

РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ



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

2023 Том 27 № 3

Тема номера: ФИЗИОЛОГИЯ

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3

<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
имени Патриса Лумумбы»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

КОБАЛАВА Жанна Давидовна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая кафедрой внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени В.С. Моисеева Медицинского института, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

Ответственный секретарь

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

Члены редакционной коллегии

АБРАМОВ Алексей Юрьевич д.м.н., профессор, директор Медицинского института, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

АЗОВА Мадина Мухамедовна, д.б.н., профессор, кафедра биологии и общей генетики, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

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

АНИСИМОВ Владимир Николаевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела канцерогенеза и онкогеронтологии, лаборатории канцерогенеза и старения, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, г. Санкт-Петербург, Россия

БАХНА Сами, профессор, Университет Луизианны, Шреверпорт, США

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

БЫКОВ Илья Михайлович, д.м.н., профессор, кафедра фундаментальной и клинической биохимии, Кубанский государственный медицинский университет, г. 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, г. Санкт-Петербург, Россия

ВУКСАНОВИЧ Александр, д.м.н., профессор, профессор Медицинского факультета Университета г. Белград, Белград, Сербия

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

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

ДРАПКИНА Оксана Михайловна, д.м.н., профессор, академик РАН, директор Национального медицинского исследовательского центра терапии и профилактической медицины, г. Москва, Россия

ЕЛЬЧАНИНОВ Андрей Владимирович, д.м.н., профессор, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, г. Москва, Россия

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

КАНОНИКА Вальтер, д.м.н., профессор, Директор Центра персонализированной медицины в исследовательской больнице, г. Роззано, г. Милан, Италия

КОСТИН Андрей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра урологии с курсами онкологии, радиологии и андрологии, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

КУСТОВИЧ Аднан, профессор, Имперский колледж Лондона, Лондон, Великобритания

МЕРКЭЛИ Бела, профессор, директор Кардиоцентра Университета Земмельвейса, г. Будапешт, Венгрия

НАПАРСТЕК Яаков, профессор, Университет Хадасса, Иерусалим, Израиль

НОЙХАУС Йохен, д.б.н., профессор, Лейпцигский университет, заведующий научно-исследовательской лабораторией кафедры урологии, г. Лейпциг, Германия

ПОЛЕВИЩИКОВ Александр Витальевич, д.б.н., профессор, заведующий отделом иммунологии Института экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, Россия

РЕЙМЮЛЛЕР Райнер, д.м.н., профессор, Медицинский университет, кафедра радиологии, г. Грац, Австрия

РОДИН Сергей Александрович, д.б.н., профессор, старший научный сотрудник отделения хирургических наук Университета г. Упсала, г. Упсала, Швеция

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

ТИМАНН Маркус, д.м.н., профессор, Институт гематопатологии, г. Гамбург, Германия

ФАТХУДИНОВ Тимур Хайсамудинович, д.м.н., профессор, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

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

ХЕ Джи, д.м.н., профессор, Онкологический институт и больница, Китайская академия медицинских наук и Медицинский колледж Пекинского союза, Пекин, Китай

RUDN University



RUDN JOURNAL OF MEDICINE

2023 Volume 27 No. 3

Theme of the issue: PHYSIOLOGY

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3

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

Founded in 1997

Founder: Peoples' Friendship University of Russia Named After Patrice Lumumba

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Zhanna D. KOBALAVA, MD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Internal Medicine with a course of cardiology and functional diagnostics named after V.S. Moiseev Medical Institute, 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

Aleksey Y. ABRAMOV, MD, Professor, Director of the Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

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

Vladimir N. ANISIMOV, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Carcinogenesis and Oncogerontology and the Laboratory of Carcinogenesis and Aging of the Research Institute of Oncology n.a. N.N. Petrov, St. Petersburg, Russia

Madina M. AZOVA, D. Sc., Professor, Department of Biology and General Genetics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

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

Mikhail L. BLAGONRAVOV, MD, Professor, Frolov Department of General Pathology and Pathological Physiology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

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

Walter CANONICA, MD, Professor, Director of the Center for Personalized Medicine at the Research Hospital Humanitas IRCCS, Rozzano, Milan, Italy

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

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

Oksana M. DRAPKINA, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, 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

Andrey V. ELCHANINOV, MD, Professor, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Timur Kh. FATKHUDINOV, MD, Professor, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal state budgetary scientific institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery», Moscow, Russia

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

Jie HE, Professor, Cancer Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, China

Jochen NEUHAUS, PhD, Professor, University of Leipzig, Head of Research Laboratory, Department of Urology, Leipzig, Germany

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

Andrei A. KOSTIN, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Urology with courses oncology, radiology and andrology, the Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

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

Yakov NAPARSTEK, MD, Professor, Director of the Hadassah Center for Clinical Immunology and Rheumatology at the Hadassah University Medical Center, Jerusalem, Israel

Alexander V. POLEVSHCHIKOV, D.Sc, Professor, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

Rainer RIENMUELLER, MD, Professor Medical University, Department of Radiology, Graz, Austria

Sergey A. RODIN, PhD, Professor, Senior Researcher, Department of Surgical Sciences, Uppsala. University, Uppsala, Sweden

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

Markus TIEMANN, MD, Professor, Institute of Hematopathology, Hamburg, German

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

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

Alexander VUKSANOVICH, MD, Professor, Professor of the Medical Faculty of the University, Belgrade, Serbia

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, Scopus, Научной электронной библиотеки КиберЛенинка, Directory of Open Access Journals (DOAJ).

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 по специальностям: с 01.02.22 — 1.5.5. Физиология человека и животных (биологические науки), 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки), 3.1.18. Внутренние болезни (медицинские науки), 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки); с 22.11.22 — 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки), 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки), 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки), 3.1.20. Кардиология (медицинские науки), 3.1.31. Геронтология и гериатрия (медицинские науки), 3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские науки), 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические науки)».

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. 10, Москва, Россия, 117198

e-mail: medj@rudn.ru

Подписано в печать 25.09.2023. Выход в свет 26.09.2023. Формат 70×100/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Tinos, Roboto».

Усл. печ. л. 11,02. Тираж 500 экз. Заказ № 1121. Цена свободная.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН)

117198, Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Отпечатано в типографии ИПК РУДН

115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3,

тел. +7 (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, Scopus, Electronic Journals Library Cyberleninka, Directory of Open Access Journals (DOAJ).

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 Publishing House
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., 10, Moscow, Russia, 117198
e-mail: medj@rudn.ru

Printing run 500 copies. Open price.

Peoples' Friendship University of Russia Named After Patrice Lumumba (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

RajPrabha, Sharma A., Sorout J., Kacker S., Jangid N.

Neurophysiological cognitive assessment and its association with neutrophil to lymphocyte ratio (Нейрофизиологическая оценка когнитивных функций и связь с соотношением нейтрофилов и лимфоцитов)...285

Говорухина А.А., Мальцев В.П., Мальков О.А., Наговицина У.В.

Особенности церебрального кровообращения студентов-первокурсников северного региона.....293

Скорлупкин Д.А., Голубева Е.К., Ярченкова Л.Л.

Особенности кардиоритма при постуральных изменениях в зависимости от реактивности вегетативных центров.....305

Soni R, Kacker S, Saboo N.

Techniques for assessing hearing loss in infants (Способы оценки потери слуха у младенцев).....318

ИММУНОЛОГИЯ

Guryanova S.V., Ferberg A.S., Sigmatulin I.A.

Inflammatory response modulation by epinephrine and norepinephrine (Модуляция воспалительного ответа адреналином, норадреналином)329

Матвеева Л.В., Фоминова Г.В., Громова Е.В., Алямкина Е.А., Галыня А.С.

Иммунологическое прогнозирование эффективности вспомогательных репродуктивных технологий342

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ

Исмагилов Р.Р., Билалов Ф.С., Шарафутдинов М.А.

Оценка удовлетворённости условиями оказания медицинской помощи пациентами с новой коронавирусной инфекцией354

СТОМАТОЛОГИЯ

Salekh K.M., Dymnikov A.B., Mukhametshin R.F., Ivashkevich S.G.

Modern osteoplastic materials (Современные костнопластические материалы)368

МИКРОБИОЛОГИЯ

Marouf R., Ermolaev A.A., Podoprigora I.V., Senyagin A.N., Mbarga M.J.A.

Antibacterial activity of Clove *Syzygium aromaticum* L. and synergism with antibiotics against multidrug-resistant uropathogenic *E. coli*. (Антибактериальная активность экстракта гвоздики *Syzygium aromaticum* L. и синергизм его действия с антибиотиками по отношению к уропатогенным кишечным палочкам с множественной лекарственной устойчивостью).....379

Mbarga M.J.A., Marouf R., Podoprigora I.V., Anyutoulou K.L.D., Chapurin Y.V., Sharova I.N.

Long exposure impact of antibiotics subinhibitory doses and silver nanoparticles on uropathogenic bacteria (Влияние длительного воздействия субингибирующих доз антибиотиков и наночастиц серебра на уропатогенные бактерии)391

CONTENTS

THEME OF THE ISSUE: PHYSIOLOGY

RajPrabha, Sharma A., Sorout J., Kacker S., Jangid N.

Neurophysiological cognitive assessment and its association with neutrophil to lymphocyte ratio285

Govorukhina A.A., Maltsev V.P., Malkov O.A., Nagovitsina U.V.

Cerebral circulation features of first-year students of the northern region 293

Skorlupkin D.A., Golubeva E.K., Yarchenkova L.L.

Cardiorhythm in postural changes depending on the autonomic centers reactivity 305

Soni R., Kacker S., Saboo N.

Techniques for assessing hearing loss in infants..... 318

IMMUNOLOGY

Guryanova S.V., Ferberg A.S., Sigmatulin I.A.

Inflammatory response modulation by epinephrine and norepinephrine..... 329

Matveeva LV, Fominova GV, Gromova EV, Alyamkina EA, Galynya AS.

The effectiveness of assisted reproductive technologies immunological prediction..... 342

HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

Ismagilov R.R., Bilalov F.S., Sharafutdinov M.A.

Satisfaction assessment with the care conditions of patients with new coronavirus infection..... 354

DENTISTRY

Salekh K.M., Dymnikov A.B., Mukhametshin R.F., Ivashkevich S.G.

Modern osteoplastic materials 368

MICROBIOLOGY

Marouf R., Ermolaev A.A., Podoprighora I.V., Senyagin A.N., Mbarga M.J.A.

Antibacterial activity of Clove *Syzygium aromaticum* L. and synergism with antibiotics against multidrug-resistant uropathogenic *E. coli*..... 379

Mbarga M.J.A., Marouf R., Podoprighora I.V., Anyutoulou K.L.D., Chapurin Y.V., Sharova I.N.

Long exposure impact of antibiotics subinhibitory doses and silver nanoparticles on uropathogenic bacteria 391



ТЕМА НОМЕРА: ФИЗИОЛОГИЯ THEME OF THE ISSUE: PHYSIOLOGY

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-R_3
EDN: QTVZZO

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Neurophysiological cognitive assessment and its association with neutrophil to lymphocyte ratio

RajPrabha ✉, Anshul Sharma , Jitender Sorout , Sudhanshu Kacker , Naina Jangid 

Rajasthan University of Health Science College of medical sciences, Jaipur, Rajasthan, India
✉ Rajprabhajp7@gmail.com

Abstract. Relevance. Cognition is an important physiological and higher mental functions in human being. There are various studies showing that inflammatory condition could negatively affect fronto temporal cognitive abilities such as memory, attention and executive functions. A non-invasive test P300 a component of Auditory events related potentials and Mini mental state examination (MMSE), a questionnaire based test reflect cognitive function, and haematological parameter neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) is a convenient parameter of systemic inflammation. *Aim* of present study was to assess the cognitive function assessment by P-300, MMSE and academic performance and find an association with neutrophil to lymphocyte ratio in first year medical students. *Materials and Methods.* This was an observational study conducted on 79 first year medical students of age group 18–25 years in the department of physiology RUHS College of medical sciences Jaipur. For cognitive assessment non-invasive test P300, MMSE and academic performance was recorded. A haematological parameter NLR was calculated by dividing the absolute neutrophil count with the absolute lymphocyte count. To find an association statistical analysis was done by MEDCALC 16.4 version software. *Results and Discussion.* The association between P-300 amplitude and latency and MMSE with NLR was found non-significant. Marks have a significant positive correlation with NLR (0.015). *Conclusion.* In the present study neurocognitive function test P-300 and MMSE found non-significant association with inflammatory marker NLR although academic performance (marks) have a significant positive correlation with NLR.

Key words: cognition, event related potential, neurocognitive function, neutrophil / lymphocyte ratio, mini mental state examination

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contributions. RajPrabha — literature review, writing text, data collection and processing of materials, statistical data processing; Anshul Sharma — concept and design of research, writing text; Jitender Sorout — data collection and processing of

© RajPrabha, Sharma A., Sorout J., Kacker S., Jangid N., 2023



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

materials, writing text; Sudhanshu Kacker concept and design of research, writing text; Naina Jangid- writing text. All authors have made significant contributions to the development concepts, research and manuscript preparation, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval. Prior to starting the study institutional ethical committee clearance was taken. (letter no.RUHS-CMS/ETHICS Comm./2019/09 dated 12–3–19, No.EC/P-54.1/2018).

Acknowledgements. We want to acknowledge all the participants for making research successful.

Consent for publication. Written voluntary consent was obtained from the participants for the investigation and publication of relevant medical information according to WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013.

Received 22.04.2023. Accepted 23.05.2023.

For citation: RajPrabha, Sharma A, Sorout J, Kacker S, Jangid N. Neurophysiological cognitive assessment and its association with neutrophil to lymphocyte ratio. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):285—292. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-R_3

Introduction

Cognition is a broad concept which includes: perception, attention, working memory, reasoning, problem solving, language skills and decision making [1]. It represents important physiological and higher mental functions in human being. There are various evidence has linked inflammation (an immune response to injury, pathogens, irritants, oxidative stress) to cognitive decline and risk of dementia [2]. Normally, inflammation is a protective response that facilitates the healing process; however, prolonged inflammation can cause tissue damage.

Cognition test can be assessed by a non-invasive test P300 a component of Auditory events related potentials (AERP) which reflects attention and memory process and give characteristic features of information processing in terms of latency and amplitude in the central nervous system. Recent neurophysiological studies investigated individual variation in different cognitive processes including information processing, working memory, and intelligence by measuring event-related potentials (ERPs) [3, 4].

The MMSE is a brief cognitive screening questionnaire based instrument frequently used to evaluate cognitive function, has related brain structures that are responsible for this function.

It has been well documented that inflammatory processes may cause mental illness by brain degeneration. A haematological parameter neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) is a convenient parameter of systemic inflammation [5] that can be easily calculated from white blood cell essay, the ratio of absolute neutrophil count to the absolute lymphocyte count, very easy, inexpensive, reliable, objective and convenient method. Regulation of immuno-inflammatory control is one of the relevant processes involved in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. There are various studies showing that inflammatory condition could negatively affect fronto-temporal cognitive abilities such as memory, attention and executive functions [6]. It was shown that NLR have diagnostic and predictive value in diseases like Alzheimer's disease [7]. Dementia, Schizophrenia etc. and may guide the treatment of cognitive dysfunction. In our study we tried to find the association of cognitive status with NLR. There are several studies that have shown an association between the increase in NLR and psychopathologies. This has been observed for patients with schizoaffective disorder and schizophrenia [8], attention deficit hyperactivity disorder [9], obsessive compulsive disorder [10], hypomania in bipolar mood disorder [11], and major depressive disorders [12, 13]. Aim of present study was to assess the cognitive

function assessment by P-300, MMSE and academic performance and find an association with neutrophil to lymphocyte ratio in first year medical students.

Materials and methods

The study was an observational study conducted on first year students of RUHS-CMS in Department of Physiology, RUHS-CMS, JAIPUR after taking permission from the institutional ethics committee (letter no. RUHS-CMS/ETHICS Comm./2019/09 dated 12–3–19, No.EC/P-54.1/2018). The age group of students were 18–25 years. Written consent was taken before enrolling the students and participants information sheet was given to them. 100 students were enrolled but only 79 were continued in study. The duration of study was six months from March 2019 to September 2019. Subjects with hearing and visual defects, neurological, psychiatric, haematological disorders and genetic disorders and with chronic diseases like diabetes, hypertension, gastrointestinal diseases (GI ulcers, haemorrhoids) were excluded during subject selection time. General physical examination was done and histories were taken (personal, family history of HT, DM, neurological illness, socioeconomic status, dietary history etc.).

Following parameters were taken for data collection:

Anthropometric parameters — height, weight, body mass index (BMI) etc. were taken using the standard protocol of Weiner and Lourie. Haematological investigations — blood sample was collected with the help of technician using aseptic technique uniformly from all the subjects and sent to the laboratory for estimation of complete blood counts (CBC). The NLR ratio be calculated by dividing the absolute neutrophil count with the absolute lymphocyte count: [neutrophil count]/[lymphocyte count].

Neurological investigation for measurement of cognitive function:

A. Auditory cognitive evoked potential (P300)—by using (NCV/EMG machine — make-clarity); the P300 was measured using auditory odd ball paradigm. The stimulus that was being given in order to evoke an endogenous potential is auditory in nature. In a dimly lit room the subject was asked to sit on a chair, comfortably with

closed eyes and remain awake and alert. The subject was instructed in prior to restrict the eyeball movement in order to avoid any electro — ocular artefacts or contamination. The subject was instructed to keep a mental count of the numbers of target stimuli by raising the finger.

Electrodes were fixed on the scalp with the help of a conductive paste. Electrodes were placed according to 10–20 international system of EEG electrode placement. Active electrode was placed at Cz. Reference electrodes were linked to right and left mastoid (A1 and A2). The ground electrode was placed at Fpz. Two tones were used as stimulus, a frequent low pitched tone and a rare relatively high pitched tone. Subject was asked to attentively count the number of rare stimuli and ignore the frequent stimuli. As soon as a novelty stimulus i.e. a rare stimulus was attended by the subject, it results in recording of an evoked potential. Approximately two traces were taken per recording. N1 and P1 waves were recorded in response to the frequent stimulus, while P3 or P300 was a large positive deflection of wave captured on attending the rare stimuli. Responses were averaged until minimum 25 stimuli, 100 frequent are stimuli given and amplitude and latency was recorded as data [14].

