. But what we know, is that the renal vein is located between the aorta and the superior mesenteric artery, which can lead to the formation of «aorto-mesenteric forceps» and retrograde blood flow into the testicular vein, followed by an increase in hydrostatic pressure and venous testicular hyperemia [1]. All these factors together lead to an increase in the temperature of the scrotum, the development of hypoxia. Spermatogenesis is a temperature-sensitive process that occurs best at a temperature of 35–36 °C [15].

In patients with varicocele, the temperature of the scrotum increases by 2–2.5 °C due to retrograde blood flow in the testicular vein [16]. At the same time, the expression of heat shock protective proteins decreases, which contributes to the induction of heat stress [17]. Heat stress, in turn, exacerbates apoptosis and the synthesis of reactive oxygen species [18].

The prevalence of varicocele in men with infertility is 25–35 %, and in patients with secondary infertility — 50–80 % [12]. However, there is still disagreement about the necessity and methods of correcting disorders in the ejaculate in varicocele [1, 19, 20]. Therefore, when identifying varicocele, several questions arise: the need for surgical treatment; methods and timing of correction of violations in the ejaculate; the realization of the reproductive potential of a man: the desire to achieve pregnancy in the spouse in a natural way. Objective: recovery of the reproductive potential of patients with varicocele.

Materials and methods

We've analyzed the results of treatment of 219 patients with diagnosed varicocele in 2018. All patients gave their consent to the processing of personal data and participation in the investigation. The study was approved by the local ethics committee of Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation. Criteria for inclusion in the study: the presence of varicose veins of the spermatic cord, the age of 18–50 years, the patient's consent to surgical treatment. Exclusion criteria, acute inflammatory diseases of the reproductive tract, hydrocele, genetic abnormalities, violation of reproductive function in the spouse.

All patients underwent a standard clinical examination, determination of the hormonal profile, and ultrasound of the scrotum. Blood hormones (follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, total testosterone) were determined in blood serum by immunofluorescence.

Ultrasound of the scrotum was performed on the Logiq 5 device, using a linear sensor with a frequency of 7 MHz. Ultrasound signs of varicocele we considered: convoluted course and expansion of the veins of the spermatic cord more than 3 mm, the change in the direction of blood flow to the opposite during the Valsalva test. We paid special attention to the size and structure of the testicle.

The study of the ejaculate (WHO, 2010) was carried out at the time of the initial treatment of the patient and 3, 6, 12 months after surgical treatment of varicocele.

Surgical treatment of varicocele was performed in all patients according to the Marmara method.

The reproductive potential of patients with varicocele was assessed by the onset of pregnancy in the spouse during the follow — up period of 12 months.

The Student’s test (Statistica version 7.0) was helpful to perform the statistical analysis. For dependent variables, the paired criterion was used, and for independent variables, the unpaired Student’s criterion was used. The significance threshold was set at $p < 0.05$.

Results and discussion

Among all men ($n=219$) included in the study, pathospermia was detected in 167 (76.2 %). In these patients, we’ve determined the reproductive potential for the next years.

The average age of all patients with stated semen abnormalities was 31+11 years. The distribution of patients by age is shown in Figure 2. In 45 (27 %) men, infertility was primary, in the rest —122 (73.0 %) secondary.

Complaints of a feeling of heaviness in the left half of the scrotum were presented by 14(8.3 %) patients, pain in this area was noted by 27 (16.1 %) men. In most of the patients, men were found to have varicocele of the 2nd degree 105 (62.8 %), the 3rd degree was in 49(29.5 %) people, in the remaining 13(7.7 %)-of the 1st degree.

During the initial treatment of patients with varicocele, according to the ejaculate data, the most impaired sperm motility was detected in 66 (39.5 %) people. The distribution of patients depending on the detected disorders in the ejaculate is shown in the fig. 1.

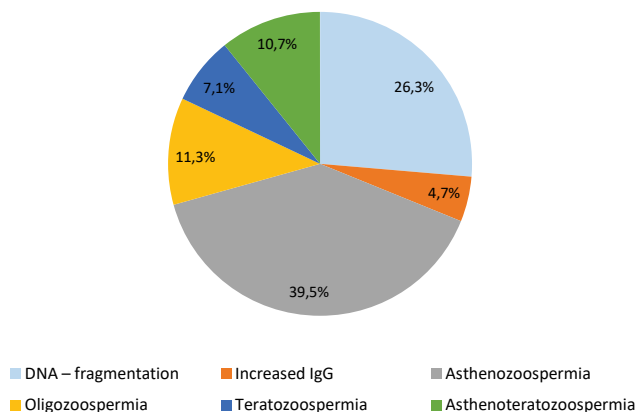


Fig. 1. Distribution of the patients according to the detected disorders in the ejaculate

Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от выявленных нарушений в эякуляте

In 59 (35.3 %) patients with varicocele the ultrasound revealed violations of the structure and volume of the testicle (Fig. 2). The testicular volume was reduced to an average of 19.2+2.1 ml.