B. Mini mental state examination (MMSE): the MMSE is a brief cognitive screening instrument frequently used to evaluate cognitive disorders. This comprises of 11 questions and assesses 6 cognitive functional areas: awareness, focus, immediate memory, short-term recall, vocabulary, and ability to follow basic verbal and written commands. The assessment is developed as a standardised instrument which offers a total score that allows the patient to be put on a cognitive functional scale. Each MMSE-evaluated cognitive function has related brain structures that are responsible for this function. The subject maximum score is 30 and scores <24 are associated with cognitive impairment [15].

C. Marks of 1ST M.B.B.S. university exam were maintained as data to assess cognition.

Statistical analysis was performed using unpaired ‘t’ test; $p < 0.05$ (significant). The study findings are reported as mean \pm S.D. Statistical analysis was done by MEDCALC 16.4 version software. In this p-value if lower than conventional 5 % ($p < 0.05$) the coefficient

is called statistically significant and the 95 % confidence interval for the correlation coefficient shows true correlation coefficient.

Results and discussion

There were 100 students enrolled. All the required parameters were taken as per approval condition of the ethical committee and research protocol. Only 79 out of 100 students had been continued in the study. There were 39 male and 40 were females.

Table 1 showed the Mean \pm SD of age, BMI, NLR, P-300 latency & amplitude and MMSE, marks of 79 subjects.

Table 1

Baseline characteristics and laboratory data of the studied groups

	N	Mean	SD	Median	Minimum	Maximum
Age	79	19.13	0.98	19	18	24
BMI	79	24.44	14.90	22	15.1	150
NLR	79	1.90	0.70	1.71	0.7	5
P-300 Avg (amp)(μ v)	79	2.99	2.00	2.7	0.1	10
P300 Avg latency (ms)	79	261.70	39.50	264.4	184.4	345
MMSE	79	26.41	1.93	27	21	30
Marks	79	366.10	43.25	374	263	443

Note: BMI – body mass index; NLR – neutrophil/lymphocyte ratio; MMSE – mini mental state examination.

Table 2 showed that the male and female mean age was (19.39 \pm 1.09 years, 18.88 \pm 0.79 years) respectively and found a significant difference (p value 0.020). The male and female having mean BMI (23.15 \pm 4.63, 25.71 \pm 20.48) respectively and found non-significant differences (p value 0.449). The male and female mean NLR value was (1.72 \pm 0.58, 2.07 \pm 0.76) respectively and found a significant difference (p value 0.023).

For cognitive assessment the P-300 amplitude and latency were measured. The mean value of P-300 amplitude in male and female was found (2.98 \pm 1.95 μ v) and (3.00 \pm 2.06 μ v) respectively with a non-significant difference (p value 0.972). The mean value of P-300 latency in male was (259.63 \pm 37.17ms), and in female (263.71 \pm 42.02 ms) and found non-significant difference (p value 0.649).

Mean MMSE score in male and female was (26.08 \pm 2.08) and (26.73 \pm 1.74) respectively and non-significant difference was found (p value 0.137).

Mean university marks in male and female was (344.62 \pm 39.0) and (387.05 \pm 36.64) respectively and found significant difference (p value <0.001).

Table 2

Comparison of variables between two groups (male and female)

Variables	Sex	N	Mean	SD	Median	Min.	Max.	'p' value*
Age	Male	39	19.39	1.09	19	18	24	0.020
	Female	40	18.88	0.79	19	18	20	
BMI	Male	39	23.15	4.63	22.2	15.1	38.6	0.449
	Female	40	25.71	20.48	21.9	17.1	150	
NLR	Male	39	1.72	0.58	1.67	0.7	3.4	0.023
	Female	40	2.07	0.76	1.9	0.97	5	
Avg (amp) (μ v)	Male	39	2.98	1.95	2.9	0.1	10	0.972
	Female	40	3.00	2.06	2.35	0.6	7.9	
P3 avg (ms)	Male	39	259.63	37.17	264.4	184.4	333.15	0.649
	Female	40	263.71	42.02	264.1	186.25	345	
MMSE	Male	39	26.08	2.08	26	21	30	0.137
	Female	40	26.73	1.74	27	22	29	
Marks	Male	39	344.62	39.07	345	275	427	<0.001
	Female	40	387.05	36.64	393	263	443	

Note: BMI – body mass index; NLR – neutrophil/lymphocyte ratio; MMSE – mini mental state examination; * – unpaired 't' test; p < 0.05 (significant).

Table 3 showed that the correlation was done of cognitive function assessment parameters with age, BMI and NLR. The P-300 Amplitude and Latency have no significant correlation with age, BMI and NLR. MMSE and BMI found significant negative correlation (0.010). Academic performance (marks) have significant negative correlation with age and BMI (0.0028, 0.0132) respectively and significant positive correlation with NLR (0.015).

In the present study we tried to find the association of cognitive status with inflammatory marker neutrophil lymphocyte ratio. Cognitive assessment done by neurophysiological tests-event related potential –300, MMSE questionnaire based test and on the basis of academic performance in first MBBS university exam. There were many studies showing that inflammatory condition could negatively affect fronto temporal cognitive abilities such as memory, attention and executive functions [16]. Neutrophil lymphocyte ratio (NLR) regarded as a marker of the body's immune response and considered as a rapid

Table 3

**Correlation of dependent variables with other studied variables
in studied subjects**

Dependent Variables		Age	BMI	NLR
P-300 Amplitude Avg (μv)	Sample size	79	79	79
	Correlation coefficient r	-0.00573	-0.08116	-0.03868
	Significance level	0.960	0.4771	0.735
	95 % CI for r	-0.2266–0.2157	-0.2969–0.1425	-0.2576–0.1840
P-300 Latency avg (ms)	Sample size	79	79	79
	Correlation coefficient r	0.1816	-0.01048	0.03712
	Significance level	0.1092	0.927	0.7453
	95 % CI for r	-0.04114–0.3872	-0.2311–0.2111	-0.1855–0.2561
MMSE	Sample size	79	79	79
	Correlation coefficient r	-0.1495	-0.2884	-0.1085
	Significance level	0.1885	0.010	0.3413
	95 % CI for r	-0.3588–0.07405	-0.4790 – -0.07185	-0.3219–0.1154
Marks	Sample size	79	79	79
	Correlation coefficient r	-0.3316	-0.2779	0.2729
	Significance level	0.0028	0.0132	0.015
	95 % CI for r	-0.5149 – -0.1192	-0.4701 – -0.06048	0.05511–0.4659

Note: BMI – body mass index; NLR – neutrophil/lymphocyte ratio; MMSE – mini mental state examination.

and simple parameter to indicate the systemic inflammation and stress, that causing increased permeability of the blood-brain barrier, exposing the brain to toxins, reactive oxygen species originating in the systemic circulation and may leads to the process of oxidization and inflammation and eventually results in causing neurodegeneration [17, 18]. NLR is the ratio of absolute neutrophil count to the absolute lymphocyte count. In recent years, an increasing number of studies have focused on NLR. Prognostic role of NLR is continually being investigated and emerging as a robust predictor of deleterious outcomes in many diseases. The potential role of NLR in Alzheimer's disease (AD) was first investigated by Kuyumcu et al. (2012) who found that NLR was significantly higher in AD patients compared to controls [19]. The relationship of NLR with cognitive impairment has been suggested by liu et al (2020) and found higher NLR in patients with cognitive decline [20]. Neutrophils are the first line of immune defence: they exhibit phagocytic and apoptotic action through the secretion of various inflammatory

factors, in particular, cytokines [21]. Inflammation triggered by cytokines can induce further inflammation due to cell dysfunction and to oxidative stress. On the other side lymphocytes are specific inflammatory mediators, with a regulatory or protective function; low lymphocyte counts reflect poor general health and physiologic stress [22], Mechanism of how systemic inflammation and increased NLR result in cognitive impairment is unclear. Inflammation characterized by increased neutrophils and decreased lymphocytes can reduce plaque stability and promote atherosclerosis, which may increase the risk of delirium through micro infarcts.

The cognitive function tests we have done was P300 and it may have multiple intracerebral generators, with the hippocampus and various association areas of the neocortex all contributing to the scalp-recorded potential and represent the transfer of information to consciousness, a process that involves many different regions of the brain.

Patrice Forget, Céline Khalifa et al (2017), found in their study normal NLR value in adults is 0.78 to 3.53 [23]. In our study mean NLR Value in male and female is 1.72 and 2.07 respectively and found significant difference was found between male and females (P value 0.023). In our study we tried to find the relationship of neurophysiological test of cognition with NLR. The subjects participated was healthy students and we found no significant association between P-300 and MMSE and marks with NLR.

Study done by Jaime ramos cejudo et al in 2021 found an association between NLR and risk of subsequent dementia in the Framingham heart study [24].

Hadi J. Halazun et al. studied the neutrophil-lymphocyte ratio as a predictor of cognitive dysfunction in carotid endarterectomy patients and found that the patients with cognitive dysfunction had significantly higher NLR than those without cognitive dysfunction [25]. Kalelioglu et al. studied the neutrophil and platelet to lymphocyte ratios in people with subjects of mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease [26]. Gorelick P.B. et al. show the role of inflammation in cognitive impairment [27].

Conclusion

In the present study cognitive function test P300 and MMSE were found no association with NLR. Marks have a significant positive correlation with NLR. Correlation with in dependable parameter shows that MMSE have significant association with BMI, and marks have significant association with age, gender and BMI. In the present study neurocognitive function test P-300 and MMSE found non-significant association with inflammatory marker NLR although academic performances (marks) have a significant positive correlation with NLR.

References

1. Trivedi JK. Cognitive deficits in psychiatric disorders: Current status. *Indian J Psychiatry*. 2006;48(1):10–20. doi: 10.4103/0019–5545.31613.
2. Godbout JP, Johnson RW. Age and neuroinflammation: a lifetime of psychoneuroimmune consequences. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2009;29(2):321–37. doi: 10.1016/j.iac.2009.02.007.
3. Wronka E, Kaiser J, Coenen AM. Psychometric intelligence and P3 of the event-related potentials studied with a 3-stimulus auditory oddball task. *Neurosci Lett*. 2013;535:110–5. doi: 10.1016/j.neulet.2012.12.012.
4. Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clin Neurophysiol*. 2007;118(10):2128–48. doi: 10.1016/j.clinph.2007.04.019.
5. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts — rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl Lek Listy*. 2001;102(1):5–14.
6. Bauer IE, Pascoe MC, Wollenhaupt-Aguiar B, Kapczinski F, Soares JC. Inflammatory mediators of cognitive impairment in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*. 2014;56:18–27. doi: 10.1016/j.jpsychires.
7. Kuyumcu ME, Yesil Y, Oztürk ZA, Kizilarslanoglu C, Etiler S, Halil M, Ulger Z, Cankurtaran M, Arıoğlu S. The evaluation of neutrophil-lymphocyte ratio in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012;34(2):69–74. doi: 10.1159/000341583.
8. J F Olcina Rodríguez, J Díaz Fernández, Nieves Orta Mira, E López-Briz, Fernando Gómez-Pajares. Neutrophil/lymphocyte ratio: Can a non-specific marker of inflammation helps to confirm the inflammatory hypothesis of the serious mental diseases? A case-control study. *Medical hypotheses volume 130*, 2019;109279. doi: 10.1016/j.mehy.2019.109279.
9. Topal Z, Tufan AE, Karadag M, Gokcen C, Akkaya C, Sarp AS, Bahsi I, Kilinc M. Evaluation of peripheral inflammatory markers, serum B12, folate, ferritin levels and clinical correlations in children with autism spectrum disorder (ASD) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Nord J Psychiatry*. 2022;76(2):150–157. doi: 10.1080/08039488.2021.
10. Kader Semra Karatas, Ilkay Bahceci, Tahsin Gokhan Telatar, Bulent Bahceci, Cicek Hocaoglu. Relationship between disease and disease severity and semaphorin 5A and hemogram level in obsessive — compulsive disorder. *Nord J Psychiatry*. 2021;75(7):509–515. doi: 10.1080/08039488.2021.1896779.
11. Melo MCA, Garcia RF, de Araújo CFC, Abreu RLC, de Bruin PFC, de Bruin VMS. Clinical significance of neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios in bipolar patients: An 18-month prospective study. *Psychiatry Res*. 2019;271:8–14. doi: 10.1016/j.psychres.2018.10.077.
12. Li R, Yang J, Yang J, Fu W, Jiang H, Du J, Zhang C, Xi H, Hou J. Depression in older patients with advanced colorectal cancer is closely connected with immunosuppressive acidic protein. *Metab Brain Dis*. 2014;29(1):87–92. doi: 10.1007/s11011–013–9429–8.
13. Özyurt G, Binici NC. Increased neutrophil-lymphocyte ratios in depressive adolescents is correlated with the severity of depression. *Psychiatry Res*. 2018;268:426–431. doi: 10.1016/j.psychres.2018.08.007.
14. Mishra UK, Kalitha J. Brainstem auditory evoked potential In: *Clinical Neurophysiology*. 3rd ed. New Delhi: Elsevier. 2017. p.367.
15. Shulman KI, Herrmann N, Brodaty H, Chiu H, Lawlor B, Ritchie K, Scanlan JM. IPA survey of brief cognitive screening instruments. *Int Psychogeriatr*. 2006;18(2):281–94. doi: 10.1017/S1041610205002693.
16. Bauer IE, Pascoe MC, Wollenhaupt-Aguiar B, Kapczinski F, Soares JC. Inflammatory mediators of cognitive impairment in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*. 2014;56:18–27. doi: 10.1016/j.jpsychires.

17. Maldonado JR. Neuropathogenesis of delirium: review of current etiologic theories and common pathways. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2013;21:1190–222. doi: 10.1016/j.jagp.2013.09.005.
18. Zhou J, Yu JT, Wang HF, Meng XF, Tan CC, Wang J, Wang C, Tan L. Association between stroke and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(2):479–89. doi: 10.3233/JAD-140666.
19. Kuyumcu ME, Yesil Y, Oztürk ZA, Kizilarslanoglu C, Etiler S, Halil M, Ulger Z, Cankurtaran M, Arıođlu S. The evaluation of neutrophil-lymphocyte ratio in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012;34(2):69–74. doi: 10.1159/000341583.
20. Liu JH, Zhang YJ, Ma QH, Sun HP, Xu Y, Pan CW. Elevated blood neutrophil to lymphocyte ratio in older adults with cognitive impairment. *Arch Gerontol Geriatr*. 2020;88:104041. doi: 10.1016/j.archger.2020.104041.
21. Selders GS, Fetz AE, Radic MZ, Bowlin GL. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regen Biomater*. 2017;4(1):55–68. doi: 10.1093/rb/rbw041.
22. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:181–218. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
23. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Van Pel MC, De Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes*. 2017;10(1):12. doi: 10.1186/s13104-016-2335-5.
24. Ramos-Cejudo J, Johnson AD, Beiser A, Seshadri S, Salinas J, Berger JS, Fillmore NR, Do N, Zheng C, Kovbasyuk Z, Ardekani BA, Pomara N, Bubu OM, Parekh A, Convit A, Betensky RA, Wisniewski TM, Osorio RS. Platelet Function Is Associated With Dementia Risk in the Framingham Heart Study. *J Am Heart Assoc*. 2022;11(9): e023918. doi: 10.1161/JAHA.121.023918.
25. Halazun HJ, Mergeche JL, Mallon KA, Connolly ES, Heyer EJ. Neutrophil-lymphocyte ratio as a predictor of cognitive dysfunction in carotid endarterectomy patients. *J Vasc Surg*. 2014;59(3):768–73. doi: 10.1016/j.jvs.2013.08.095.
26. Kalelioglu T, Yuruyen M, Gultekin G, Yavuzer H, Öztürk Y, Kurt M, Topcu Y, Doventas A, Emul M. Neutrophil and platelet to lymphocyte ratios in people with subjective, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*. 2017;17(6):506–508. doi: 10.1111/psyg.12260.
27. Gorelick PB. Role of inflammation in cognitive impairment: results of observational epidemiological studies and clinical trials. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1207:155–62. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05726.x.

Нейрофизиологическая оценка когнитивных функций и связь с соотношением нейтрофилов и лимфоцитов

РаджПрабха  , А. Шарма , Д. Сорут , С. Какер , Н. Джангид 

Колледж медицинских наук Раджастанского университета медицинских наук, г. Джайпур, Раджастан, Индия
✉ Rajprabhajp7@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Познание является важной физиологической и высшей психической функцией человека. Существуют различные исследования, показывающие, что воспалительное состояние может негативно повлиять на лобно-височные когнитивные способности, такие как память, внимание и исполнительные функции. Неинвазивный тест Р300, компонент потенциалов, связанных со слуховыми событиями и минимальной оценкой психического состояния, а также тест на основе опросника отражают когнитивную функцию, а гематологический параметр соотношения нейтрофилов/лимфоцитов является удобным параметром системного воспаления. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы оценить степень когнитивных функций по опроснику Р-300, минимальную оценку психического состояния и академической успеваемости и найти связь с соотношением нейтрофилов и лимфоцитов у студентов-медиков первого курса. *Материалы и методы.* Это было наблюдательное исследование, проведенное на 79 первокурсниках-медиках возрастной группы 18–25 лет на кафедре физиологии RUHS колледжа медицинских наук г. Джайпура. Для оценки когнитивных функций регистрировали ответы на неинвазивный тест Р300, проводили минимальную оценку психического состояния и анализировали успеваемость. Гематологический параметр соотношения нейтрофилов/лимфоцитов рассчитывали путем деления абсолютного количества нейтрофилов на абсолютное количество лимфоцитов. Для обнаружения ассоциации был проведен статистический анализ с помощью программного обеспечения MEDCALC версии 16.4. *Результаты и обсуждение.* Связь между амплитудой Р-300 и минимальной оценкой психического состояния с соотношением нейтрофилов/лимфоцитов оказалась незначительной. Успеваемость имеет значительную положительную корреляцию с соотношением нейтрофилов/лимфоцитов (0,015). *Выводы.* В настоящем исследовании

тест нейрокогнитивных функций Р-300 и минимальной оценки психического состояния обнаружили незначительную связь с воспалительным маркером соотношения нейтрофилов/лимфоцитов, хотя академическая успеваемость (оценки) имеет значительную положительную корреляцию с соотношением нейтрофилов/лимфоцитов.

Ключевые слова: познание, событийный потенциал, нейрокогнитивная функция, соотношение нейтрофилов и лимфоцитов, мини-обследование психического состояния

Информация о финансировании. Авторы не получали финансовой поддержки для исследования и публикации данной статьи.

Вклад авторов. РаджПрабха — обзор литературы, написание текста, сбор данных и обработка материалов, статистическая обработка данных; Аншул Шарма — концепция и дизайн исследования, написание текста; Джитендер Сорут — сбор данных и обработка материалов, написание текста; Sudhanshu Kacker — концепция и дизайн исследования, написание текста; Наина Джангид — написание текста. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепций, исследований и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение. Перед началом исследования было получено разрешение этического комитета (№ RUHS-CMS/ETHICS Comm./2019/09 от 03.12.19, № EC/P-54.1/2018) Колледжа медицинских наук Раджастанского университета медицинских наук, Раджастан, Джайпур, Индия.

Благодарности. Мы хотим поблагодарить всех участников за успешное проведение исследования.

Информированное согласие на публикацию. От участников исследования было получено добровольное письменное согласие на исследование и публикацию соответствующей медицинской информации в соответствии с Хельсинкской декларацией WMA — Этические принципы медицинских исследований с участием человека, 2013 г.

Поступила 22.04.2023. Принята 23.05.2023.

Для цитирования: RajPrabha, Sharma A., Sorout J., Kacker S., Jangid N. Neurophysiological cognitive assessment and its association with neutrophil to lymphocyte ratio // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. № 3. С. 285—292. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-R_3

Corresponding author: RajPrabha — Professor, Department of physiology, RUHS College of medical sciences, 302033, Pratap nagar, Jaipur, Rajasthan, India. E-mail: rajprabhajp7@gmail.com

RajPrabha ORCID 0009-0005-9558-9405

Sharma A. ORCID 0009-0009-4733-4271

Sorout J. ORCID 0000-0002-1510-0982

Kacker S. ORCID 0000-0002-6505-4216

Jangid N. ORCID 0009-0005-3178-6522

Ответственный за переписку: РаджПрабха — доктор медицинских наук, профессор кафедры физиологии Колледжа медицинских наук Раджастанского университета медицинских наук, Индия, 302033, Раджастан, Джайпур, Пратапнагар.

E-mail: Rajprabhajp7@gmail.com

РаджПрабха ORCID 0009-0005-9558-9405

Шарма А. ORCID 0009-0009-4733-4271


Сорут Д. ORCID 0000-0002-1510-0982

Какер С. ORCID 0000-0002-6505-4216

Джангид Н. ORCID 0009-0005-3178-6522

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-293-304
EDN: REIVAAОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Особенности церебрального кровообращения студентов-первокурсников северного региона

А.А. Говорухина , В.П. Мальцев , О.А. Мальков , У.В. Наговицина  Сургутский государственный педагогический университет, г. Сургут, Российская федерация
 infinitt@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Интенсивные психоэмоциональные и интеллектуальные нагрузки в период получения высшего образования в сочетании с климато-экологическим прессингом проживающих в северных регионах выступают колоссальным стрессом для формирующегося организма и могут повлечь за собой нарушения функционального состояния организма в целом и церебральной гемодинамики в частности. В этой связи актуальным является раннее выявление обучающихся с факторами риска дисфункции системы кровообращения для своевременной помощи и коррекции их образа жизни. Цель исследования: проанализировать особенности церебрального кровообращения студентов первокурсников Сургутского государственного педагогического университета. *Материалы и методы.* В рамках пилотного исследования приняли участие студенты первого курса ($n = 30$; 13 девушек и 17 юношей, средний возраст $18 \pm 0,6$ лет) Сургутского государственного педагогического университета, проживающие на территории, приравненной к условиям Крайнего севера. Показатели церебрального кровообращения обследованных диагностированы при помощи реографического комплекса «Рео-Спектр» (ООО «Нейрософт», г. Иваново) в четырех стандартных отведениях: фронто-мастоидальных (ФМ) слева и справа, и окципито-мастоидальных (ОМ) слева и справа. Диагностика осуществлена в соответствии с биоэтическими нормами с добровольного письменного согласия на проведения исследования. *Результаты и обсуждение.* В ходе проведенного исследования было установлено, что показатели реоэнцефалографии у большинства обследованных юношей выявляют недостаточное кровенаполнение во всех диагностируемых артериальных бассейнах головного мозга. При этом тонус артерий разного калибра соответствуют нормативным показателям. Мозговой кровоток у них обеспечивается в основном за счет повышения тонуса артериол. У юношей адекватный отток крови диагностирован на фоне нормального тонуса венозных сосудов. У девушек во всех отведениях головного мозга повышен тонус мелких сосудов, в бассейне сонной артерии отмечается повышение объемного кровенаполнения сосудов мозга на фоне повышенного тонуса крупных сосудов, что можно рассматривать как регуляторный механизм для нормализации сниженного кровенаполнения соответствующего сосудистого региона. Отток крови из артериол и тонус вен повышен только слева. *Выводы.* Для выявления особенностей церебрального кровообращения студентов-первокурсников северного региона

© Говорухина А.А., Мальцев В.П., Мальков О.А., Наговицина У.В., 2023

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

необходимо дальнейшее изучение гемодинамических механизмов регуляции тонуса сосудов, а также взаимосвязь с центральным кровообращением.

Ключевые слова: церебральное кровообращение, здоровье, студенты, реоэнцефалография, северный регион

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

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

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

Этическое утверждение. Протокол исследования утвержден этическим комитетом Сургутского государственного педагогического университета.

Благодарности — неприменимо.


Информированное согласие на публикацию. Перед началом исследования все участники исследования дали добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013).

Поступила 15.08.2023. Принята 15.09.2023.

Для цитирования: Говорухина А.А., Мальцев В.П., Мальков О.А., Наговицина У.В. Особенности церебрального кровообращения студентов-первокурсников северного региона // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. № 3. С. 293—304. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-293-304

Cerebral circulation features of first-year students of the northern region

Alena A. Govorukhina , Viktor P. Maltsev , Oleg A. Malkov , Ulyana V. Nagovitsina  

Surgut State Pedagogical University, Surgut, Russian Federation
 infinnitt@mail.ru

Abstract. Relevance. Intense psycho-emotional and intellectual loads during the period of higher education, combined with climatic and environmental pressure, living in the northern regions, cause enormous stress for the emerging organism and can lead to violations of the functional state of the organism as a whole and cerebral hemodynamics in particular. In this regard, early identification of students with risk factors of circulatory system dysfunction for timely assistance and correction of their lifestyle is relevant. *The purpose of the study* was to analyze the features of cerebral circulation of first-year students of the northern region. *Materials and Methods.* Within the framework of the pilot study, first-year students (n = 30; 13 girls and 17 boys, average age 18 ± 0.6 years) of Surgut State Pedagogical University living in the territory equated to the conditions of the Far North took part. Indicators of cerebral circulation of the examined patients were diagnosed using the rheographic complex «Reo-Spectrum» (LLC «Neurosoft», Ivanovo) in four standard leads: front-mastoid (FM) on the left and right, and occipito-mastoid (OM) on the left and right. The diagnosis was carried out in accordance with bioethical norms with the voluntary written consent to conduct the study. *Results and Discussion.* In the course of the study, it was found that rheoencephalography indicators in the majority of the examined young men reveal insufficient blood filling in all the diagnosed arterial basins of the brain. At the same time, the tone of the arteries of different calibers corresponds to the normative indicators. Cerebral blood flow in them is provided mainly by increasing the tone of arterioles. An adequate blood outflow was diagnosed against the background of normal tone

of venous vessels In young men. The tone of small vessels of girls was increased in all brain leads, in the carotid artery basin there was an increase in volumetric blood filling of brain vessels against the background of increased tone of large vessels, which can be considered as a regulatory mechanism for normalizing reduced blood filling of the corresponding vascular region. The outflow of blood from arterioles and vein tone was increased only on the left. *Conclusion*. To identify the peculiarities of cerebral circulation of first-year students of the northern region, it is necessary further to study the hemodynamic mechanisms of regulation of vascular tone, as well as the relationship with central circulation.

Keywords: cerebral circulation, health, students, rheoencephalography, northern region

Funding. The authors received no financial support for the research and publication of this article.

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

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

Ethics approval. The protocol of the study was approved by the Ethics Committee of Surgut State Pedagogical University.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication. Before starting the study, all participants provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), the processing of personal data and consent to publication.

Received 15.08.2023. Accepted 15.09.2023.

For citation: Govorukhina A.A., Maltsev V.P., Malkov O.A., Nagovitsina U.V. Cerebral circulation features of first-year students of the northern region. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):293—304. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-293-304

Введение

Медико-социальная значимость проблемы церебрального кровообращения обусловлена широкой распространенностью сосудистых заболеваний головного мозга, приводящих к нетрудоспособности, инвалидизации и смертности населения [1]. В России за 2020 год смертность от цереброваскулярных заболеваний составила более 277 тыс. человек, а число заболевших более 6,408 млн человек. Значительная распространенность церебральной сосудистой патологии, омоложение контингента больных, тяжелые, трудно поддающиеся лечению последствия, зачастую приводящие к инвалидизации, и высокая летальность определяют необходимость своевременной диагностики начальных, доклинических проявлений недостаточности мозгового кровообращения [2–4].

По мнению ряда авторов, проживание в условиях высоких широт приводит к более высоким энергозатратам головного мозга, что, в свою очередь, повышает потребность мозга в кислороде и питательных веществах, усиливает церебральную гемодинамику и повышает риски нарушения функционального состояния организма [5, 6]. Климато-экологические условия полярных и приполярных регионов в сочетании с техногенными факторами приводят к нарушениям приспособительных и развитию хронических стрессовых реакций в организме, становятся причиной более интенсивного использования и быстрого истощения адаптационных резервов организма человека в высоких широтах [7].

Своеобразие климата в Ханты-Мансийском автономном округе — Югре сказывается на самочувствии населения и обуславливает уникальное протекание всех биологических процессов, оказывая

влияние на все функциональные системы организма человека [8, 9].

Анализ современных научных публикаций показал, что наибольший интерес для исследования церебрального кровообращения представляют группы детей и подростков [10–12], спортсменов [13, 14], а также студентов в период экзаменационного стресса [15–19].

На наш взгляд, особого внимания заслуживают студенты-первокурсники, поскольку начало студенческой жизни сопровождается аритмичностью в работе, изменением социального окружения, повышением информационных нагрузок, усилением гиподинамии и т. д. [20]. Все это увеличивает функциональную активность мозга и интенсивность церебрального кровотока для обеспечения возросших метаболических потребностей [21, 22]. Данная группа студентов изучается достаточно интенсивно [23–27], однако особенности церебрального кровотока, по нашему мнению, изучены недостаточно.

Представленный выше анализ современной научной литературы позволил нам сформулировать **цель данной работы**: проанализировать особенности церебрального кровообращения студентов первокурсников северного региона.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории «Биологические основы безопасности образовательного пространства» Сургутского государственного педагогического университета в рамках исследований по научной теме лаборатории «Сохранение и формирование человеческого капитала региона: персонификация образовательных и профессиональных траекторий здоровьесбережения участников образовательного процесса» в межсессионный период марте-апреле 2023 года.

В исследовании приняли участие 30 студентов первого курса (13 девушек и 17 юношей), средний возраст $18 \pm 0,6$ лет. Инструментальное исследование проводилось с соблюдением санитарно-гигиенических требований и на основе добровольного информированного согласия обследуемых. Исследование проводилось в соответствии

с этическими стандартами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с дополнениями, внесенными в 2013 году. Все обследуемые не имели жалоб на состояние здоровья в период проведения исследования. Критерием для исключения из выборки являлись дисфункции нервной, кардиореспираторной, эндокринной систем в анамнезе и острые воспалительные заболевания на момент обследования.

Анализ церебрального кровообращения проводился при помощи реографического комплекса «Рео-Спектр» (ООО «Нейрософт», г. Иваново). Реоэнцефалографическое исследование проводилось в четырех стандартных отведениях: фронто-мастоидальных (FM) слева и справа, позволяющих регистрировать кровоток в бассейне внутренних сонных артерий и окципито-мастоидальных (ОМ) слева и справа, информирующих об уровне кровоснабжения в бассейне позвоночных артерий [2], для выявления особенностей церебрального кровообращения у студентов первокурсников использовались нормативные значения параметров реоэнцефалограммы (РЭГ) по данным Максименко И.М. и др., 1986.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы «Statistica 8.0». Для описания количественных данных вычисляли среднее значение, стандартное отклонение. Для анализа различий между показателями в сравниваемых группах использовали t-критерий Стьюдента при условии нормального распределения, критерий Манна-Уитни при условии ненормального распределения. Во всех использованных статистических критериях за пороговый уровень значимости принимали величину $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Показатели мозгового кровотока юношей и девушек, представленные в таблице 1, достоверно отличаются во фронто-мастоидальных отведениях, характеризующих сонные артерии. В ходе исследо-

вания вышеуказанных отведений были получены статистически значимые межполовые различия по реографическому индексу, максимальной скорости быстрого наполнения, средней скорости медленного

наполнения, дикротическому индексу, диастолическому индексу. В окципито-мастоидальных отведениях межполовые различия статистически значимы только по дикротическому индексу.

Таблица 1/ Table 1

Показатели реоэнцефалограммы у студентов первого курса / Rheoencephalography indices in first-year students

Показатели/ Indicators	Отведения/Regions	Юноши/Boys	Девушки/ Girls	p	Норма/ Standard
		Me(Q ₁ -Q ₃)	Me(Q ₁ -Q ₃)		
РИ, у.е. / RI, с.у.	Fms	1,03 (0,83–1,37)	1,53 (1,27–1,72)	0,007*	1,2–1,6
	Fmd	1,11 (0,75–1,25)	1,47 (1,23–1,95)	0,006*	
	Oms	0,65 (0,54–0,87)	0,73 (0,65–0,95)	0,198	1,0–1,4
	Omd	0,67 (0,61–0,92)	0,94 (0,62–1,19)	0,170	
V _{макс} , с / MaxS, sec	Fms	1,38 (1,23–1,71)	2,19 (1,95–2,76)	0,002*	1,1–2,1
	Fmd	2,15 (1,67–3,05)	1,59 (1,22–1,99)	0,005*	
	Oms	0,98 (0,78–1,28)	1,19 (1,03–1,52)	0,145	0,7–1,5
	Omd	1,10 (0,93–1,32)	1,51 (1,03–1,95)	0,065	
V _{ср} , с / AverS, sec	Fms	0,80 (0,69–0,98)	1,20 (0,99–1,37)	0,002*	0,6–1,4
	Fmd	0,86 (0,67–1,16)	1,15 (0,97–1,60)	0,031*	
	Oms	0,50 (0,43–0,63)	0,62 (0,48–0,74)	0,229	0,2–0,8
	Omd	0,57 (0,43–0,78)	0,79 (0,50–0,84)	0,079	
ДИК, % / Dicl, %	Fms	54,21 (37,70–62,15)	69,93 (66,88–84,87)	0,020*	50–65
	Fmd	52,40 (39,41–62,08)	67,93 (60,07–77,52)	0,009*	
	Oms	58,55 (49,60–63,87)	72,51 (66,26–91,89)	0,012*	55–70
	Omd	56,25 (43,83–69,54)	77,10 (64,86–91,60)	0,009*	
ДИА, % / Dial, %	Fms	64,17 (54,27–66,53)	72,34 (62,98–79,74)	0,086	55–80
	Fmd	63,30 (57,86–66,74)	72,92 (62,78–75,61)	0,043*	
	Oms	77,47 (61,68–81,28)	77,00 (69,04–105,62)	0,408	60–85
	Omd	80,05 (69,53–84,90)	83,52 (77,91–101,62)	0,094	
ПВО, % / VOI, %	Fms	8,00 (6,00–13,00)	9,00 (4,00–16,00)	0,711	0–20
	Fmd	19,00 (8,00–28,00)	20,00 (9,00–27,00)	0,742	
	Oms	16,00 (11,00–20,00)	9,00 (4,00–24,00)	0,341	0–20
	Omd	16,00 (10,00–24,00)	16,00 (5,00–27,00)	0,773	

Примечание: РИ – реографический индекс, V_{макс} – максимальная скорость быстрого наполнения, V_{ср} – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока; * – достоверны межгрупповые различия, при p < 0,05.

Note: RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, Dicl – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index; * – significant inter group differences, at p < 0.05.

Реографический индекс (РИ), отражающий уровень объемного пульсового кровенаполнения в левом фронтально-мастоидальном (Fms) отведении, у 23,5 % юношей и 53,8 % девушек был в норме (рис. 1–2). Повышенный реографический индекс установлен у 11,8 % юношей и 30,8 % девушек, у 15,4 % девушек и 64,7 % юношей — студентов первокурсников РИ понижен. В левом окципито-мастоидальном

(Oms) отведении реографический индекс у 11,8 % юношей находился в норме (рис. 3–4). 15,4 % девушек-первокурсниц имели повышенный РИ. Данный показатель понижен у 88,2 % юношей и 84,6 % девушек. В правом фронтально-мастоидальном отведении (Fmd) реографический индекс был в пределах референсных значений у 17,6 % юношей и 46,2 % девушек (рис. 5–6). 15,4 % девушек и 64,8 % юношей

имели пониженный РИ. Повышенный реографический индекс выявлен у 17,6 % обследованных юношей и 38,5 % обследованных девушек. В правом окципито-мастоидальном отведении (Omd) показатель РИ находился в норме только у 5,9 % юношей и 38,5 % девушек (Рис. 7–8), 7,7 % девушек-первокурсниц имели повышенные значения по этому показателю. Были выявлены низкие значения РИ у 94,1 % юношей и 53,8 % девушек. Межполовые различия по величине реографического индекса у девушек и юношей статистически значимы в Fms и Fmd отведениях ($p < 0,05$).