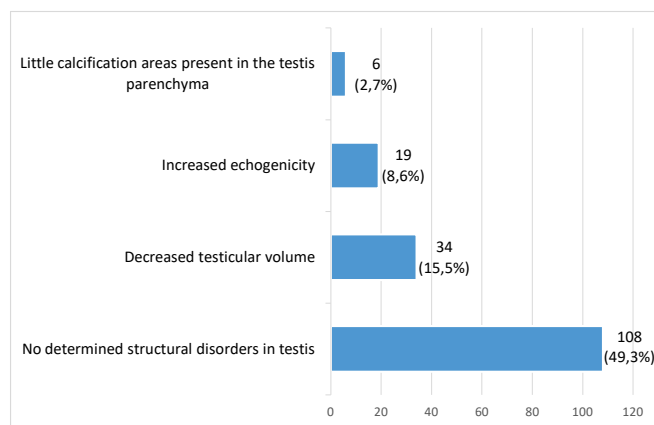


Fig. 2. Distribution of patients with varicocele depending on the detected changes in the testicle during scrotal ultrasound

Рис. 2. Распределение пациентов с варикоцеле в зависимости от выявленных изменений в яичке при УЗИ мошонки

After clinical examination, all patients had undergone a surgical treatment of the varicocele on the Marmara. The ejaculate was restored to the normozoospermia indicators in 73(43.7 %), of which almost half of the men had improved ejaculate indicators by the 6th month of follow-up (Fig. 4). The total number of motile spermatozoa increased from 17.32 ± 11.07 to 34.64 ± 9.81 ($p < 0.05$), and the proportion of normal morphological forms increased from 1.2 ± 0.8 % to 6.1 ± 1.7 %.

The distribution of patients depending on the follow-up period, as well as the rate of recovery of normal ejaculate parameters and the achievement of physiological pregnancy in the spouse is shown in Figure 3. The majority of physiological pregnancy occurred 6 months after varicocelectomy—24(32.8 %).

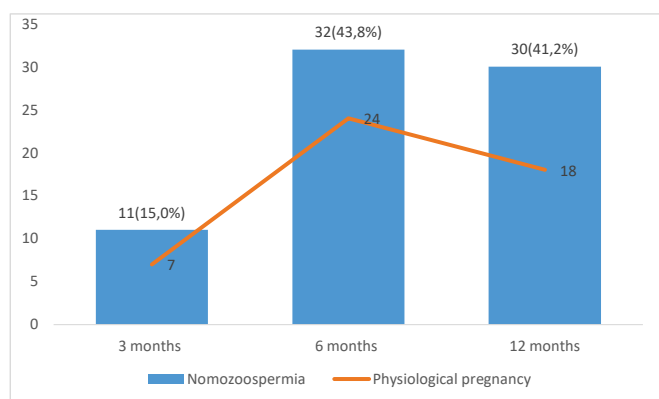


Fig. 3. Dynamics of natural pregnancy in patients after varicocelectomy

Рис. 3. Динамика наступления беременности естественным путем у пациентов после варикоцелэктомии

As it has been stated by The World Health Organization, there're about 800 million people suffering from the problems related to infertility [21]. Among the causes of male infertility, varicocele is the most common, affecting 11.7 % of fertile men and about 40 % of men who cannot achieve pregnancy [22]. Varicocele is often the cause of disorders of the exocrine and endocrine functions of the testicles, leading to impaired spermatogenesis [21, 23].

The clinical varicocele is quite simple to diagnose by applying physical and instrumental examination of

the patient [23, 24]. Indications for varicocelectomy are hypotrophy, testicular atrophy, pathospermia, and scrotal pain [17, 24].

The degree of influence of varicocele on the reproductive function in men is still a matter of discussion among the authors. However, the results of the study by Alsaikhan B. et al. demonstrate the presence of dilated spermatic cord veins in every third male with primary infertility and up to 80 % of men with secondary infertility [12]. In our study, the main part of patients were also with secondary infertility (73 %). Surgical treatment of varicocele allows to restore the reproductive potential of a man in 30 % [12]. In our study, normozoospermia after varicocelectomy was recorded in 43.7 % of patients. Ultrasound changes in the testicle in patients with varicocele are an unfavorable prognosis in terms of restoring male reproductive function. Such patients need additional pathogenetic treatment in the postoperative period to restore sperm fertility.

Shamsa A. et al has evaluated the results of surgical treatment of varicocele in 1,711 patients in a retrospective way [25]. In the postoperative period, not only the sperm concentration increased by 11.9 % ($p < 0.001$), but also the motility and morphology of sperm ($p < 0.01$) [25]. According to Shiraishi, K., men with non-obstructive azoospermia ($n=83$) after Marmara surgery were found to have sperm in the ejaculate in 24 % [7]. Meta-analysis data show that after surgical treatment of varicocele (regardless of the method of operation), 44 % of patients had sufficient sperm concentration in the ejaculate to refuse IVF and perform insemination [3].

Conclusion

Normozoospermia in varicocele is present in 23.8 % of men. Pathospermia in varicocele was recorded in 2/3 of cases. And still, only 1/3 of patients have primary male infertility. Surgical treatment-varicocelectomy by the Marmara method allows to restore the reproductive potential in 43.7 % of men. The greatest number of pregnancies in the spouse were recorded 6 months after the operation (32.8 %). Therefore, for six months,

such men need rehabilitation in order to restore their reproductive potential.