Показатель максимальной скорости быстрого наполнения (V_{\max}), несущая информацию о тоне крупных артерий, в Fms отведении у 70,6 % юношей и 53,8 % девушек находился в референсных значениях (Рис. 1–2). Пониженные значения выявлены у 17,6 % юношей, у 11,8 % юношей и 46,2 % девушек данный показатель был выше нормативных значений. В левом окципито-мастоидальном (Oms) отведении 11,8 % юношей-первокурсников имели пониженные значения данного показателя (Рис. 3–4). Допустимые значения на момент исследования имели 76,4 % юношей и 76,9 % девушек. Были выявлены высокие значения V_{\max} у 11,8 % юношей и 23,1 % девушек. В правом фронто-мастоидальном отведении (Fmd) значения V_{\max} у 76,4 % юношей и 53,8 % девушек были в норме, низкие показатели были выявлены у 11,8 % юношей (Рис. 5–6). Повышенные значения данного показателя отмечены у 11,8 % юношей и 46,2 % девушек. В Omd отведении значения максимальной скорости быстрого наполнения были понижены у 5,9 % юношей (Рис. 7–8). В референсных значениях данный показатель был у 76,5 % юношей и 61,5 % девушек, повышенные значения имели 17,6 % юношей и 38,5 % девушек. Межполовые различия статистически значимы в Fms и Fmd отведениях ($p < 0,05$).

Средняя скорость медленного наполнения ($V_{\text{ср}}$), отражающая тонус средних и мелких артерий, в левом фронто-мастоидальном отведении (Fms) была ниже допустимых значений у 17,6 % юношей (Рис. 1–2). Данный показатель был в норме у 82,4 % обследованных юношей и 76,9 % об-

следованных девушек. Высокие значения имели 23,1 % девушек. В Oms отведении 88,2 % юношей и 84,6 % девушек имели референсные значения, высокие показатели выявлены у 11,8 % юношей первокурсников и 15,4 % девушек первокурсниц (Рис. 3–4). В правом фронто-мастоидальном отведении (Fmd) низкие значения $V_{\text{ср}}$ были отмечены у 17,6 % юношей (Рис. 5–6). В норме данный показатель выявлен у 76,5 % юношей и 69,2 % девушек. Повышенные значения $V_{\text{ср}}$ были у 5,9 % юношей и 30,8 % девушек. В правом окципито-мастоидальном (Omd) отведении у 100 % обследованных юношей и 76,9 % обследованных девушек средняя скорость медленного наполнения была в норме, повышенные значения отмечены у 23,1 % девушек (Рис. 7–8). Значения $V_{\text{ср}}$ у девушек и юношей статистически значимо различались в Fms и Fmd отведениях ($p < 0,05$).

Дикротический индекс (ДИК) в Fms отведении соответствовал норме у 47,1 % юношей-первокурсников, 35,3 % обследованных юношей и 23,1 % девушек имели пониженное значение по данному показателю (Рис. 1–2). Повышенный ДИК был выявлен у 17,6 % юношей и 76,9 % девушек. В Oms отведении дикротический индекс в референсных значениях был у 35,3 % юношей студентов и 30,8 % девушек студенток (Рис. 3–4). У 47,1 % юношей и 15,4 % девушек был выявлен пониженный ДИК. По данному показателю имели повышение 17,6 % юношей, когда у девушек повышенный ДИК составил 53,8 %. В Fmd отведении дикротический индекс у 47,1 % юношей студентов и 23,1 % девушек студенток был в норме (Рис. 5–6). Однако данный показатель был понижен у 35,3 % юношей и 15,4 % девушек. 17,6 % юношей и 61,5 % девушек имели повышенный ДИК. 41,2 % юношей студентов и 23,1 % девушек студенток были с нормой по дикротическому индексу в Omd отведении (Рис. 7–8). Пониженный ДИК выявлен у 35,3 % юношей и 15,4 % девушек, повышенный у 23,5 % юношей и 61,5 % девушек. Повышенный дикротический индекс указывает на увеличение периферического сопротивления сосудов. Межполовые отличия дикротического

индекса были статистически значимыми в Fms, Oms, Fmd и Omd отведениях ($p < 0,05$).

Диастолический индекс (ДИА), который отображает состояние оттока крови из артерий в вены, в Fms отведении соответствовал норме у 41,2 % юношей и 7,7 % девушек (Рис. 1–2). У 69,2 % девушек и 29,4 % юношей ДИА был повышен. 29,4 % юношей и 23,1 % девушек имели пониженный диастолический индекс. ДИА в левом окципито-мастоидальном отведении (Oms) соответствовал норме у 70,6 % юношей первокурсников и 69,2 % девушек-первокурсниц (Рис. 3–4). Пониженный ДИА был у 17,6 % юношей. Повышен данный показатель был у 11,8 % юношей и 30,8 % девушек. У 76,5 % юношей и 76,9 % девушек диастолический индекс в Fmd отведении был в норме (Рис. 5–6); 23,5 % юношей-студентов и 7,7 % девушек-студенток имели пониженное значение по данному показателю. Повышенный ДИА был выявлен только у 15,4 % девушек — первокурсниц. В норме ДИА в Omd отведении был у 70,6 % юношей — первокурсников и 53,8 % девушек — первокурсниц (Рис. 7–8). Данный показатель повышен у 23,5 % юношей и 46,2 % девушек, а понижен только у 5,9 % обследованных юношей. Понижение ДИА говорит о венозном застое. Межполовые различия по данному показателю статистически значимыми были в Fmd отведении ($p < 0,05$).

Показатель венозного оттока (ПВО) в левом фронтально-мастоидальном отведении (Fms) у 94,1 % обследованных юношей и 76,9 % девушек находился в референтных значениях, однако у 5,9 % юношей и 23,1 % девушек он был повышен (Рис. 1–2). Увеличение данного показателя характеризует усиленный отток крови из полости черепа в сердце. ПВО в Oms отведении соответствовал норме у 76,5 % обследованных юношей и 69,2 % девушек, однако он был повышен у 23,5 % юношей и 30,8 % девушек (Рис. 3–4). Показатель венозного оттока у 76,5 % юношей и 61,5 % девушек был в референтных значениях в правом фронтально-мастоидальном отведении (Fmd) (Рис. 5–6). Однако этот показатель был повышен у 23,5 % юношей и 38,5 % девушек. ПВО в Omd отведении в норме у 58,8 % юношей

и 53,8 % девушек, однако повышен он у 41,2 % юношей и 46,2 % девушек (Рис. 7–8).

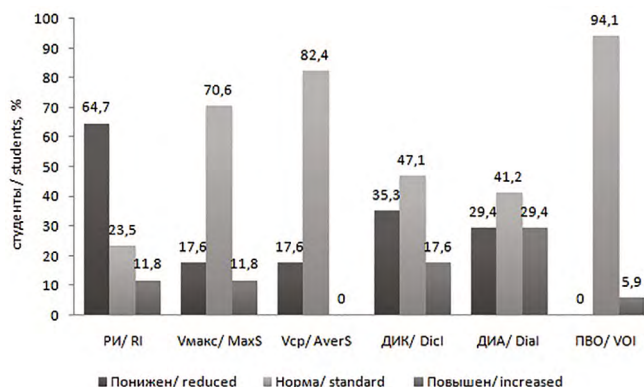


Рис. 1. Показатели РЭГ в Fms отведении у юношей — студентов первого курса северного ВУЗа. RI — реографический индекс, Vmax — максимальная скорость быстрого наполнения, Vsp — средняя скорость медленного наполнения, ДИК — дикротический индекс, ДИА — диастолический индекс, ПВО — показатель венозного оттока

Fig.1. Rheoencephalography indicators in Fms indicator of boys first-year students of the Northern University. RI — rheographic index, MaxS — maximum speed of rapid filling, AverS — average slow filling speed, DicI — dicrotic index, Dial — diastolic index, VOI — venous outflow index

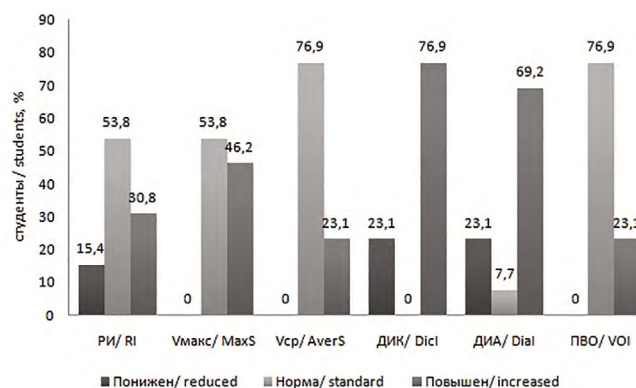


Рис. 2. Показатели РЭГ в Fms отведении у девушек — студенток первого курса северного ВУЗа. RI — реографический индекс, Vmax — максимальная скорость быстрого наполнения, Vsp — средняя скорость медленного наполнения, ДИК — дикротический индекс, ДИА — диастолический индекс, ПВО — показатель венозного оттока

Fig. 2. Rheoencephalography indicators in Fms indicator of girls first-year students of the Northern University. RI — rheographic index, MaxS — maximum speed of rapid filling, AverS — average slow filling speed, DicI — dicrotic index, Dial — diastolic index, VOI — venous outflow index

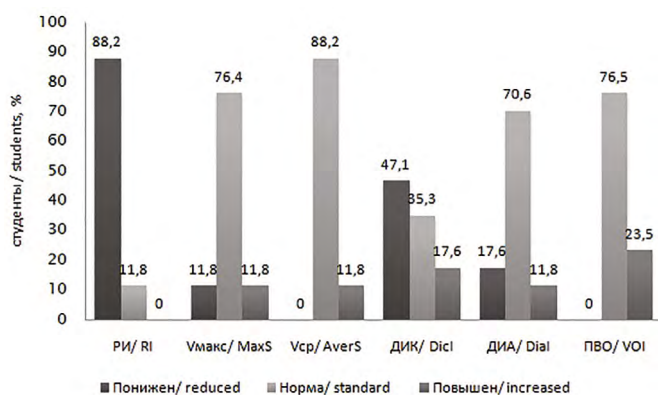


Рис. 3. Показатели РЭГ в Oms отведении у юношей – студентов первого курса северного ВУЗа. RI – реографический индекс, Vмакс – максимальная скорость быстрого наполнения, Vсп – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока

Fig.3. Rheoencephalography indicators in Oms indicator in boys first-year students of the Northern University. RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, DicI – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index

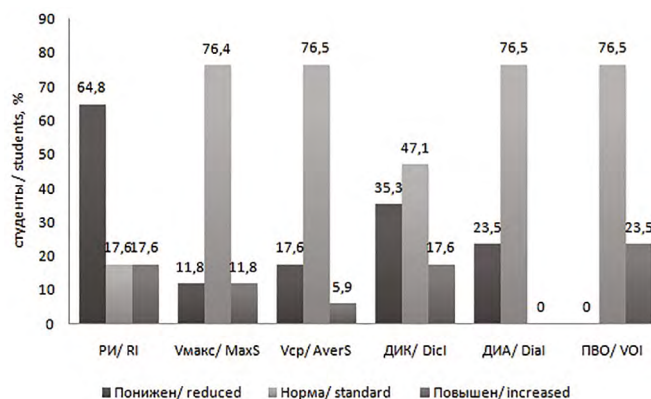


Рис. 5. Показатели РЭГ в Fmd отведении у юношей – студентов первого курса северного ВУЗа. RI – реографический индекс, Vмакс – максимальная скорость быстрого наполнения, Vсп – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока

Fig.5. Rheoencephalography indicators in Fmd indicator of boys first-year students of the Northern University. RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, DicI – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index

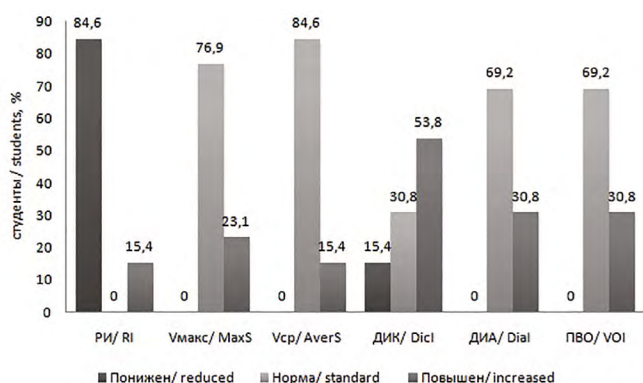


Рис. 4. Показатели РЭГ в Oms отведении у девушек – студенток первого курса северного ВУЗа. RI – реографический индекс, Vмакс – максимальная скорость быстрого наполнения, Vсп – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока

Fig.4. Rheoencephalography indicators in Oms indicator of girls first-year students of the Northern University. RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, DicI – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index

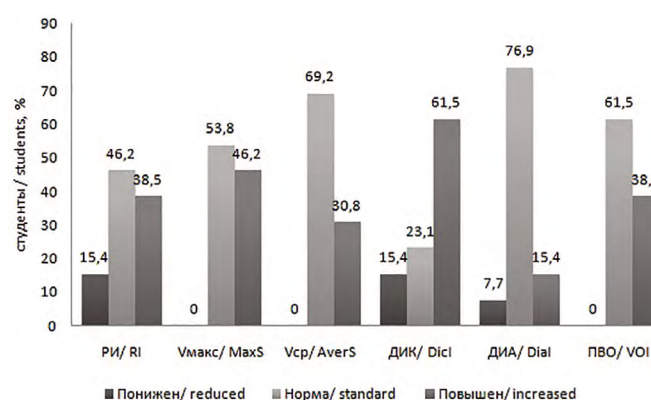


Рис. 6. Показатели РЭГ в Fmd отведении у девушек – студенток первого курса северного ВУЗа. RI – реографический индекс, Vмакс – максимальная скорость быстрого наполнения, Vсп – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока

Fig.6. Rheoencephalography indicators in Fmd indicator of girls first-year students of the Northern University. RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, DicI – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index

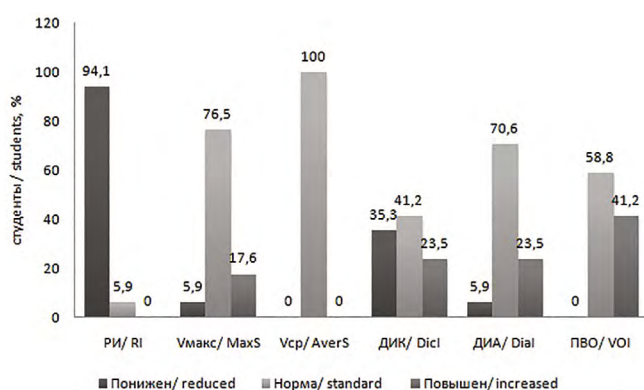


Рис. 7. Показатели РЭГ в Omd отведении у юношей – студентов первого курса северного ВУЗа. RI – реографический индекс, Vмакс – максимальная скорость быстрого наполнения, Vср – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока

Fig.7. Rheoencephalography indicators in Omd indicator in boys first-year students of the Northern University. RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, DicI – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index

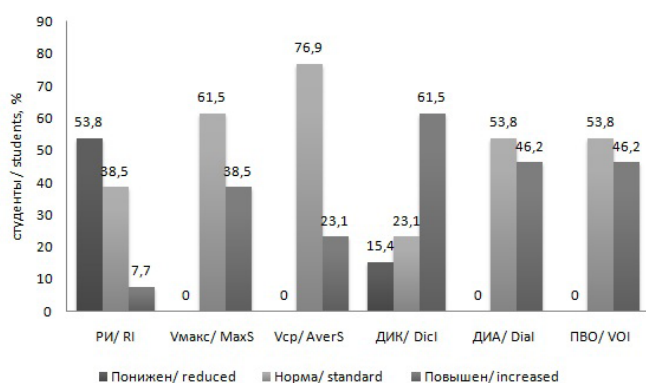


Рис. 8. Показатели РЭГ в Omd отведении у девушек – студенток первого курса северного ВУЗа. RI – реографический индекс, Vмакс – максимальная скорость быстрого наполнения, Vср – средняя скорость медленного наполнения, ДИК – дикротический индекс, ДИА – диастолический индекс, ПВО – показатель венозного оттока

Fig.8. Rheoencephalography indicators in Omd indicator of girls first-year students of the Northern University. RI – rheographic index, MaxS – maximum speed of rapid filling, AverS – average slow filling speed, DicI – dicrotic index, Dial – diastolic index, VOI – venous outflow index

Результаты проведенного исследования показали, что в группе юношей объемный мозговой кровоток снижен в обоих сосудистых бассейнах. При этом тонус крупных, средних и мелких артерий в большинстве случаев соответствуют нормативным показателям. Адекватный мозговой кровоток обеспечивается при этом в основном за счет повышения тонуса артериол, что и обеспечивает адекватный отток крови на фоне нормального тонуса венозных сосудов и далее из полости черепа к сердцу.

В исследуемой группе девушек в бассейне сонной артерии отмечается повышение объемного кровенаполнения сосудов мозга на фоне повышенного тонуса крупных, а также средних и мелких сосудов. Тонус артериол при этом повышен у значительного числа исследуемых девушек. Отток крови из артериол и тонус вен повышен только слева, тогда как справа этот показатель соответствует нормальным значениям. При этом справа отмечается более значительное повышение оттока крови из полости черепа к сердцу. У значительной части этой группы обследованных в бассейне позвоночных артерий отмечается снижение объемного кровенаполнения на фоне нормального или повышенного тонуса крупных, средних и мелких артерий. Тонус артериол в этом сосудистом бассейне повышен у большей части обследованных девушек, что в свою очередь обуславливает повышение оттока крови в большей степени справа.

Выводы

Анализ параметров реоэнцефалографии у большинства обследованных юношей позволил установить недостаточное кровенаполнение во всех отведениях головного мозга, в особенности окципито-мастоидальных, характеризующих позвоночные артерии. Треть юношей имели сниженные значения ДИК во всех отведениях головного мозга, практически у половины юношей в левом окципито-мастоидальном отведении ДИК был ниже нормы. Гипертонус артериол (более чем в 35 % случаев) позволяет компенсировать кровенаполнение в данном сосудистом регионе.

В окципито-мастоидальных отведениях у девушек также наблюдается снижение реографического индекса, отражающего кровенаполнение в этом бассейне. В левом фронто-мастоидальном отведении у большинства девушек отмечен высокий диастолический индекс, указывающий на повышенный отток крови из артерий в вены. Во всех отведениях головного мозга у девушек установлен повышенный дикротический индекс. Повышение тонуса мелких сосудов является регуляторным механизмом для нормализации сниженного кровенаполнения соответствующего сосудистого региона.