References

1. Reyes JG, Farias JG, Henríquez-Olavarrieta S. The hypoxic testicle: physiology and pathophysiology. *Oxid Med Cell Longev*. 2012. doi: 10.1155/2012/929285. 929285
2. Myandina GI, Kulchenko NG, Alhejoj H. The frequency of polymorphism —262 C>T CAT gene of infertile men in the moscow region. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(3):478—481. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14116>
3. Esteves SC, Miyaoka R, Roque M, Agarwal A. Outcome of varicocele repair in men with nonobstructive azoospermia: systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*. 2016;18:246—253.
4. Kulchenko NG. Inflammation and male infertility. What's is common? *RUDN Journal of Medicine*. 2017; 21(4): 402—407. doi: 10.22363/2313-0245-2017-21-4-402-407 (In Russian).
5. Protasov AV, Kulchenko NG, Vinogradov IV. Association of tension-free inguinal hernia repair and pathospermia in fertile men. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zurnal im. N.I. Pirogova*. 2020;10:44—48. <https://doi.org/10.17116/hirurgia202010144> (In Russian).
6. Pimenov EP, Andryukhin MI. The role of DNA fragmentation in the pathogenesis of male infertility. *Bulletin Biomedicine and Sociology*. 2019;4(1):38—41. (In Russian).
7. Shiraiishi K, Oka S, Matsuyama H. Predictive factors for sperm recovery after varicocelectomy in men with nonobstructive azoospermia. *J Urol*. 2017;197:485—490.
8. Kostin AA, Kulchenko NG, Aliyev AR. Use of dynamic orchoscintigraphy in the diagnosis and treatment of idiopathic male infertility. *Andrology and Genital Surgery*. 2012;13(4):29—32. (In Russian).
9. Kulchenko NG, Moskvichev DV. The Experience of Determining Testicular Reserve in Patients with Non-obstructive Azoospermia. *Difficult patient*. 2017;15(6—7):53—54. (In Russian).
10. Kulchenko NG. Inguinal hernia repair and male health. *Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.)*. 2019;6(3):65—73. doi: 10.17709/2409-2231-2019-6-3-6
11. Zhukov OB, Zubarev AR, Kulchenko NG. Pathological venous drainage of cavernous bodies at patients with varicocele. *Medical visualization*. 2006;1:82—89.
12. Alsaikhan B, Alrabeeh K, Delouya G, Zini A. Epidemiology of varicocele. *Asian J Androl*. 2016;18(2):179—181. doi:10.4103/1008-682X.172640
13. Levinger U, Gornish M, Gat Y, Bachar GN. Is varicocele prevalence increasing with age? *Andrologia*. 2007;39:77—80. doi: 10.1111/j.1439-0272.2007.00766.x
14. Owen RC, McCormick BJ, Figler BD, Coward RM. A review of varicocele repair for pain. *Transl Androl Urol*. 2017;6(1):20—29. doi:10.21037/tau.2017.03.36
15. Rotker K, Sigman M. Recurrent varicocele. *Asian J Androl*. 2016;18(2):229—233. doi:10.4103/1008-682X.171578

16. Garolla A, Torino M, Miola P, Caretta N, Pizzol D, Menegazzo M, Bertoldo A, Foresta C. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function. *Hum Reprod*. 2015;30(5):1006—1013. doi: 10.1093/humrep/dev057

17. Hassanin AM, Ahmed HH, Kaddah AN. A global view of the pathophysiology of varicocele. *Andrology*. 2018;6(5):654—661. doi: 10.1111/andr.12511

18. Kulchenko N.G. Prediction of success in assisted reproductive technology with the help of morphology of the testis. *Research'n Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.)*. 2018;5(4):18—25. doi: 10.17709/2409-2231-2018-5-4-2 (In Russian).

19. Kulchenko NG. Antioxidant therapy for patospermia. *Bulletin of the Medical Institute 'Reaviz*. 2018;1(31):41—48.

20. Kulchenko NG. Qualitative criteria for morphological evaluation of spermatogenesis in azoospermia. *Difficult patient*. 2018;16(7):48—50. (In Russian).

21. Masson P, Brannigan RE. The Varicocele. *Urol Clin North Am*. 2014;41(1):129—44. doi: 10.1016/j.ucl.2013.08.001

22. Barazani Y, Nagler HM. Other work has highlighted the limitations of using histopathology to predict success after varicocelectomy. *Fertil Steril*. 2011;95:487. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.11.058

23. Taktarov VG, Strachuk AG, Gushchina YuSh, Korovyakova EA, Pashin SS, Freire Da Sivla T. Treatment of Male Infertility in Varicocele. Clinical Observation. *Difficult patient*. 2018;16(11):64—66. (In Russian).

24. Roque M, Esteves SC. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol*. 2018;50(4):583—603. doi:10.1007/s11255-018-1839-4







25. Shamsa A, Nademi M, Aqae M, Fard AN, Molaei M. Complications and the effect of varicocelectomy on semen analysis, fertility, early ejaculation and spontaneous abortion. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2010;21(6):1100—1105.

Библиографический список

1. Reyes J.G., Farias J.G., Henríquez-Olavarrieta S. The hypoxic testicle: physiology and pathophysiology // *Oxid Med Cell Longev*. 2012. doi: 10.1155/2012/929285. 929285
2. Myandina G.I., Kulchenko N.G., Alhejoj H. The frequency of polymorphism —262 C>T CAT gene of infertile men in the moscow region // *Medical News of North Caucasus*. 2019. Vol. 14. N 3. P. 478—481. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14116>
3. Esteves S.C., Miyaoka R., Roque M., Agarwal A. Outcome of varicocele repair in men with nonobstructive azoospermia: systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*. 2016. N 18. P. 246—253.
4. Кульченко Н.Г. Воспаление и мужское бесплодие. Что общего? Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2017. Т. 21. N 4. С. 402—407. doi: 10.22363/2313-0245-2017-21-4-402-407
5. Протасов А.В., Кульченко Н.Г., Виноградов И.В. Ассоциация ненапряжной паховой герниопластики и патоспермии у мужчин репродуктивного возраста. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2020. N 10. С. 44—48. <https://doi.org/10.17116/hirurgia202010144>