Таким образом, анализ особенностей церебрального кровообращения студентов-первокурсников северного региона свидетельствует о снижении мозгового кровотока как у юношей, так и у девушек, что, возможно, связано с нарушениями регуляции сосудистого тонуса. Это повышает риски сосудистых нарушений у данной категории обследуемых и требует выбора значимых физиологических параметров для донозологической диагностики с целью дальнейшей профилактики этих нарушений.

Библиографический список

1. Бабианц А.Я., Хананашвили Я.А. Мозговое кровообращение: физиологические аспекты и современные методы исследования // Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2018. № 3. С. 46–54.
2. Комплекс реографический «Рео-Спектр». Методические указания. Иваново: Нейрософт, 2010. С. 24.
3. Кулеш А.А., Нуриева Ю.А., Сыромятникова Л.И. Причины ишемического инсульта у пациентов моложе 45 лет: анализ данных регионального сосудистого центра // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2021. № 1. С. 24–30.
4. Мансур Т.И., Стуров Н.В., Кузнецов В.И., Яшина Н.В., Подопригора И.В. Начальные проявления недостаточности церебрального кровоснабжения у студентов в вузе // Справочник врача общей практики. 2022. № 4. С. 10–18.
5. Грибанов А.В., Депутат И.С. Распределение уровня постоянного потенциала головного мозга у пожилых женщин в циркулярных условиях // Физиология человека. 2015. Т. 41. № 3. С. 134–136. doi: 10.7868/S0131164615030066.
6. Погонишева И.А., Погонишев Д.А. Влияние полушарной организации мозга на процессы адаптации студентов северного вуза // Вестник НВГУ. 2017. № 4. С. 100–104.
7. Депутат И.С., Дерябина И.Н., Нехорошкова А.Н., Грибанов А.В. Влияние климатоэкологических условий севера на процессы старения // Журнал медико-биологических исследований. 2017. Т. 5. № 3. С. 5–17. doi: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.5.

8. Верижникова Л.Н., Арямкина О.Л., Терентьева Н.Н. Соматическая патология у жителей Ханты-Мансийского автономного округа — Югры // Бюллетень сибирской медицины. 2020. Т. 19. № 2. С. 13–19.
9. Литовченко О.Г., Багнетова Е.А., Тостановский А.В. Эколого-физиологические аспекты здоровьесбережения молодого населения Югры // Современные вопросы биомедицины. 2022. Т. 6. № 1. С. 138–144. doi: 10.51871/2588-0500_2022_06_01_18.
10. Шаранов А.Н., Безобразова В.Н., Догадкина С.Б., Кмить Г.В., Рублёва Л.В. Комплексный анализ ряда функциональных параметров сердечно-сосудистой системы в онтогенезе школьников младшего возраста // Новые исследования. 2008. Т. 1. № 14–1. С. 41–51.
11. Дёмин Д.Б., Поскотинова Л.В., Кривоногова Е.В. Вегетативный статус и мозговая активность у подростков заполярного Севера // Вестник РАМН. 2014. № 9–10. С. 5–9. doi:10.15690/vgnm.v69i9-10.1124
12. Русанов В.Б., Матин Б.В., Лучицкая Е.С. Анализ функциональных особенностей мозгового кровообращения подростков как компонента системной гемодинамики // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. 2018. № 1. С. 8–14.
13. Исупов И.Б., Панина Н.Г., Занкович А.А., Матохина А.А. Типологические реакции церебрального кровообращения спортсменов в условиях дозированных физических нагрузок // Вестник ВолГУ. 2008. № 2. С. 163–165.
14. Гонохова А.С., Замчий Т.П. Состояние кровотока головного мозга у спортсменов силовых видов спорта и его оптимизация методом транскраниальной электростимуляции // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2019. Т. 3. С. 89–94. doi:10.31588/2413-4201-1883-239-3-89-94.
15. Акимова Н.А., Букова К.А., Климанова М.Н., Затрудина Е.Б. Динамические характеристики церебрального кровообращения молодых лиц в условиях комбинированных возмущающих воздействий на организм // Вестник ВолГУ. 2016. № 14. С. 10–14.
16. Исупов И.Б., Мандриков В.Б., Лиходеева В.А., Букова К.А., Климанова М.Н. Церебральное кровообращение молодых лиц в условиях комбинированных возмущающих воздействий на организм // Вестник ВолГМУ. 2017. № 2. С. 68–70.
17. Мельник С.Н., Мельник В.А., Сукач Е.С., Ткаченко П.В. Влияние физической и умственной нагрузки на состояние центральной и мозговой гемодинамики молодых людей в зависимости от типа кровообращения и церебральной микроциркуляции // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2016. № 1. С. 117–123.
18. Мандриков В.Б., Севрюкова Г.А., Исупов И.Б., Лиходеева В.А. Церебральное кровообращение российских и иностранных студентов при различных формах умственной деятельности // Вестник ВолГМУ. 2019. № 69. С. 87–90.
19. Спицин А.П., Железнова А.Д., Кушкова Н.Е. Особенности церебральной и системной гемодинамики у студентов с оптимальным и высоким нормальным артериальным давлением // Вятский медицинский вестник. 2021. № 3. С. 82–85.
20. Агаджанян Н.А., Северин А.Е., Силаева А.А., Ермакова Н.В., Миннибаев Т.Ш., Кузнецова Л.Ю. Изучение образа жизни, состояния здоровья и успеваемости студентов при интенсификации

образовательного процесса // Гигиена и санитария. 2005. № 3. С. 48–52.

21. Исупов И.Б., Занкович А.А., Кочубеева Е.Н. Типологические особенности кровообращения головного мозга молодых людей // Вестник ВолГУ. 2008. Т.7. № 1. С. 124–129.

22. Депутат И.С., Нехорошкова А.Н., Грибанов А.В., Большевидцева И.Л., Старцева Л.Ф. Анализ распределения уровня постоянного потенциала головного мозга в оценке функционального состояния организма (обзор) // Экология человека. 2015. № 10. С. 27–36.

23. Захаров Н.Е., Захарова М.В., Золотникова Г.П., Скачкова Т.А., Сизаева В.Э. Психофизиологические аспекты адаптации организма студентов в процессе вузовского обучения // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. 2017. № 6. С. 249–253.

24. Никулина А.В., Туйзарова И.А., Шуканов Р.А., Алтынова Н.В., Шуканов А.А. Анализ состояния сердечно-сосудистой системы организма в моделируемых условиях // Человек. Спорт. Медицина. 2019. № 3. С. 7–13.

25. Симонова О.И. Адаптационный потенциал сердечно-сосудистой системы первокурсников обучающихся в вузе // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. 2020. Том 6. № 2. С. 214–222.

26. Елаева Е.Е., Якимова Е.А., Мамаев А.Р. Мониторинговые показатели кардиореспираторной системы студентов как индикатор адаптационных реакций организма на физическую нагрузку // Теория и практика физической культуры. 2021. № 2. С. 43–45.

27. Тулякова О.В., Авдеева М.С., Смирнова А.А. Функциональное состояние студентов на первом году обучения // Новые исследования. 2021. № 3. С. 40–45. doi: 10.46742/2072-8840-2021-67-3-40-45.

References

1. Babiyants AYa, Khananashvili Ya A. Cerebral circulation: physiological aspects and modern research methods. *Journal of Fundamental Medicine and Biology*. 2018;3:46–54. (In Russian).
2. Rheographic complex «Reo-Spectrum». *Methodical instructions*. Ivanovo: Neurosoft. 2010. 24 p. (In Russian).
3. Kulesh AA, Nurieva YuA, Syromyatnikova LI. Causes of ischemic stroke in patients younger than 45 years: analysis of data from the regional vascular center. *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*. 2021;1:24–30. (In Russian).
4. Mansur TI, Sturov NV, Kuznetsov VI, Yashina NV, Podoprigora IV. Initial manifestations of insufficiency of cerebral blood supply in students at the university. *Reference book of a general practitioner*. 2022;4:10–18. (In Russian).
5. Griбанov AV, Deputat IS. Distribution of the level of constant brain potential in elderly women in circumpolar conditions. *Human Physiology*. 2015;41(3):134–136. (In Russian).
6. Pogonyshcheva IA, Pogonyshchev DA. Influence of the hemispheric organization of the brain on the processes of adaptation of students of the northern university. *Bulletin of the Nizhnevartovsk state university*. 2017;4:100–104. (In Russian).
7. Deputy IS, Deryabina IN, Nekhoroshkova AN, Griбанov AV. Influence of climatic and ecological conditions of the north on aging processes. *Journal of Biomedical Research*. 2017;5(3):5–17. (In Russian).

8. Verizhnikova LN, Aryamkina OL, Terentyeva NN. Somatic pathology among residents of the Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug — Yugra. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020;19(2):13–19. (In Russian).

9. Litovchenko OG, Bagnetova EA, Tostanovskiy AV. Ecological and physiological aspects of health saving of the young population of Yugra. *Modern issues of biomedicine*. 2022;6(1):138–144. doi: 10.51871/2588-0500_2022_06_01_18. (In Russian).

10. Sharapov AN, Bezobrazova VN, Dogadkina SB, Kmit GV, Rubleva LV. Comprehensive analysis of a number of functional parameters of the cardiovascular system in the ontogenesis of young schoolchildren. *New research*. 2008;1(14–1):41–51. (In Russian).

11. Demin DB, Poskotinova LV, Krivonogova EV. Vegetative status and brain activity in adolescents of the polar North. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014;9–10:5–9. (In Russian).

12. Rusanov VB, Matin BV, Luchitskaya ES. Analysis of the functional features of cerebral circulation in adolescents as a component of systemic hemodynamics. *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied research*. 2018;1:8–14. (In Russian).

13. Isupov IB, Panina NG, Zankovich AA, Matokhina AA. Typological reactions of the cerebral circulation of athletes under conditions of dosed physical activity. *Bulletin of Volgograd state university*. 2008;2:163–165. (In Russian).

14. Gonokhova AS, Zamchiy TP. The state of cerebral blood flow in power sports athletes and its optimization by transcranial electrical stimulation. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine. N.E. Bauman*. 2019;3:89–94. (In Russian). doi: 10.31588/2413-4201-1883-239-3-89-94.

15. Akimova NA, Bukova KA, Klimanova MN, Zatrudina EB. Dynamic characteristics of the cerebral circulation of young people under conditions of combined disturbing effects on the body. *Bulletin of Volgograd state university*. 2016;14:10–14. (In Russian).

16. Isupov IB, Mandrikov VB, Likhodeeva VA, Bukova KA, Klimanova MN. Cerebral circulation of young people under conditions of combined perturbing effects on the body. *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2017;2:68–70. (In Russian).

17. Melnik SN, Melnik VA, Sukach ES, Tkachenko PV. Influence of physical and mental stress on the state of central and cerebral hemodynamics of young people depending on the type of blood circulation and cerebral microcirculation. *Kursk Scientific-practical bulletin «Man and his health»*. 2016;1:117–123. (In Russian).

18. Mandrikov VB, Sevryukova GA, Isupov IB, Likhodeeva VA. Cerebral circulation of Russian and foreign students in various forms of mental activity. *Volgograd State Medical University*. 2019;69:87–90. (In Russian).

19. Spitsin AP, Zheleznova AD, Kushkova NE. Features of cerebral and systemic hemodynamics in students with optimal and high normal arterial pressure. *Vyatskiy Medical Bulletin*. 2021;3:82–85. (In Russian).

20. Agadzhanyan NA, Severin AE, Silaeva AA, Ermakova NV, Minnibaev TSh, Kuznetsova LYu. The study of lifestyle, health status and academic performance of students during the intensification of the educational process. *Hygiene and Sanitation*. 2005;3:48–52. (In Russian).

21. Isupov IB, Zankovich AA, Kochubeeva EN. Typological features of the blood circulation of the brain of young people. *Volgograd state university*. 2008;7(1):124–129. (In Russian).

22. Deputy IS, Nekhoroshkova AN, Griбанov AV, Bolshavidtseva IL, Startseva LF. Analysis of the distribution of the level of the constant potential of the brain in assessing the functional state of the body (review). *Human Ecology*. 2015;10:27–36. (In Russian).
23. Zakharov NE, Zakharova MV, Zolotnikova GP, Skachkova TA, Sizaeva VE. Psychophysiological aspects of students' organism adaptation in the process of university education. *Scientific notes of the University. P.F. Lesgaft*. 2017;6:249–253. (In Russian).
24. Nikulina AV, Tuizarova IA, Shukanov RA, Altynova NV, Shukanov AA. Analysis of the state of the cardiovascular system of the body under simulated conditions. *Human. sport. medicine*. 2019;3:7–13. (In Russian).
25. Simonova OI. Adaptation potential of the cardiovascular system of first-year students studying at the university. *Scientific notes of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky. Biology. Chemistry*. 2020;6(2):214–222. (In Russian).
26. Elaeva EE, Yakimova EA, Mamaev AR. Monitoring indicators of the cardiorespiratory system of students as an indicator of the body's adaptive responses to physical activity. *Theory and practice of physical culture*. 2021;2:43–45. (In Russian).
27. Tulyakova OV, Avdeeva MS, Smirnova AA. Functional state of students in the first year of study. *Newresearch*. 2021;3:40–45. doi: 10.46742/2072-8840-2021-67-3-40-45. (In Russian).

Ответственный за переписку: Наговицина Ульяна Васильевна — аспирант кафедры медико-биологических дисциплин и безопасности жизнедеятельности Сургутского государственного педагогического университета, Российская Федерация, 628404, г. Сургут, ул. Артема, 9. E-mail: infinitt@mail.ru.

Говорухина А.А. SPIN 7772–3522; ORCID 0000–0002–7466–2918

Мальцев В.П. SPIN 6975–8465; ORCID 0000–0002–2453–6585

Мальков О.А. SPIN 5079–4259; ORCID 0000–0002–0895–2079

Наговицина У.В. SPIN 1880–3706; ORCID 0009–0009–1563–1810

Corresponding author: Nagovitsina Ulyana Vasil'evna — PhD student of the Department of Biomedical Disciplines and Life Safety, Surgut State Pedagogical University, 628404, Artem str., 9, Surgut, Russian Federation. E-mail: infinitt@mail.ru.

Govorukhina A.A. ORCID 0000–0002–7466–2918

Maltsev V.P. ORCID 0000–0002–2453–6585

Mal'kov O.A. ORCID 0000–0002–0895–2079

Nagovitsina U.V. ORCID 0009–0009–1563–1810




DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-305-317

EDN: QIFSOU

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Особенности кардиоритма при постуральных изменениях в зависимости от реактивности вегетативных центров

Д.А. Скорлупкин  , Е.К. Голубева , Л.Л. ЯрченковаИвановская государственная медицинская академия, г. Иваново, Российская Федерация
 sk_dmit96@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Постуральные изменения сопровождаются формированием адаптивного ответа сердечно-сосудистой системы. Это проявляется изменением variability сердечного ритма. Особенности реакции во многом зависят от возбудимости (реактивности) вегетативных центров. *Цель:* выявить индивидуальные особенности регуляции сердечного ритма при постуральных изменениях в зависимости от реактивности симпатических и парасимпатических вегетативных центров у студентов. *Материал и методы.* У 50 мужчин определяли временные, частотные, геометрические и расчетные показатели variability сердечного ритма в горизонтальном положении, при активном ортостазе, пассивном ортостазе и пассивном антиортостазе. Реактивность симпатической системы оценивали по изменению частоты сердечных сокращений при активном ортостазе. Реактивность парасимпатической системы определяли по К30:15. *Результаты и обсуждение.* При нормальной и высокой симпатической реактивности активный ортостаз вызывает увеличение низкочастотной мощности спектра, стресс-индекса, частоты сердечных сокращений, уменьшение высокочастотного компонента и длительности кардиоинтервалов. Изменения более выражены при высокой симпатической реактивности. При пассивном ортостазе высокая симпатическая реактивность проявляется большим увеличением частоты сердечных сокращений, укорочением кардиоинтервалов и уменьшением доли высокочастотного компонента в спектрограмме. Пассивный антиортостаз при нормальной симпатической реактивности вызывает снижение показателя адекватности процессов регуляции и расширение скаттерограммы. У испытуемых с высокой парасимпатической реактивностью при активном ортостазе увеличение индекса напряжения меньше, чем при нормальной и низкой реактивности. При низкой парасимпатической реактивности показатель адекватности процессов регуляции больше, чем при нормальной и высокой реактивности, а увеличение частоты сердечных сокращений и укорочение минимального кардиоинтервала больше, чем при нормальной. При пассивном ортостазе уменьшается доля высокочастотного компонента, увеличивается доля сверхнизкочастотного компонента, укорачивается модальный кардиоинтервал, что более выражено при низкой парасимпатической реактивности, чем при нормальной. При пассивном антиортостазе у лиц с нормальной реактивностью снижается сверхнизкочастотный компонент. При высокой реактивности возрастает максимальное значение высокочастотного компонента и снижается показатель адекватности процессов регуляции. *Выводы.* Активный и пассивный ортостаз сопровождается активацией симпатических центров. Это более выражено при высокой реактивности

© Скорлупкин Д.А., Голубева Е.К., Ярченкова Л.Л., 2023

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

симпатического отдела и низкой реактивности парасимпатического. Пассивный антиортостаз стимулирует деятельность парасимпатических кардиальных центров у испытуемых с нормальной, высокой парасимпатической реактивностью и нормальной симпатической реактивностью.

Ключевые слова: ортостаз, антиортостаз, сердечный ритм, вегетативная нервная система

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов. Скорлупкин Д.А. — сбор материала, статистическая обработка результатов, написание текста рукописи; Голубева Е.К. — концепция и дизайн исследования, написание текста рукописи, Ярченкова Л.Л. — анализ данных, редактирование рукописи. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследования и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение. Протокол исследования утвержден этическим комитетом Ивановской государственной медицинской академии.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. Перед началом исследования все участники исследования дали добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013).


Поступила 20.04.2023. Принята 26.05.2023.

Для цитирования: Скорлупкин Д.А., Голубева Е.К., Ярченкова Л.Л. Особенности кардиоритма при постуральных изменениях в зависимости от реактивности вегетативных центров // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. No 3. С. 305—317. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-305-317

Cardiorhythm in postural changes depending on the autonomic centers reactivity

Dmitry A. Skorlupkin  , Elena K. Golubeva , Larisa L. Yarchenkova

Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russian Federation

 sk_dmit96@mail.ru

Abstract. Postural changes are accompanied by the formation of an adaptive response of the cardiovascular system. This is manifested by a change in heart rate variability. The features of the reaction largely depend on the excitability (reactivity) of the vegetative centers. *The aim* of the study was to identify individual features of heart rate regulation in postural changes depending on the reactivity of sympathetic and parasympathetic autonomic centers in students. *Material and Methods.* In 50 men, temporal, frequency, geometric and calculated indicators of heart rate variability were determined in a horizontal position, with active orthostasis, passive orthostasis and passive antiorthostasis. The reactivity of the sympathetic system was assessed by the change of heart rate in active orthostasis. The reactivity of the parasympathetic system was determined by K30:15. *Results and Discussion.* With normal and high sympathetic reactivity, active orthostasis causes an increase in the low-frequency power

of the spectrum, stress index, heart rate, a decrease in the high-frequency component and the duration of cardiac intervals. The changes are more pronounced with high sympathetic reactivity. In passive orthostasis, high sympathetic reactivity is manifested by a large increase in heart rate, shortening of cardiac intervals and a decrease in the proportion of the spectrogram high-frequency component. Passive antiorthostasis with normal sympathetic reactivity causes a decrease in the adequacy of the regulation processes and an expansion of the scatterogram. In subjects with high parasympathetic reactivity with active orthostasis, the increase in the stress index is less than with normal and low reactivity. With low parasympathetic reactivity, the indicator of the adequacy of the regulation processes is greater than with normal and high reactivity, and the increase in heart rate and shortening of the minimum cardiac interval is greater than with normal. In passive orthostasis, the proportion of the high-frequency component decreases, the proportion of the ultra-low-frequency component increases, the modal cardiointerval shortens, which is more pronounced with low parasympathetic reactivity than with normal. In passive antiorthostasis, the ultra-low frequency component decreases in individuals with normal reactivity. With high reactivity, the maximum value of the high-frequency component increases and the adequacy of the regulation processes decreases. *Conclusion.* Active and passive orthostasis is accompanied by activation of sympathetic centers. It is more pronounced with high reactivity of the sympathetic department and low reactivity of the parasympathetic. Passive antiorthostasis stimulates the activity of parasympathetic cardiac centers in subjects with normal, high parasympathetic reactivity and normal sympathetic reactivity.

Key words: orthostasis, antiorthostasis, heart rate, autonomic nervous system

Funding. The authors state that there was no external funding.

Author contributions. Skorlupkin D.A. — collection of material, statistical processing of results, writing the text of the manuscript; Golubeva E.K. — concept and design of the study, writing the text of the manuscript, Yarchenkova L.L. — data analysis, editing of the manuscript. All authors have made significant contributions to the development concepts, research, and manuscript writing, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval. The protocol of the study was approved by the Ethics Committee of Ivanovo State Medical Academy.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication. Before starting the study, all participants provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), the processing of personal data and consent to publication.

Received 20.04.2023. Accepted 26.05.2023.

For citation: Skorlupkin D.A., Golubeva E.K., Yarchenkova L.L. Cardiorhythm in postural changes depending on the autonomic centers reactivity. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):305—317. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-305-317

Введение

Изменения положения тела являются неотъемлемым компонентом повседневной жизни человека. Особое значение они приобретают при спортивных тренировках, в том числе выполнении упражнений йоги. Различные постральные положения используются в диагностических, лечебных и реабилитационных мероприятиях [1]. Изменение положения тела в пространстве активизирует комплекс

тонических рефлексов, направленных на фиксацию центра тяжести человека и сохранение устойчивой позы [2]. Это достигается за счёт интеграции биомеханических процессов и афферентной сенсорной информации с широкого спектра источников, включая рецепторные зоны соматосенсорного, зрительного и вестибулярного анализаторов [3]. Активируемые механизмы пострального контроля сопровождаются развитием адаптивных реакций

со стороны различных физиологических систем с участием вегетативной нервной системы (ВНС), что направлено на поддержание адекватного уровня функциональной активности организма и сохранение гомеостаза [4]. Изменение степени активности симпатических и парасимпатических центров регуляции оказывает влияние на сердечную деятельность, модулируя периодические колебания продолжительности R-R интервалов [5, 6]. В связи с этим объективным индикатором сдвига вегетативного равновесия является изменение variability сердечного ритма (ВСР) [7, 8]. Временные, спектральные, нелинейные, геометрические и расчетные параметры ВСР позволяют дать наиболее точную количественную оценку вклада симпатических и парасимпатических влияний в регуляцию деятельности сердца [9, 10]. При этом степень отклонения показателей ВСР при постуральных изменениях зависит от индивидуальных особенностей реактивности (возбудимости) вегетативных центров, что на сегодняшний день изучено недостаточно, чем и определяется актуальность настоящего исследования [11].

Цель исследования — выявить индивидуальные особенности регуляции сердечного ритма при постуральных изменениях в зависимости от реактивности симпатических и парасимпатических вегетативных центров у студентов.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры нормальной физиологии Ивановской государственной медицинской академии. Было обследовано 50 практически здоровых студентов мужского пола с индексом массы тела $22,55 \pm 0,39$ кг/м² [12]. Средний возраст участников исследования составил $19,35 \pm 0,21$ лет. Критериями исключения были острые инфекционные и неинфекционные заболевания, хронические заболевания в стадии обострения, а также индекс массы тела менее 18,5 кг/м² и более 25 кг/м². Предварительно все участники исследования были ознакомлены с протоколом исследования (утвержден этическим

комитетом ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, протокол № 5 от 16.11.2020 г.) и дали добровольное письменное информированное согласие на участие. Работа выполнена в соответствии с этическими принципами Хельсинской декларации по проведению биомедицинских исследований с участием человека [13]. Variability сердечного ритма оценивали с помощью АПК «Поли-спектр» («Нейрософт», г. Иваново). У испытуемых регистрировали ЭКГ в I стандартном отведении в течение 5 минут в горизонтальном положении тела (контроль), а также в течение 5 минут при следующих постуральных изменениях: активный ортостаз, пассивный ортостаз (угол наклона 25°) и пассивный антиортостаз (угол наклона 15°) [14].

Определяли временные, частотные, геометрические и расчётные показатели: частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), среднюю продолжительность кардиоинтервалов (RRNN, мс), долю кардиоинтервалов, отличающихся между собой на 50 и более мс (pNN50, %), минимальную продолжительность кардиоинтервала (R-Rmin, мс), максимальную продолжительность кардиоинтервала (R-Rmax, мс), мощность спектра в диапазоне низких частот в нормализованных единицах (LFnorm, п.у.), мощность спектра в диапазоне высоких частот с нормализованных единиц (HFnorm, п.у.), индекс симпатовагального взаимодействия (LF/HF, у.е.), долю мощности спектра в диапазоне высоких частот (HF, %), долю мощности спектра в диапазоне низких частот (LF, %), долю мощности спектра в диапазоне сверхнизких частот (VLF, %), максимальное значение мощности спектра в диапазоне высоких частот (HFmx, мс²/Гц*1000), продолжительность медианного кардиоинтервала (Me, с), продолжительность модального кардиоинтервала (Mo, с), амплитуду модального кардиоинтервала (AMo, %), ширину эллипса скаттерограммы (ell_w, мс), длину эллипса скаттерограммы (ell_L, мс), отношение длины эллипса скаттерограммы к её ширине (L/w, у.е.), индекс напряжения регуляторных систем (SI, у.е.), показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР, у.е.). Рассчитывали отклонение показателей ВСР (Δ) при постуральных изменениях

у испытуемых с разной симпатической и парасимпатической реактивностью.

Реактивность симпатических вегетативных центров оценивали по степени изменения ЧСС в результате активного ортостаза. При увеличении ЧСС на 6–24 уд/мин реактивность симпатической нервной системы считали нормальной, при увеличении ЧСС более чем на 24 уд/мин — высокой, при увеличении менее чем на 6 уд/мин — низкой. На основании этого было выделено 2 группы испытуемых: с нормальной ($n = 21$) и высокой ($n = 29$) симпатической реактивностью. Реактивность парасимпатических вегетативных центров оценивали по величине коэффициента К30:15 [15]. При значении К30:15, составляющем 1,25–1,75 единиц, реактивность парасимпатической нервной системы считали нормальной, при значении К30:15 более чем 1,75 — высокой, при значении К30:15 менее чем 1,25 — низкой. На основании этого испытуемые были разделены на 3 группы: с нормальной ($n = 33$), низкой ($n = 9$) и высокой ($n = 8$) парасимпатической реактивностью.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью электронных таблиц Microsoft

Excel 2007 и программы Statistica 12.0. Проверка гипотезы о нормальности распределения экспериментальных данных производилась с помощью критерия Шапиро–Уилка (при $n < 50$). Принимая во внимание то, что результаты не подчинялись закону нормального распределения, для описания количественных переменных рассчитывали медиану и интерквартильный размах $Me [Q1; Q3]$. Для оценки достоверности различий показателей ВСР были использованы непараметрический критерий Вилкоксона для зависимых групп и U-критерий Манна–Уитни для независимых групп [16]. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ ВСР при активном ортостазе показал, что в спектрограмме испытуемых с нормальной и высокой реактивностью симпатических центров увеличивается мощность в диапазоне низких частот при снижении высокочастотного компонента, что сопровождается возрастанием индекса симпатовагального взаимодействия (табл. 1).

Таблица 1

Вариабельность ритма сердца при активном ортостазе у мужчин в зависимости от реактивности симпатической нервной системы, $Me [Q1; Q3]$

Положение тела	Показатель ВСР			
	LFnorm, n. u.	HFnorm, n. u.	LF/HF, y. e.	SI, y. e.
Нормальная реактивность				
Контроль ($n = 21$)	41,50 [33,30; 55,40]	58,50 [44,60; 66,70]	0,71 [0,50; 1,24]	41,17 [34,59; 56,97]
Активный ортостаз ($n = 21$)	77,00 [67,50; 82,90] * ($p = 0,0001$)	23,00 [17,10; 32,50] * ($p < 0,0001$)	3,25 [2,08; 4,84] * ($p = 0,0008$)	99,89 [70,60; 216,69] * ($p = 0,0003$)
Высокая реактивность				
Контроль ($n = 29$)	36,40 [30,40; 49,35]	63,60 [50,65; 69,60]	0,57 [0,44; 0,97]	55,73 [38,60; 72,75]
Активный ортостаз ($n = 29$)	82,65 [74,78; 88,80] * ($p < 0,0001$) # ($p = 0,05$)	17,35 [11,20; 25,23] * ($p < 0,0001$) # ($p = 0,05$)	4,75 [2,96; 7,96] * ($p < 0,0001$) # ($p = 0,05$)	205,49 [145,30; 265,42] * ($p < 0,0001$) # ($p = 0,03$)

Примечание: * — статистически значимые различия с контролем ($p \leq 0,05$); # — статистически значимые различия отклонения показателей ВСР у испытуемых с нормальной и высокой симпатической реактивностью ($p \leq 0,05$).

Table 1

Heart rate variability with active orthostasis in men depending on the reactivity of the sympathetic nervous system, Me [Q1; Q3]

Body position	HRV indicator			
	LFnorm, n. u.	HFnorm, n. u.	LF/HF, c. u.	SI, c. u.
Normal reactivity				
Control (n = 21)	41.50 [33.30; 55.40]	58.50 [44.60; 67.70]	0.71 [0.50; 1.24]	41.17 [34.59; 56.97]
Active orthostasis (n = 21)	77.00 [67.50; 82.90] * (p = 0.0001)	23.00 [17.10; 32.50] * (p < 0.0001)	3.25 [2.08; 4.84] * (p = 0.0008)	99.89 [70.60; 216.69] * (p = 0.0003)
High reactivity				
Control (n = 29)	36.40 [30.40; 49.35]	63.60 [50.65; 69.60]	0.57 [0.44; 0.97]	55.73 [38.60; 72.75]
Active orthostasis (n = 29)	82.65 [74.78; 88.80] * (p < 0.0001) # (p = 0.05)	17.35 [11.20; 25.23] * (p < 0.0001) # (p = 0.05)	4.75 [2.96; 7.96] * (p < 0.0001) # (p = 0.05)	205.49 [145.30; 265.42] * (p < 0.0001) # (p = 0.03)

Note: * – statistically significant differences with control ($p \leq 0.05$); # – statistically significant differences in the deviation of HRV indicators in subjects with normal and high sympathetic reactivity ($p \leq 0.05$).

Это свидетельствует об отклонении вегетативно-го равновесия в сторону симпатических влияний [17, 18]. Изменения в большей степени выражены у студентов с высокой симпатической реактивностью, чем с нормальной.

При высокой симпатической реактивности в результате активного ортостаза отмечается прирост индекса напряжения регуляторных систем. ЧСС увеличивается до 98,65 [91,95; 103,48] уд/мин по сравнению с контрольным значением, составляющим 63,20 [58,73; 70,25] уд/мин ($p < 0,0001$). Также происходит укорочение средней продолжительности кардиоинтервалов, которая в горизонтальном положении соответствует 949,00 [853,75; 1022,25] мс, а при активном ортостазе — 608,00 [580,00; 652,50] мс ($p < 0,0001$).

У студентов с нормальной симпатической реактивностью изменения выражены в меньшей степени. Так, ЧСС в контроле составляет 65,80 [56,60; 74,60] уд/мин, а при активном ортостазе увеличивается до 86,30 [78,20; 91,90] уд/мин ($p < 0,0001$). Средняя продолжительность кардиоинтервала укорачивается до 695,00 [653,00; 767,00] мс по сравнению с 913,00 [805,00; 1059,00] мс в горизонтальном положении ($p < 0,0001$). То есть у испытуемых с высокой симпатической реактивностью ЧСС увеличивается на 31,60 [29,10; 34,90] уд/мин, RRNN уменьшается

на 341,00 [–361,75; –265,00] мс, что больше, чем у лиц с нормальной реактивностью, при которой увеличение ЧСС составляет 20,50 [18,00; 22,10] уд/мин, а снижение RRNN — 218,00 [–290; –156] мс ($p < 0,0001$, $p = 0,0001$ соответственно).

Пассивный ортостаз также у всех испытуемых приводит к активации симпатических механизмов регуляции ритма сердца. У студентов отмечается увеличение ЧСС, укорочение среднего и медианного значения кардиоинтервала, что при высокой реактивности симпатического отдела ВНС выражено в большей степени, чем у испытуемых с нормальной реактивностью, как и снижение доли высокочастотного компонента в суммарной мощности спектра ВСР (табл. 2). Кроме того, у лиц с высокой реактивностью симпатических центров в результате пассивного ортостаза отмечается уменьшение рNN50 до 20,50 [15,30; 36,20] % при фоновом значении показателя, составляющем 33,70 [24, 30; 40,50] % ($p = 0,005$). Индекс симпатовагального взаимодействия увеличивается до 1,17 [0,56; 1,60] у. е. по сравнению с 0,64 [0,39; 0,87] у. е. в контроле ($p = 0,0009$).

Пассивный антиортостаз у студентов с нормальной реактивностью симпатического отдела ВНС сопровождается уменьшением показателя адекватности процессов регуляции, который в горизон-

тальном положении составляет 41,70 [36,80; 55,30] у.е., а при пассивном антиортостазе — 36,70 [29,60; 47,60] у.е. ($p = 0,01$). Это указывает на снижение активности пейсмекерных клеток синоатриального узла проводящей системы сердца. В связи с этим наблюдается увеличение вариативности временных рядов кардиоинтервалов, о чём говорит уменьшение амплитуды моды и расширение эллипса скаттеро-

граммы. Амплитуда модального R-R интервала в горизонтальном положении равна 35,00 [30,50; 40,20] %, а при пассивном антиортостазе она уменьшается до 33,40 [27,10; 43,70] % ($p = 0,04$). Ширина эллипса скаттерограммы увеличивается до 91,00 [50,00; 114,00] мс по сравнению с 79,00 [49,00; 96,00] мс в контроле ($p = 0,04$).

Таблица 2

Вариабельность ритма сердца при пассивном ортостазе у мужчин в зависимости от реактивности симпатической нервной системы, Me [Q1; Q3]

Положение тела	Показатель ВСР			
	ЧСС, уд/мин	RRNN, мс	Me, с	HF, %
Нормальная реактивность				
Контроль (n = 21)	62,95 [58,90; 66,90]	939,00 [889,00; 1010,00]	0,94 [0,89; 1,00]	46,30 [31,70; 54,70]
Пассивный ортостаз (n = 21)	64,00 [61,10; 70,00] * ($p = 0,01$)	941,00 [869,00; 1027,00] * ($p = 0,04$)	0,95 [0,86; 1,02] * ($p = 0,03$)	39,10 [29,10; 44,40] * ($p = 0,04$)
Высокая реактивность				
Контроль (n = 29)	61,70 [59,30; 69,60]	973,00 [862,00; 1012,00]	0,98 [0,86; 1,02]	40,10 [30,00; 52,40]
Пассивный ортостаз (n = 29)	65,40 [63,60; 71,30] * ($p = 0,0001$) # ($p = 0,0002$)	918,00 [841,00; 944,00] * ($p < 0,0001$) # ($p = 0,0004$)	0,92 [0,84; 0,96] * ($p = 0,0001$) # ($p = 0,002$)	24,50 [18,00; 44,50] * ($p = 0,001$) # ($p = 0,03$)

Примечание: * — статистически значимые различия с контролем ($p \leq 0,05$); # — статистически значимые различия отклонения показателей ВСР у испытуемых с нормальной и высокой симпатической реактивностью ($p \leq 0,05$).