6. Пименов Е.П., Андрюхин М.И. Роль фрагментации ДНК в патогенезе мужского бесплодия. *Вестник Биомедицина и социология*. 2019. Т. 4. N1. С. 38—41.
7. Shiraishi, K., Oka, S., Matsuyama H. Predictive factors for sperm recovery after varicocelectomy in men with nonobstructive azoospermia. *J Urol*. 2017. N 197. 485—490.
8. Костин А.А., Кульченко Н.Г., Алиев А.Р. Применение динамической орхосцинтиграфии в диагностике и лечении идиопатического мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия*. 2012. Т. 13. N4. С. 29—32.
9. Кульченко Н.Г., Москвичев Д.В. Опыт определения тестискулярного резерва у пациентов с необструктивной азооспермией. *Трудный пациент*. 2017. Т. 15. N6—7: 53—54.
10. Кульченко Н.Г. Паховая герниопластика и мужское здоровье. *Исследования и практика в медицине*. 2019. Т. 6. N3. С.65—73. DOI: 10.17709/2409-2231-2019-6-3-6
11. Жуков О.Б., Зубарев А.Р., Кульченко Н.Г. Патологический венозный дренаж кавернозных тел полового члена у больных с варикоцеле. *Медицинская визуализация*. 2006. № 1. С. 82—89.
12. Alsaikhan B., Alrabeeah K., Delouya G., Zini A. Epidemiology of varicocele. *Asian J Androl*. 2016. Т. 18. N2. С.179—181. doi:10.4103/1008-682X.172640
13. Levinger U., Gornish M., Gat Y., Bachar G.N. Is varicocele prevalence increasing with age? *Andrologia*. 2007. N39. P. 77—80. doi: 10.1111/j.1439-0272.2007.00766.x
14. Owen R.C., McCormick B.J., Figler B.D., Coward R.M. A review of varicocele repair for pain. *Transl Androl Urol*. 2017. Vol. 6. N1. P. 20—29. doi:10.21037/tau.2017.03.36
15. Rotker K., Sigman M. Recurrent varicocele. *Asian J Androl*. 2016. Vol. 18. N2. P. 229—233. doi:10.4103/1008-682X.171578
16. Garolla A., Torino M., Miola P., Caretta N., Pizzol D., Menegazzo M., Bertoldo A., Foresta C. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function. *Hum Reprod*. 2015. Vol. 30. N5. P. 1006—1013. doi:10.1093/humrep/dev057
17. Hassanin A.M., Ahmed H.H., Kaddah A.N. A global view of the pathophysiology of varicocele. *Andrology*. 2018. Vol. 6. N5. P. 654—661. doi:10.1111/andr.12511
18. Кульченко Н.Г. Прогнозирование успеха вспомогательных репродуктивных технологий с помощью оценки морфологии яичка. *Исследования и практика в медицине*. 2018. Т. 5. N4. С. 18—25. doi: 10.17709/2409-2231-2018-5-4-2
19. Кульченко Н.Г. Основные виды антиоксидантной терапии патоспермии. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье*. 2018. № 1 (31). С. 41—48.
20. Кульченко Н.Г. Качественные критерии морфологической оценки сперматогенеза при азооспермии. *Трудный пациент*. 2018. Т. 16. № 7. С. 48—50.
21. Masson P., Brannigan R.E. The Varicocele. *Urol Clin North Am*. 2014. Vol. 41. N1. С. 129—44. doi: 10.1016/j.ucl.2013.08.001.
22. Barazani Y., Nagler H.M. Other work has highlighted the limitations of using histopathology to predict success after varicocelectomy. *Fertil Steril* 2011. N95. P. 487. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.11.058
23. Тактаров В.Г., Страчук А.Г., Гуцуна Ю.Ш., Коровякова Э.А., Пашин С.С., Фрейре Да Силва Т. Лечение мужского бесплодия при варикоцеле. *Клиническое наблюдение. Трудный пациент*. 2018. Т. 16. N11. С. 64—66.
24. Roque M., Esteves S.C. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol*. 2018. Vol. 50. N4. С. 583—603. doi:10.1007/s11255-018-1839-4
25. Shamsa A., Nademi M., Aqae M., Fard A.N., Molaei M. Complications and the effect of varicocelectomy on semen analysis, fertility, early ejaculation and spontaneous abortion. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2010. Vol. 21. N6. 1100—1105.

Восстановление репродуктивного потенциала у мужчин с варикоцеле

Г.Е. Ройтберг^{1,2} , Ж.В. Дорош¹ , Т.В. Тарасова³  ✉,
И.В. Саушев³ , Е.П. Тюрина³ , И.В. Шулигина³ 

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
г. Москва, Российская Федерация

² Медицина ОАО, г. Москва, Российская Федерация,

³ Национальный исследовательский Мордовский государственный университет,
г. Саранск, Российская Федерация
✉ 9023060@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* У большинства мужчин варикозное расширение вен яичка — варикоцеле — не вызывает дискомфорта и протекает бессимптомно, боль в мошонке беспокоит только 10 % пациентов. В 2/3 случаях варикоцеле является клинической находкой. При этом варикоцеле является наиболее частой причиной мужского бесплодия. *Цель.*

Восстановление репродуктивного потенциала пациентов с варикоцеле. *Материалы и методы.* У 219 пациентов с варикоцеле мы проводили исследование эякулята (ВОЗ, 2010) через 3, 6, 12 месяцев после хирургического лечения варикоцеле. Мы считали репродуктивную функцию восстановленной по нормозооспермии в спермограмме и наступлению беременности у супруги за период наблюдения — 12 месяцев. *Результаты и обсуждение.* Из 219 пациентов с варикоцеле нарушения в эякуляте были у 2/3 мужчин. Возраст всех пациентов, у которых были выявлены нарушения в эякуляте, был 31+11 лет. У 66 (39,5 %) пациентов с варикоцеле были обнаружены сперматозоиды со сниженной подвижностью. После хирургического лечения (варикоцелэктомия по Мармару) нормозооспермия была почти у каждого второго мужчины. При этом больше беременностей в супружеской паре было через 6 месяцев после варикоцелэктомии — 24 (32,8 %). Хирургический метод лечения варикоцеле позволяет восстановить репродуктивную функцию мужчины в 30 %. В нашем исследовании нормозооспермия после варикоцелэктомии была зафиксирована почти у каждого второго пациента. Ультразвуковые изменения в яичке при варикоцеле являются неблагоприятным прогнозом восстановления фертильности мужчины. *Выводы.* Хирургическое лечение варикоцеле позволяет восстановить репродуктивный потенциал почти у каждого второго мужчины репродуктивного возраста. Причем большее количество беременностей у супруги были через полгода после операции.

Ключевые слова: варикоцеле, мужское бесплодие, патоспермия, репродуктивный потенциал, УЗИ мошонки

Вклад авторов. Концепция, дизайн и определение интеллектуального содержания: Г.Е. Ройтберг, Т.В. Тарасова. Литературный поиск и сбор данных: Ж.В. Дорош, И.В. Саушев. Подготовка и редактирование рукописи: Тюрина Е.П., Шулигина И.В.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила 31.07.2021. Принята 25.10.2021.

Для цитирования: Roitberg G.E., Dorosh J.V., Tarasova T.V., Saushev I.V., Tyurina E.P., Shuligina I.V. Reproductive potential repair in men with varicocele // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 96–102. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-96-102

Corresponding author: Tarasova Tatyana Victorovna — Doctor of biological sciences, professor of the department of Normal Physiology and Pathophysiology Chair, Medical Institute Mordovia State University, 430000, Bolshevistskaya street, 68, Saransk, Russian Federation. E-mail: 9023060@mail.ru

Roitberg G.E. ORCID 0000-0003-0514-9114

Dorosh J.V. ORCID 0000-0001-6078-9654

Tarasova T.V. ORCID 0000-0001-9745-9739

Saushev I.V., ORCID 0000-0001-6077-193X

Tyurina E.P. ORCID 0000-0001-8178-964

Shuligina I.V., ORCID 0000-0003-0645-990

Ответственный за переписку: Татьяна Викторовна Тарасова — доктор биологических наук, профессор кафедры нормальной и патологической физиологии Медицинского института, Мордовского государственного университета, Российская Федерация, 430000, ул. Большевистская, 68, г. Саранск. E-mail: 9023060@mail.ru

Ройтберг Г.Е. SPIN-код 1032-9122; ORCID 0000-0003-0514-9114

Дорош Ж.В. SPIN-код 3592-4274; ORCID 0000-0001-6078-9654

Тарасова Т.В. SPIN-код 1726-3994; ORCID 0000-0001-9745-9739

Саушев И.В. SPIN-код 1200-4091; ORCID 0000-0001-6077-193X

Тюрина Е.П. SPIN-код 3016-0961; ORCID 0000-0001-8178-9645

Шулигина И.В. SPIN-код 4381-5209; ORCID 0000-0003-0645-9907



ПСИХИАТРИЯ PSYCHIATRY

DOI 10.22363/2313-0245-2022-26-1-103-108

ORIGINAL ARTICLE
ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Depression prevalence in cancer patients: a cross sectional study

Rohan Jahagirdar

Zydus Medical College and Hospital, Dahod, Gujarat, India

✉ drjahagirdarrohan@gmail.com

Abstract. Relevance. Depression has substantial effects on cancer patients' quality of life. Estimates of its prevalence vary widely. *Aim of the study* was to evaluate the prevalence and severity of depression in cancer patients. *Materials and Methods.* All cancer patients admitted at tertiary care Dr. Vithalrao Vikhe Patil Foundation's Medical College Hospital (Dahod, Gujarat, India) between December 2015 to December 2016 were included in this study. All subjects gave informed consent to participate in the investigation and personal data processing. Depression in cancer patients was screened using the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) questionnaire and administered the Hamilton Depression Rating Scale for severity of depression. *Results and Discussion.* Out of 128 cancer patients screened, 44 (34 %) patients were identified to have depression using MINI. Among them mild to moderate depression was seen in 60.4 % depressed patients, and severe to very severe depression was present in 39.4 % patients. Further analysis showed that the marital status, monthly income and literacy had an impact on the level of depression. *Conclusion.* The psychological impact of cancer is considerable. The failure to detect and treat elevated levels of psychological distress might jeopardize the result of cancer therapies, decrease patient's quality of life and increase health care cost. The lack of identifiable risk factors makes the task of diagnosing psychiatric conditions in cancer patients a difficult one. Early recognition of psychiatric distress for the identification of depression is an integral part in the comprehensive management of cancer patients. **Keywords:** cancer, depression, hamilton depression rating scale, sociodemographic profile

Author contributions. Jahagirdar R—concept, collection and processing of material, analysis of the data obtained, interpretation of the data and approval of final manuscript.

© Jahagirdar R., 2022



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Received 05.12.2021. Accepted 24.01.2022.

Conflict of interest statement. The author declares no conflict of interest.