Table 2

Heart rate variability in passive orthostasis in men depending on the reactivity of the sympathetic nervous system, Me [Q1; Q3]

Body position	HRV indicator			
	HR, bpm	RRNN, ms	Me, s	HF, %
Normal reactivity				
Control (n = 21)	62.95 [58.90; 66.90]	939.00 [889.00; 1010.00]	0.94 [0.89; 1.00]	46.30 [31.70; 54.70]
Passive orthostasis (n = 21)	64.00 [61.10; 70.00] * ($p = 0.01$)	941.00 [869.00; 1027.00] * ($p = 0.04$)	0.95 [0.86; 1.02] * ($p = 0.03$)	39.10 [29.10; 44.40] * ($p = 0.04$)
High reactivity				
Control (n = 21)	61.70 [59.30; 69.60]	973.00 [862.00; 1012.00]	0.98 [0.86; 1.02]	40.10 [30.00; 52.40]
Passive orthostasis (n = 21)	65.40 [63.60; 71.30] * ($p = 0.0001$) # ($p = 0.0002$)	918.00 [841.00; 944.00] * ($p < 0.0001$) # ($p = 0.0004$)	0.92 [0.84; 0.96] * ($p = 0.0001$) # ($p = 0.002$)	24.50 [18.00; 44.50] * ($p = 0.001$) # ($p = 0.03$)

Note: * — statistically significant differences with control ($p \leq 0.05$); # — statistically significant differences in the deviation of HRV indicators in subjects with normal and high sympathetic reactivity ($p \leq 0.05$).

Подобные изменения ВСП свидетельствует об увеличении парасимпатических влияний на сердечный ритм у испытуемых с нормальной симпатической реактивностью. У студентов с высокой симпатической реактивностью ВСП при пассивном антиортостазе не изменяется.

Анализ особенностей ВСП в зависимости от реактивности парасимпатической нервной системы показал, что при активном ортостазе у испытуемых с высокой реактивностью парасимпатических центров индекс напряжения регуляторных систем увеличивается в меньшей степени, чем у студентов с нормальной и низкой реактивностью (табл. 3).

Максимальный прирост показателя адекватности процессов регуляции отмечается у лиц с низкой

парасимпатической реактивностью по сравнению с испытуемыми других групп. Возбуждение симпатических кардиальных центров у испытуемых с низкой парасимпатической реактивностью сопровождается увеличением ЧСС до 106,80 [101,00; 108,70] уд/мин по сравнению с фоновым значением, равным 73,50 [67,60; 82,40] уд/мин ($p=0,007$). Отклонение составляет 33,30 [31,40; 37,00] уд/мин. Это больше, чем у студентов с нормальной парасимпатической реактивностью, у которых ЧСС увеличивается на 28,35 [20,63; 29,80] уд/мин ($p=0,004$). В контроле при нормальной реактивности сердце сокращается с частотой 63,45 [56,73; 69,75] уд/мин, а при активном ортостазе — 91,80 [82,83; 98,50] уд/мин ($p<0,0001$).

Таблица 3

Вариабельность ритма сердца при активном ортостазе у мужчин в зависимости от реактивности парасимпатической нервной системы, Ме [Q1; Q3]

Положение тела	Показатель ВСП	
	SI, у.е.	ПАПР, у.е.
Нормальная реактивность		
Контроль (n = 33)	47,63 [36,50; 72,75]	35,80 [30,75; 42,50]
Активный ортостаз (n = 33)	193,57 [102,89; 257,50] * ($p<0,0001$)	72,25 [49,88; 85,73] * ($p<0,0001$)
Низкая реактивность		
Контроль (n = 9)	58,22 [43,06; 59,51]	53,90 [38,00; 57,50]
Активный ортостаз (n = 9)	295,30 [107,34; 366,44] * ($p = 0,01$); # ($p = 0,03$)	95,60 [90,50; 107,40] * ($p = 0,01$); ^ ($p = 0,04$); # ($p = 0,05$)
Высокая реактивность		
Контроль (n = 8)	42,47 [31,63; 53,11]	37,15 [29,38; 41,40]
Активный ортостаз (n = 8)	133,83 [78,22; 160,62] * ($p = 0,01$); < ($p = 0,01$)	67,40 [48,85; 81,75] * ($p = 0,01$)

Примечание: * — статистически значимые различия с контролем ($p \leq 0,05$); ^ — статистически значимые различия отклонения показателей у испытуемых с нормальной и низкой реактивностью; < — статистически значимые различия отклонения показателей у испытуемых с нормальной и высокой реактивностью; # — статистически значимые различия отклонения показателей у испытуемых с низкой и высокой реактивностью ($p \leq 0,05$).

Table 3

Heart rate variability with active orthostasis in men depending on the reactivity of parasympathetic nervous system, Me [Q1; Q3]

Body position	HRV indicator	
	SI, c. u.	PAPR, c. u.
Normal reactivity		
Control (n = 33)	47.63 [36.50; 72.75]	35.80 [30.75; 42.50]
Active orthostasis (n = 33)	193.57 [102.89; 257.50] * ($p<0.0001$)	72.25 [49.88; 85.73] * ($p<0.0001$)
Low reactivity		
Control (n = 9)	58.22 [43.06; 59.51]	53.90 [38.00; 57.50]
Active orthostasis (n = 9)	295.30 [107.34; 366.44] * ($p = 0.01$); # ($p = 0.03$)	95.60 [90.50; 107.40] * ($p = 0.01$); ^ ($p = 0.04$); # ($p = 0.05$)
High reactivity		
Control (n = 8)	42.47 [31.63; 53.11]	37.15 [29.38; 41.40]
Active orthostasis (n = 8)	133.83 [78.22; 160.62] * ($p = 0.01$); < ($p = 0.01$)	67.40 [48.85; 81.75] * ($p = 0.01$)

Note: * — statistically significant differences with control ($p \leq 0.05$); ^ — statistically significant differences in the deviation of indicators in subjects with normal and low reactivity; < — statistically significant differences in the deviation of indicators in subjects with normal and high reactivity; # — statistically significant differences in the deviation of indicators in subjects with low and high reactivity ($p \leq 0.05$).

У лиц с высокой реактивностью ЧСС увеличивается до 90,55 [83,90; 97,15] уд/мин по сравнению с 64,15 [61,10; 68,15] уд/мин в горизонтальном положении ($p=0,01$). Отклонение составляет 26,40 [20,23; 30,73] уд/мин, что достоверно ниже, чем при низкой парасимпатической реактивности ($p=0,02$). У испытуемых с низкой парасимпатической реактивностью отмечается укорочение минимального кардиоинтервала. В контроле он составляет 631,00 [614,00; 733,00] мс, при активном ортостазе — 493,00 [470,00; 508,00] мс ($p=0,007$). Это изменение более выражено, чем у лиц с нормальной реактивностью, у которых R-Rmin в горизонтальном положении равен 709,00 [648,25; 788,50] мс, а при активном ортостазе — 570,00 [522,25; 599,75] мс ($p=0,0003$). Отклонение R-Rmin составляет -233,50 [-265,75; -149,50] мс при низкой реактивности и -155 [-210,00; -95,75] мс при нормальной ($p=0,02$).

В результате пассивного ортостаза в спектрограмме испытуемых с низкой парасимпатической реактивностью отмечается снижение доли мощности спектра в диапазоне высоких частот до 18,80 [16,50; 24,62] % по сравнению со значением в контроле, равным 43,50 [36,50; 48,63] %, ($p=0,01$), увеличение доли сверхнизкочастотного компонента, которая в горизонтальном положении составляет 28,85 [21,00; 34,80] %, а при пассивном ортостазе — 46,20 [40,32; 59,00] % ($p=0,01$). Также происходит уменьшение модального кардиоинтервала от 0,85 [0,79; 0,98] с до 0,79 [0,77; 0,92] с ($p=0,01$). Изменение этих показателей при низкой парасимпатической ре-

активности выражено в большей степени, чем у лиц с нормальной реактивностью, у которых доля мощности HF компонента в контроле составляет 39,35 [30,35; 51,98] %, а при пассивном ортостазе — 34,70 [20,50; 46,78] % ($p=0,01$). Доля мощности VLF составляющей спектра в контроле — 28,60 [22,53; 43,65] %, а при пассивном ортостазе — 37,10 [25,88; 50,90] % ($p=0,006$). Величина модального кардиоинтервала у испытуемых с нормальной реактивностью парасимпатических центров уменьшается до 0,95 [0,88; 1,03] с по сравнению с фоновым значением, составляющим 0,99 [0,90; 1,05] с ($p=0,007$). Пассивный ортостаз у всех испытуемых сопровождается увеличением частоты сердечных сокращений и укорочением продолжительности кардиоинтервалов, при этом отношение длины эллипса скаттерограммы к её ширине становится больше (L/w) (табл. 4).

При пассивном антиортостазе у испытуемых с нормальной парасимпатической реактивностью отмечается снижение доли сверхнизкочастотного компонента в общей мощности спектра ВСП до 28,05 [17,13; 41,33] % по сравнению с контрольным значением, равным 30,15 [22,65; 43,65] %, ($p=0,03$). Это указывает на снижение активности симпатических регуляторных механизмов. У студентов с высокой парасимпатической реактивностью при пассивном антиортостазе возрастает максимальное значение мощности спектра в диапазоне высоких частот, которое в горизонтальном положении составляет 46,25 [21,35; 86,60] мс²/Гц*1000, а при пассивном антиортостазе — 61,10 [44,23; 112,95] мс²/Гц*1000 ($p=0,04$).

Таблица 4

**Вариабельность ритма сердца при пассивном ортостазе у мужчин
в зависимости от реактивности парасимпатической системы, Me [Q1; Q3]**

Положение тела	Показатель ВСП		
	ЧСС, уд/мин	RRNN, мс	L/w, у.е.
Нормальная реактивность			
Контроль (n = 33)	60,90 [57,45; 66,63]	985,50 [901,00; 1044,00]	1,67 [1,26; 2,08]
Пассивный ортостаз (n = 33)	63,95 [58,78; 68,65] * ($p=0,0006$)	939,00 [874,25; 1020,75] * ($p=0,005$)	1,97 [1,64; 2,76] * ($p=0,01$)
Низкая реактивность			
Контроль (n = 9)	71,50 [61,98; 73,08]	839,50 [811,50; 968,50]	1,55 [1,48; 2,26]
Пассивный ортостаз (n = 9)	75,30 [66,52; 78,35] * ($p=0,01$)	797,00 [766,25; 902,25] * ($p=0,04$)	2,36 [2,19; 2,79] * ($p=0,03$)

Окончание табл. 4

Положение тела	Показатель ВСР		
	ЧСС, уд/мин	RRNN, мс	L/w, у.е.
Высокая реактивность			
Контроль (n = 8)	62,95 [61,10; 68,05]	953,50 [882,00; 982,75]	1,51 [1,32; 1,72]
Пассивный ортостаз (n = 8)	65,70 [63,45; 69,83] * (p = 0,01)	914,50 [859,25; 945,00] * (p = 0,01)	1,80 [1,72; 2,31] * (p = 0,01)

Примечание: * – статистически значимые различия с контролем ($p \leq 0,05$); ^ – статистически значимые различия отклонения показателей у испытуемых с нормальной и низкой реактивностью; « – статистически значимые различия отклонения показателей у испытуемых с нормальной и высокой реактивностью; # – статистически значимые различия отклонения показателей у испытуемых с низкой и высокой реактивностью ($p \leq 0,05$).

Table 4

Heart rate variability in passive orthostasis in men depending on the reactivity of the parasympathetic system, Me [Q1; Q3]

Body position	HRV indicator		
	HR, bpm	RRNN, ms	L/w, c. u.
Normal reactivity			
Control (n = 33)	60.90 [57.45; 66.63]	985.50 [901.00; 1044.00]	1.67 [1.26; 2.08]
Passive orthostasis (n = 33)	63.95 [58.78; 68.65] * (p = 0.0006)	939.00 [874.25; 1020.75] * (p = 0.005)	1.97 [1.64; 2.76] * (p = 0.01)
Low reactivity			
Control (n = 9)	71.50 [61.98; 73.08]	839.50 [811.50; 968.50]	1.55 [1.48; 2.26]
Passive orthostasis (n = 9)	75.30 [66.52; 78.35] * (p = 0.01)	797.00 [766.25; 902.25] * (p = 0.04)	2.36 [2.19; 2.79] * (p = 0.03)
High reactivity			
Control (n = 8)	62.95 [61.10; 68.05]	953.50 [882.00; 982.75]	1.51 [1.32; 1.72]
Passive orthostasis (n = 8)	65.70 [63.45; 69.83] * (p = 0.01)	914.50 [859.25; 945.00] * (p = 0.01)	1.80 [1.72; 2.31] * (p = 0.01)

Note: * – statistically significant differences with control ($p \leq 0.05$); ^ – statistically significant differences in the deviation of indicators in subjects with normal and low reactivity; « – statistically significant differences in the deviation of indicators in subjects with normal and high reactivity; # – statistically significant differences in the deviation of indicators in subjects with low and high reactivity ($p \leq 0.05$).

Также при высокой реактивности увеличивается ширина эллипса скаттерограммы до 111,00 [74,00; 138,75] мс при фоновом значении 95,00 [64,50; 131,50] мс ($p = 0,01$). Показатель адекватности процессов регуляции у испытуемых этой группы снижается до 32,10 [24,98; 47,03] у.е. по сравнению с контрольным значением 44,65 [31,25; 53,37] у.е. ($p = 0,01$). Это свидетельствует об активации пара-

симпатических механизмов регуляции. У испытуемых с низкой реактивностью пассивный антиортостаз изменений ритма сердца не вызывает.

Анализ результатов проведенного исследования показал наличие индивидуальных особенностей реагирования испытуемых на различные поструральные изменения, что в значительной степени определяется уровнем возбудимости центров вегетативной

нервной системы. Это согласуется с результатами работ ряда ученых [19, 20], что позволяет не только обосновать возможные варианты приспособительной реакции сердечно-сосудистой системы человека при изменении положения тела, но и использовать материалы настоящей работы в области спортивной медицины и реабилитологии.

Данное исследование имеет ряд ограничений: узкий возрастной диапазон ($19,35 \pm 0,21$ лет) и один пол (мужской) участников исследования.

Выводы

Таким образом, активный и пассивный ортостаз сопровождается возбуждением симпатических структур, участвующих в регуляции сердечного ритма, что в большей степени проявляется у лиц с высокой реактивностью симпатического отдела вегетативной нервной системы и низкой реактивностью парасимпатического. В результате пассивного антиортостаза у испытуемых с нормальной и высокой парасимпатической реактивностью, а также с нормальной реактивностью симпатической системы возрастает роль парасимпатических кардиальных центров в регуляции сердечного ритма. У лиц с высокой симпатической реактивностью и низкой парасимпатической реактивностью пассивный антиортостаз не приводит к изменению активности вегетативных кардиальных центров.

Библиографический список

1. Ермаков М.А., Казарцев В.В., Марченко А.Ю., Гаврилова Е.С., Астахов А.А. Ортостаз и антиортостаз как маркеры оценки регуляции гемодинамики тяжело больных // *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 3.
2. Курникова А.А., Потехина Ю.П., Филатов А.А., Калинина Е.А., Первушкин Э.С. Роль опорно-двигательного аппарата в поддержании постурального баланса: обзор литературы // *Российский остеопатический журнал*. 2019. Т. 46–47. № 3–4. С. 135–149. doi: 10.32885/2220-0975-2019-3-4-135-149.
3. Garg A., Xu D., Laurin A., Blaber A.P. Physiological interdependence of the cardiovascular and postural control systems under orthostatic stress // *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 2014. V. 307. № 2. P. 259–264. doi: 10.1152/ajpheart.00171.2014.
4. Тишутин Н.А., Кисель А.Д., Рубчяня И.Н. Взаимосвязь постурального баланса и вегетативной регуляции сердечного ритма спортсменов при выполнении двигательного-когнитивных тестов // *Ученые записки Белорусского государственного университета физической культуры*. 2021. № 24. С. 328–333.
5. Fadel P.J., Raven P.B. Human investigations into the arterial and cardiopulmonary baroreflexes during exercise. // *Experimental Physiology*. 2012. V. 97. № 1. P. 39–50. doi: 10.1113/expphysiol.2011.057554.
6. Иржак Л.И., Дерновой Б.Ф. Изменения кардиогемодинамики человека при постуральных пробах // *Известия Коми научного центра УрО РАН*. 2015. Т. 21. № 1. С. 44–47.
7. Fois M., Maule S.V., Giudici M., Valente M., Ridolfi L., Scarsoglio S. Cardiovascular Response to Posture Changes: Multiscale Modeling and in vivo Validation During Head-Up Tilt // *Frontiers in Physiology*. 2022. № 13. doi: 10.3389/fphys.2022.826989.
8. Whittle R.S., Keller N., Hall E.A., Vellore H.S., Stapleton L.M., Findlay K.H., Dunbar B.J., Diaz-Artiles A. Gravitational Dose-Response Curves for Acute Cardiovascular Hemodynamics and Autonomic Responses in a Tilt Paradigm // *Journal of the American Heart Association*. 2022. V. 14. № 11. doi: 10.1161/jaha.121.024175.
9. Плетнев А.А., Быков Е.В., Зинурова Н.Г., Чупышев А.В. Оценка переходных процессов гемодинамики спортсменов при ортопробе на основании анализа спектральных характеристик // *Современные проблемы науки и образования*. 2014. № 1.
10. Анисимов А.А., Белов А.В., Новикова Т.В., Сергеев Т.В., Суворов Н.Б., Шабров А.В. Комплекс инструментальных средств для регистрации показателей сердечно-сосудистой, нервной и дыхательной систем при постуральных воздействиях // *Вестник новых медицинских технологий*. 2022. Т. 29. № 1. С. 67–71. doi: 10.2441/2/1609-2163-2022-1-67-71.
11. Лесова Е.М., Самойлов В.О., Филиппова Е.Б. Зависимость сосудистых реакций от баланса регуляторных влияний на сердечный ритм при выполнении ортостатической пробы // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2017. N. 57. № 1. С. 101–104.
12. Ильютик А.В., Комарова А.А., Зубовский Д.К., Астахова А.Ю. Вариабельность сердечного ритма у студентов в зависимости от индекса массы тела // *Мир спорта*. 2018. N. 70. № 1. С. 77–82.
13. Shrestha B., Dunn L. The Declaration of Helsinki on Medical Research involving Human Subjects: A Review of Seventh Revision // *Journal of Nepal Health Research Council*. 2020. V. 17. № 4. P. 548–552. doi: 10.33314/jnhrc.v17i4.1042.
14. Skorlupkin D.A., Golubeva E.K., Yarchenkova L.L. Влияние положения тела на вариабельность ритма сердца в зависимости от особенностей тонуса центров вегетативной нервной системы // *Современные вопросы биомедицины*. 2023. Т. 7. № 2. doi: 10.51871/2588-0500_2023_07_02_.
15. Сурина-Марышева Е.Ф., Епишева А.А., Ермолаева Е.Н. Индивидуально-типологический подход в анализе вари-

бельности сердечного ритма хоккеистов 7–16 лет // Человек. Спорт. Медицина. 2022. Т. 22. № 3. С. 70–79. doi: 10.14529/hsm220309.