For citation: Jahagirdar R. Depression prevalence in cancer patients: a cross sectional study. *RUDN Journal of Medicine*. 2022;26(1):103–108. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-103-108

Introduction

Major depression is a leading cause of disability worldwide and when comorbid with a chronic disease it is associated with reduced quality of life and increased healthcare costs [1]. Depression is a major cause of concern in cancer patients. Clinical depression is a common and more often unrecognized source of suffering in cancer patients [2]. It is an important factor leading to drop out before the start of cancer-directed treatment. Depression also contributes to suicidal tendencies in cancer patients. The prevalence of depression varies depending upon the type and sites of cancer with reported rates of 1 % in acute leukemia to 40 % in other cancers [3, 4]. There are two core symptoms of depression namely depressed mood and a marked loss of interest or pleasure in most or all activities [5]. This study aimed to estimate the prevalence of depression and its relationship with sociodemographic factors among cancer patients.

Materials and methods

A samplings were collected from all cancer patients who were admitted at Dr. Vithalrao Vikhe Patil Foundation’s Medical College Hospital from December 2015 to December 2016. All subjects gave informed consent to participate in the investigation and personal data processing. Baseline interviews were conducted in person by a trained physician. This study has been approved by the Institutional Ethics Committee. This study included all stages and types of cancer patients, who were admitted for investigation or treatment of cancer such as surgery, chemotherapy, radiotherapy on the inpatient ward of the hospital. The inclusion criteria were aged 18–60 years old, can give informed

consent, awareness of the diagnosis of cancer, and could communicate with the physician. The exclusion criteria were severe confusion or having assessable brain pathology. All subjects gave informed consent. Baseline interviews were conducted by a trained person. Demographic data: age, sex, educational level, marital status, support systems, employment status, income, and debt were recorded. Duration of cancer, primary organs site, stage of cancer, and oncology treatments were viewed from medical records. The mini international neuropsychiatric interview (MINI) questionnaire version 5.0.0 was used for screening and processing the symptoms of depression [6]. Hamilton’s depression rating scale (HDRS) was used for grading of depression (0–7: No depression; 8–13: Mild; 14–18: Moderate; 19–22: Severe; ≥24: Very severe) [7].

Results and discussion

In this cross-sectional study, 128 cancer patients were screened for depression. Demographic and other details like type of cancer, stage of cancer, and number of treatment are displayed in table 1.

Table 1

Characteristics of patients		
Characteristics		All (N= 128)
Age (years)	≤ 50	68(53.1 %)
	>50	60 (46.8 %)
Sex	Male	70 (54.6 %)
	Female	58 (45.3 %)

Table 1 continuation

Characteristics		All (N= 128)
Education level	Uneducated	32 (25 %)
	10th standard	43(33.5 %)
	Degree	53 (41.4 %)
Residential status	Rural	47 (36.7 %)
	Urban	81(63.2 %)
Marital status	Married	88 (68.7 %)
	Single	15 (11.7 %)
	Divorced	15 (11.7 %)
	Widow	10 (7.8 %)
Social Support system	No support	39 (30.4 %)
	With social support	89 (69.5 %)
Employment status	Unemployment	31 (24.2 %)
	Labourer	33 (25.7 %)
	Agriculturist	25 (19.5 %)
	Business	21 (16.4 %)
	Private job	12 (9.3 %)
	Government job	6 (4.6 %)
Level of income (INR)	≤ 10,000	69(53.9 %)
	>10,000	59(46 %)
Primary organs of cancer	Head and neck	27 (21 %)
	Breast	15 (11.7 %)
	Lungs	9 (7 %)
	GIT	17 (13.2 %)
	Genitourinary	12 (9.3 %)
	Gynaecological	35 (27.3 %)
	Musculoskeletal	3 (2.3 %)
	Hematological	10 (7.8 %)
Time since cancer diagnosis (years)	Median (IQR)	1·0 (0·4–3·3)
Stages of cancer	1	21 (16.4 %)
	2	23 (17.9 %)
	3	39 (30.4 %)
	4	34 (26.5 %)
	Leukemia	11 (8.5 %)
Number of treatment	One method or less	56 (43.7 %)
	Two method or more	72 (56.2 %)

53.1 % of patients were below 50 years of age and 46.8 % of patients were above 50 years of age. 54.6 % of patients were males and females were 45.3 % patients. 44 patients were identified with depression using the

MINI. Out of 44 patients, 28 (63.6 %) patients were males and 16 (36.3 %) patients were females.

Based on Hamilton’s depression rating scale (table 2), 41.8 % of patients were suffering from mild depression, 18.6 % of patients with moderate depression, 16.2 % were suffering from severe depression and 23.2 % of patients were having very severe depression.

Table 2

Hamilton’s depression rating scale of depression	
Scaling of depression	Number (percentage)
Mild depression	18 (41.8 %)
Moderate depression	8 (18.6 %)
Severe depression	7 (16.2 %)
Very severe depression	10 (23.2 %)

Around 15 % of depressed patients were using antidepressants. The two most commonly used antidepressant medications were sertraline (10 %) and citalopram (5 %).

Further analysis showed that the married group showed mild depression in in 11 (50 %) patients, moderate depression was seen in 5 (22.7 %) patients, severe depression in 3 (13.6 %) patients, and very severe depression was seen in 3 (13.6 %) patients. In the unmarried and divorced females (4 patients), 3 had very severe depression and 1 had moderate depression. In the widowed females, 1 (25 %) patients had mild depression and 3 (75 %) patients had moderate depression. In patients with monthly income more than INR 10000 group, mild depression was seen in 9 (45 %) patients, moderate depression in 6 (30 %) patients, severe depression in 4 (20 %), and very severe depression in 1 (5 %) patients. In patients with monthly income less than INR 10000 group, mild depression was seen in 10 (41 %) of patients, moderate depression in 7 (29 %) patients, severe depression in 4 (16 %), and very severe depression in 3 (12 %) patients.

In the literate group (10th standard and degree) patients, mild depression was seen in 46 % (13) of patients, 28 % (8) patients were having moderate depression, 14 % (4) patients were having severe, and very severe depression was seen in 10.7 % (3) patients.

In the illiterate group of patients, 43.7 % (7) had mild depression, 18.7 % (3) patients had moderate depression, severe depression was seen in 12.5 % (2) and very severe depression was seen in 25 % (4).

In unemployed patients, 3 patients (10 %) were suffering from mild depression, moderate depression were seen in 2 patients (20 %), severe depression seen in 2 patients (20 %) and 3 patients (30 %) with very severe depression.

Depressive disorder is the most common problem in cancer patients. Amongst the different psychiatric disorders in cancer patients the prevalence of depression is high [5]. From this study, the prevalence of major depressive disorder in cancer patients was 24 %. Recent study showed that the prevalence of depressive symptomatology among cancer patients was 23.4 %. Increased likelihood of depressive symptoms was detected among patients in the inpatient setting (37.1 %) [8]. The mean prevalence of depression based on previous study was around 13 % and using all assessment methods it varies from approximately 4 to 49 % [9]. However, another recent study showed the prevalence of depression among cancer patients on chemotherapy was 70.86 % [10]. This wide variation is due to several factors including the treatment setting, type of cancer included and method used to screen for symptoms (e.g. interview by trained psychiatrist or self-report instrument) [11]. The rates were dependant on how severe diagnostic system was applied and in what way the physical symptoms were considered.

In this study, all the patients had received and completed the cancer treatment in spite of their depression. This study explains the significance of understanding the psychological distress by treating oncologists and referral of these patients to clinical psychiatrist for psychological and pharmacological treatment. Sociodemographic differences in a same and established society can significantly contribute to different out comes in the cancer survival, [9] and in a developing country like India with substantial inequalities among different groups may needs extra care in the management of cancer patients suffering from depression. In analysis, depression of varying degrees was seen both in patients with

subjective financial limitations and those with financial sufficiency.

There were several reports on the impact of marital relationships on the occurrence of emotional symptoms in patients with cancer. Earlier studies demonstrated that patients with cancer were more likely to report depression or depressive symptoms if they were unmarried or widowed [13, 14]. Even present study also exhibited that 8 cancer patients who were unmarried, divorced and widowed females had varying degree of depression ranging from mild to severe depression. This attributes to lack of inter-relationship among family members, absence of family support, and poor social support leading to a significant likelihood of patients with cancer developing emotional symptoms.

Several studies captured higher rates of depressive and anxiety symptoms were found among patients with cancer of a lower educational level [15–17]. However, a single study reported higher rates of depression in patients with cancer of middle or high socioeconomic status or a higher level of education [18]. A study in 2016 demonstrated that agricultural workers suffering from cancer to experience higher levels of depressive symptoms compared with office workers with cancer [19]. Our study too concurred with previous reports that irrespective of socioeconomic or educational status, there is a wide range of mild, moderate and severe depression present in cancer patients with either low or middle or high socioeconomic status or a lower or higher educational status. The failure to detect and treat elevated levels of psychological distress might jeopardize the result of cancer therapies, decrease patient's quality of life and increase health care cost [20]. In this study because of early recognition of psychiatric distress there was outstanding compliance to cancer directed treatment.

Our study has the following limitations. Number of patients included in our study is not enough, and the effectiveness of the testing may not be sufficient; in future studies, we need a larger sample size without selection bias will reveal the incidence of depression in cancer patients and no significant relationship of degrees of depression with sociodemographic parameters could be established in this study. Early recognition of

psychiatric distress for the identification of depression is an integral part in the wide-ranging management of cancer patients.

Conclusion

The psychological impact of cancer is significant. The lack of recognizable risk factors makes the task of diagnosing psychiatric conditions in cancer patients a problematic one. Early detection of psychiatric illness will help for identification of depression which could be the complete management of cancer patients.

References/ Библиографический список

- Vos T, Flaxman AD, Naghavi M. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380:2163–2196.
- Massie MJ, Holland JC. Overview of normal reactions and prevalence of psychiatric disorders. In: Holland JC, Rowland JH, editors. *Handbook of Psycho-Oncology: Psychological Care of the Patient with Cancer*. New York: Oxford University Press; 1989. p. 273–82.
- Colón EA, Callies AL, Popkin MK, McGlave PB. Depressed mood and other variables related to bone marrow transplantation survival in acute leukemia. *Psychosomatics*. 1991;32:420–5.
- Krebber AM, Buffart LM, Kleijn G, Riepma IC, de Bree R, Leemans CR, Becker A, Brug J, van Straten A, Cuijpers P, Verdonck-de Leeuw IM. Prevalence of depression in cancer patients: a meta-analysis of diagnostic interviews and self-report instruments. *Psychooncology*. 2014;23(2):121–30.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1991. 362 p.
- Pettersson A, Modin S, Wahlström R. The Mini-International Neuropsychiatric Interview is useful and well accepted as part of the clinical assessment for depression and anxiety in primary care: a mixed-methods study. *BMC Fam Pract*. 2018;19:19.
- Worboys, Michael. The Hamilton Rating Scale for Depression: The making of a «gold standard» and the unmaking of a chronic illness, 1960–1980. *Chronic illness*. 2013;9(3):202–219.
- Naser AY, Hameed AN, Mustafa N. Depression and Anxiety in Patients With Cancer: A Cross-Sectional Study. *Front Psychol*. 2021;12:585534.
- Walker J, Hansen CH, Martin P, Sawhney A, Thekkumpurath P, Beale C, Symeonides S, Wall L, Murray G, Sharpe M. Prevalence of depression in adults with cancer: a systematic review. *Ann Oncol*. 2013;24(4):895–900.
- Baraki AG, Tessema GM, Demeke EA. High burden of depression among cancer patients on chemotherapy in University of Gondar comprehensive hospital and Felege Hiwot referral hospital, Northwest Ethiopia. *PLoS ONE*. 2015(8): e0237837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237837>
- Niedzwiedz CL, Knifton L, Robb KA. Depression and anxiety among people living with and beyond cancer: a growing clinical and research priority. *BMC Cancer*. 2019;19:943
- Mishra SK, Mohapatra PK, Bhattacharya K, Gupta T, Agarwal JP. Prevalence of psychiatric disorder in asymptomatic or minimally symptomatic cancer patients on treatment. *J Cancer Res Ther*. 2006;2:136–139.
- Que JC, Sy Ortin TT, Anderson KO. Depressive symptoms among cancer patients in a Philippine tertiary hospital: Prevalence, factors, and influence on health-related quality of life. *J Palliat Med*. 2013;16:1280–1284.
- Popoola AO, Adewuya AO. Prevalence and correlates of depressive disorders in outpatients with breast cancer in Lagos, Nigeria. *Psychooncology*. 2012;21:675–679.
- Yen NTK, Weiss B, Trung LT. Caseness rates and risk factors for depression among Vietnamese cancer patients. *Asian J Psychiatr*. 2016;23:95–98.
- Pandey M, Devi N, Thomas BC. Distress overlaps with anxiety and depression in patients with head and neck cancer. *Psychooncology*. 2007;16:582–586.
- Sharma A, Zhang J. Depression and its predictors among breast cancer patients in Nepal. *Asean J psychiatry*. 2015;16:106–115.
- El-Hadidy MA, Elnahas W, Hegazy MAF. Psychiatric morbidity among Egyptian breast cancer patients and their partners and its impact on surgical decision-making. *Breast Cancer*. 2012;4:25–32.
- Yen NTK, Weiss B, Trung LT. Caseness rates and risk factors for depression among Vietnamese cancer patients. *Asian J Psychiatry*. 2016;23:95–98.
- Walker ZJ, Xue S, Jones MP, Arun V, Ravindran. Depression, Anxiety, and Other Mental Disorders in Patients With Cancer in Low- and Lower-Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JCO Global Oncology*. 2021;7:1233–1250.

Распространенность депрессии среди пациентов с онкологическим заболеванием: перекрестное исследование

Р. Джахагирдар

Медицинский колледж и больница Зийдус, г. Даход, Гуджарат, Индия
✉ drjahagirdarrohan@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Депрессия оказывает существенное влияние на качество жизни больных раком. Оценки распространенности депрессии сильно имеют значительные различия. Целью исследования было оценить распространенность и тяжесть депрессии среди пациентов с онкологическим заболеванием. *Материалы и методы.* В исследование были включены все пациенты с онкологическим заболеванием, поступившие в третичную больницу медицинского колледжа фонда доктора Витхалрао Викхе Патила (Даход, Гуджарат, Индия) в период с декабря 2015 по декабрь 2016 года. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Депрессию у онкологических больных проверяли с помощью анкеты Сокращенное международное нейропсихиатрическое интервью (СМНИ) и применяли шкалу оценки депрессии Гамильтона для оценки тяжести депрессии. Результаты и обсуждение. Из 128 обследованных онкологических больных у 44 (34 %) пациентов с помощью СМНИ была выявлена депрессия. Среди них депрессия от легкой до умеренной степени наблюдалась у 60,4 % пациентов с депрессией, а тяжелая или очень тяжелая депрессия присутствовала у 39,4 % пациентов. Дальнейший анализ показал, что семейное положение, ежемесячный доход и грамотность оказывали влияние на уровень депрессии. *Вывод.* Психологические последствия рака значительны. Неспособность выявить и вылечить повышенный уровень психологического дистресса может поставить под угрозу результат лечения рака, снизить качество жизни пациента и увеличить стоимость медицинской помощи. Отсутствие идентифицируемых факторов риска делает задачу диагностики психических состояний у онкологических больных сложной задачей. Раннее распознавание психического дистресса для выявления депрессии является неотъемлемой частью комплексного ведения онкологических больных.

Ключевые слова: рак, депрессия, рейтинговая шкала депрессии Гамильтона, социально-демографический профиль

Вклад авторов. Концепция, сбор и обработка материала, анализ полученных данных, интерпретация данных и написание рукописи.

Информация о конфликте интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.12.2021. Принята 24.01.2022.

Для цитирования: Jahagirdar R. Depression prevalence in cancer patients: a cross sectional study // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2022. Т. 26. № 1. С. 103–108. doi: 10.22363/2313-0245-2022-26-1-103-108

Corresponding author: Dr. Rohan Jahagirdar — Associate Professor, Department of Psychiatry, Zydus Medical College and Hospital, 389151, Dahod, Gujarat, India. E-mail: drjahagirdarrohan@gmail.com
ORCID 0000-0001-8287-9562

Ответственный за переписку: Рохан Джахагирдар — доцент кафедры психиатрии Медицинского колледжа и больницы Зийдус, Индия, 389151, г. Даход, Гуджарат. E-mail: drjahagirdarrohan@gmail.com
ORCID 0000-0001-8287-9562