16. Караулова Л.В. О разработке алгоритма по выбору статистических критериев в медико-биологических исследованиях // Медицинское образование сегодня. 2019. N. 5. № 1. С. 61–71.

17. Sannino G., Melillo P., Stranges S., De Pietro G., Pecchia L. Short term Heart Rate Variability to predict blood pressure drops due to standing: a pilot study. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2015. № 15. doi: 10.1186/1472-6947-15-S3-S2.

18. Mohammadyari P., Gadda G., Taibi A. Modelling physiology of haemodynamic adaptation in short-term microgravity exposure and orthostatic stress on Earth // *Scientific reports*. 2021. V. 11. № 1. doi: 10.1038/s41598-021-84197-7.

19. Турманидзе А.В., Турманидзе В.Г., Калинина И.Н. Кардиоваскулярные тесты в оценке срочной адаптации сердечно-сосудистой системы бадминтонистов // *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 1.

20. Кальсина В.В., Кудря О.Н., Реуцкая Е.А. Оценка функционального состояния биатлонисток высокой квалификации по показателям вариабельности ритма сердца // *Ученые записки университета имени П.Ф. Лесгафта*. 2021. Т. 198. № 8. С. 111–118.

References

1. Ermakov MA, Kazartsev VV, Marchenko AYU, Gavrilova ES, Astakhov AA. Orthostasis and antiorthostasis as markers of hemodynamic regulation assessment in seriously ill patients. *Modern problems of science and education*. 2015;3. (In Russian).

2. Kournikova AA., Potekhina YuP, Filatov AA, Kalinina EA, Pervushkin ES. The role of the musculoskeletal system in maintaining postural balance: literature review. *Russian Osteopathic Journal*. 2019;3–4(46–47):135–149. doi: 10.32885/2220-0975-2019-3-4-135-149. (In Russian).

3. Garg A, Xu D, Laurin A, Blaber AP. Physiological interdependence of the cardiovascular and postural control systems under orthostatic stress. *American journal of physiology — Heart and circulatory physiology*. 2014;307(2):259–264. doi: 10.1152/ajpheart.00171.2014.

4. Tishutin NA, Kisel AD, Rubchenya IN. Interrelation of postural balance and autonomic regulation of athletes' heart rate when performing motor-cognitive tests. *Scientific notes of the Belarusian State University of Physical Culture*. 2021;24:328–333. (In Russian).

5. Fadel PJ, Raven PB. Human investigations into the arterial and cardiopulmonary baroreflexes during exercise. *Experimental Physiology*. 2012;97(1):39–50. doi: 10.1113/expphysiol.2011.057554.

6. Irzhak LI, Dernovoy BF. Changes in human cardiohemodynamics during postural tests. *Izvestiya Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2015;1(21):44–47. (In Russian).

7. Fois M, Maule SV, Giudici M, Valente M, Ridolfi L, Scarsoglio S. Cardiovascular Response to Posture Changes: Multiscale

Modeling and in vivo Validation During Head-Up Tilt. *Frontiers in Physiology*. 2022;13. doi: 10.3389/fphys.2022.826989.

8. Whittle RS, Keller N, Hall EA, Vellore HS, Stapleton LM, Findlay KH, Dunbar BJ, Diaz-Artiles A. Gravitational Dose-Response Curves for Acute Cardiovascular Hemodynamics and Autonomic Responses in a Tilt Paradigm. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11(14). doi: 10.1161/JAHA.121.024175.

9. Pletnev AA, Bykov EV, Zinurova NG, Chipyshev AV. Assessment of transient processes of hemodynamics of athletes during orthoprobe based on the analysis of spectral characteristics. *Modern problems of science and education*. 2014;1. (In Russian).

10. Anisimov AA, Belov AV, Novikova TV, Sergeev TV, Suvorov NB, Shabrov AV. A set of tools for recording indicators of the cardiovascular, nervous and respiratory systems under postural effects. *Bulletin of New Medical Technologies*. 2022;1:67–71. doi: 10.24412/1609-2163-2022-1-67-71. (In Russian).

11. Lesova EM, Samoilo V O, Filippova EB. Dependence of vascular reactions on the balance of regulatory influences on the heart rate when performing an orthostatic test. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2017;1(57):101–104. (In Russian).

12. Ilyutik AV, Komarova AA, Zubovsky DK, Astashova AYU. Heart rate variability in students depending on body mass index. *The world of sports*. 2018;1(70):77–82. (In Russian).

13. Shrestha B, Dunn L. The Declaration of Helsinki on Medical Research involving Human Subjects: A Review of Seventh Revision. *Journal of Nepal Health Research Council*. 2020;17(4):548–552. doi: 10.33314/jnhrc.v17i4.1042.

14. Skorlupkin DA, Golubeva EK, Yarchenkova LL. The influence of body position on heart rate variability depending on the characteristics of the tone of the centers of the autonomic nervous system. *Modern issues of biomedicine*. 2023;2. (In Russian). doi: 10.51871/2588-0500_2023_07_02_.

15. Surina-Marysheva EF, Episheva AA, Ermolaeva EN. Individual typological approach in the analysis of heart rate variability of hockey players aged 7–16 years. *Human. Sport. Medicine*. 2022;3:70–79. (In Russian). doi: 10.14529/hsm220309.

16. Karaulova LV. On the development of an algorithm for the selection of statistical criteria in biomedical research. *Medical education today*. 2019;1(5):61–71. (In Russian).

17. Sannino G, Melillo P, Stranges S, De Pietro G, Pecchia L. Short term Heart Rate Variability to predict blood pressure drops due to standing: a pilot study. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2015;15. doi: 10.1186/1472-6947-15-S3-S2.

18. Mohammadyari P, Gadda G, Taibi A. Modelling physiology of haemodynamic adaptation in short-term microgravity exposure and orthostatic stress on Earth. *Scientific reports*. 2021;11(1). doi: 10.1038/s41598-021-84197-7.

19. Turmanidze AV, Turmanidze VG, Kalinina IN. Cardiovascular tests in assessing the urgent adaptation of the cardiovascular system of badminton players. *Modern problems of science and education*. 2015;1. (In Russian).

20. Kalsina VV, Kudrya ON, Reutskaya EA. Assessment of heart rate variability. *Scientific notes of the P.F. Lesgaft University*. the functional state of highly qualified biathletes by indicators of 2021;8(198):111–118. (In Russian).

Ответственный за переписку: Скорлупкин Дмитрий Андреевич — аспирант кафедры нормальной физиологии Ивановской государственной медицинской академии, Российская Федерация, 153012, г. Иваново, Шереметевский пр-т, д. 8. E-mail: sk_dmit96@mail.ru.

Скорлупкин Д.А. SPIN 5232–5682; ORCID 0009–0001–2586–6711

Голубева Е.К. SPIN 1750–0121; ORCID 0000–0002–0664–4742

Ярченкова Л.Л. SPIN 3228–3480

Corresponding author: Skorlupkin Dmitry Andreevich — PhD student of the Department of Normal Physiology, Ivanovo State Medical Academy, 153012, Sheremetevsky pr-t, 8, Ivanovo, Russian Federation. E-mail: sk_dmit96@mail.ru.

Skorlupkin D.A. ORCID 0009–0001–2586–6711

Golubeva E.K. ORCID 0000–0002–0664–4742



DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-318-328

EDN: QGIMBP

REVIEW

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Techniques for assessing hearing loss in infants

Rajeev Soni^{ID}✉, Sudhanshu Kacker^{ID}, Neha Saboo^{ID}Rajasthan University of Health Sciences College of Medical Sciences, Jaipur, Rajasthan, India
✉ drrajeevsoni5@gmail.com

Abstract. The ability to hear is one of the five major senses that allows us to communicate effectively with others. Unfortunately, individuals frequently take their sense of hearing for granted, and they do not know how important it is until it is lost or compromised. Hearing loss was not a top concern for the Indian government until recently. Prevention, early diagnosis, and care can prevent half of all occurrences of deafness and hearing impairment. The auditory sense is critical for a child's brain development. This will also reduce the strain of hearing loss, preventing the loss of many potentially productive years. The most cost-effective strategy to lessen the burden of hearing loss is to screen new-borns and babies. Hearing loss is the most frequent sensory deficiency in people all over the world. The severity of hearing loss can range from mild to severe. Kapoor Set al. suggested that by screening, the condition is detected earlier than it would otherwise be diagnosed. Because of the urgent need to prevent infectious causes of mortality, neonates and new-borns are not regularly checked for any specific disease in India. The Department of Prevention of Communication Disorders of All India Institute of Speech and Hearing (AIISH) located in the Southern India, conducts infant screening for hearing disorder on regular basis in different hospitals attached to it using Behavioural Observational Audiometry, Otoacoustic Emissions (OAE) screening, and administering High Risk Register (HRR). In the year 2009–2010, a total of 12416 new-borns in 10 hospitals associated with AIISH were screened for hearing disorder. The following paragraphs deals with various issues related to the hearing screening of infants in India. Methodology of study was as we searched PubMed Central and Google Scholar for relevant articles with key words «hearing, screening, hearing loss and infants». Full-text articles were downloaded dated July 2022 to September 19, 2022. Relevance was judged according to articles describing theories of hearing screening of infants India. *Conclusion.* Hearing screening for new-borns is critical for detecting congenital hearing loss and providing early management. Every person has the right to live a healthy lifestyle. Hearing impairment, like communication disorders, begins early in life. Infants with hearing loss will only be able to reach their full potential as fully active, contributing, and integrated members of society if systematic early screening programmes are implemented. Hearing screening for new-borns is critical for detecting congenital hearing loss. The AABR is considered necessary for HRNHS in high-risk new-borns (prematurity, anoxia, hyperbilirubinemia) who are at risk of auditory neuropathy that cannot be detected using the OAE test. The OAE test is faster and easier to conduct, but it has a larger false positive rate than the AABR. The ideal hearing procedure is still being developed. As a result, the hearing screening technique should be adapted to the specific demands of each centre.

© Soni R., Kacker S., Saboo N., 2023

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

Key words: hearing, screening, hearing loss, infants

Funding. The authors received no financial support for this research, authorship, and publication of this review article.

Author contributions. Soni R. — research concept, search the literature; Kacker S. —internal review; Saboo N. — text writing and conceptual review. All authors read and approved the final manuscript.

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

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Ethics approval — not applicable.

Received 12.02.2023. Accepted 15.03.2023.

For citation: Soni R, Kacker S, Saboo N. Techniques for assessing hearing loss in infants. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):318—328. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-318-328

Introduction

The ability to hear is one of the five major senses that allows us to communicate effectively with others. Unfortunately, individuals frequently take their sense of hearing for granted, and they do not know how important it is until it is lost or compromised. Hearing loss was not a top concern for the Indian government until recently. With the establishment of the National Program for the Prevention and Control of Deafness (NPPCD), there is a renewed focus on this massive public health issue. Age, excessive noise exposure, head and ear injuries, use of ototoxic medicines, infectious disorders such as meningitis, measles, mumps, and chronic ear infections, and congenital anomalies are all common causes of hearing loss. Prevention, early diagnosis, and care can prevent half of all occurrences of deafness and hearing impairment. The auditory sense is critical for a child's brain development. Early detection of hearing loss will prevent the problem from becoming out of hand. This will also reduce the strain of hearing loss, preventing the loss of many potentially productive years. The most cost-effective strategy to lessen the burden of hearing loss is to screen new-borns and babies.

Hearing loss is the most frequent sensory deficiency in people all over the world. The severity of hearing loss

can range from mild to severe [1]. According to World Health Organization estimates from 2012, moderate to profound hearing loss is a debilitating illness that affects 360 million individuals globally [2]. Hearing loss is the second most prevalent cause of years lived with disability (YLD), accounting for 4.7 percent of overall YLD, according to Mathers C et al [3]. According to the widely cited prevalence figures for India, 6.3 percent of Indians have significant hearing loss [4]. Garg S. et al. suggested that Hearing loss is more common in rural settings than in urban areas [5]. According to the 58th round of the National Sample Survey Organization survey in 2002, there are 291 people per 100,000 who have severe to profound hearing loss. Children aged 0–14 years make up a large portion of this group. According to the report, around 7 % of persons have a congenital hearing loss [6]. Deafness acquired as a youngster has a significant influence on an individual's social, economic, and productive life. Simultaneously, there is a significant human resource shortage in health care to tackle this issue. The Indian government has chosen primary health care (PHC) as the preferred option for providing and implementing deafness prevention.

The term «hearing impairment» (synonyms: «hardness of hearing,» «hypoacusis») refers to a loss

of hearing capacity in the broadest sense, ranging from barely perceptible abnormalities to complete deafness. An interruption of sound conduction to the inner ear, sound perception by the sensory cells of the cochlea, or sound processing in the cochlear nerves, auditory pathway, or cortical auditory centres causes hearing impairment. As a result, hearing loss is a sign of a variety of disorders that damage the auditory organs. It differs from other hearing problems such hyperacusis (sound sensitivity), fluctuating hearing, and tinnitus.

Hearing loss in world and India Kapoor S. et al. suggested that by screening, the condition is detected earlier than it would otherwise be diagnosed. Because of the urgent need to prevent infectious causes of mortality, neonates and new-borns are not regularly checked for any specific disease in India. Though India has succeeded in decreasing death rates, the burden of disability has not decreased; in fact, it has increased over time [7]. Many disabilities can be avoided if we have a proper screening program. Nagapoornima P. et al. suggested that out of every 1000 children born in India, there may be 5–6 such children who cannot hear properly [8]. Cunningham M. et al. suggested the overall estimates prevalence of hearing loss in new-born are between 1 and 6 per 1,000 new-borns [9]. Mukherjee SS et al. suggested that the prevalence of hearing impairment in high-risk infants. Taking BERA out of 87 high risk infants 10.34 % had bilateral severe to profound hearing loss, 17.24 % had bilateral mild to moderate hearing loss and 12.64 % had impaired hearing in one ear [10]. Because there are no visible clues, most hearing-impaired children who are not examined at birth are not detected until they are between the ages of 1.5 and 3, far after the key period for normal speech and language development has passed. A hearing challenged infant can be discovered and treated early with the help of neonatal hearing screening. In this instance, the infant will most likely develop language, communication, and social skills on level with his or her normal hearing peers, avoiding hearing loss-related problems for the rest of his or her life [11]. In India, there has never been a large-scale initiative to test new-borns or babies for hearing abnormalities. The Department of Prevention

of Communication Disorders of All India Institute of Speech and Hearing (AIISH) located in the Southern India, conducts infant screening for hearing disorder on regular basis in different hospitals attached to it using Behavioural Observational Audiometry, Otoacoustic Emissions (OAE) screening, and administering High Risk Register (HRR). In the year 2009–2010, a total of 12416 new-borns in 10 hospitals associated with AIISH were screened for hearing disorder. Of them, 1010 infants were referred for further checkup [12]. The following paragraphs deals with various issues related to the hearing screening of infants in India.

Time of screening. The Joint Committee on Infant Hearing has recommended universal hearing screening by in month of age, diagnosis of hearing loss by 3 months of age, and enrolment in early intervention by 6 months of age [13]. Similar formula can be followed in India with best screening of every child delivered in a health centre before discharging the mother and child.

The aim of this review was to make clear picture of which screening technique will be helpful in hearing loss screening.

Screening techniques

Historical context

Sir Alexander and Lady Ewing in Great Britain were among the first to investigate systematically infant responses to auditory stimuli for purposes of hearing screening. Their technique involved observation of the infant's response to common sounds such as noisemakers, toys, crumpled paper, and the human voice. Ewing and Ewing observed and described a classic unconditioned orienting response to sound including eye-shifts and head turns in the direction of the stimulus [14].

Froeschels and Beebe provided early investigations of hearing in new-born infants. They reported that new-born infants responded to whistles but not to tuning forks. The most commonly observed response was the «acoustopalpebral reflex» (blinking). These investigators encouraged use of hearing tests during the new-born period and at monthly intervals thereafter to detect hearing loss early in life [15].

Hardy et al. also evaluated new-born responses to a «clacker,» a doorbell, and a «tonette,» each producing a moderately-loud (e.g., 61–80 dB SPL) sound at a distance of three feet from the infant's ear. Their criterion response was a complete or partial Moro response. These investigators reported that new-born infants responded best to the «clacker,» a custom-made device that produced a broad-spectrum signal [16].

Early «objective» techniques for UNHS

Observing the behaviour of new-borns in reaction to sound is susceptible to observer bias.

To eliminate observer bias and enhance test reliability Simmons and Russ described the crib-o-gram, a new-born hearing screening device that automated detection of new-born reaction to sound, to minimise observer bias and improve test reliability. In the crib-o-gram, a motion detector was placed beneath the infant's mattress. The detector was connected to a strip-chart recorder or, in later models, an electronic chip that compared the infant's movement in response to a sound stimulus to movement during silent intervals [17]. Durieux-Smith et al. suggested that the crib-o-gram contributed fundamental ideas of unbiased observation and automated reaction detection to UNHS, while being unreliable in neonatal intensive care unit population and unworkable for short-stay well-baby populations [18]. The auditory response cradle (ARC) included physiologic response detection in the study of new-born infants' behavioural responses. The ARC was developed in the 1970s in the United Kingdom and it examined motor response to sound as well as detection of changes in the infant's heart rate and breathing [18–20].

Current universal neonatal hearing screening methods practice

According to Narendra Rai et al., the significant prevalence of hearing loss necessitates the establishment of universal neonatal hearing screening (UNHS). In light of our country's economic constraints, we may begin by screening «at risk» populations [21].

Newborn hearing screening (NHS) is the process of diagnosing hearing loss in newborns using

electrophysiological methods such as brainstem evoked response audiometry (BERA) and/or otoacoustic emission (OAE) [22, 23].

Both the ABR and OAEs have benefits and limitations, and the team of specialists in charge of implementing UNHS in any given setting should choose the best approach based on the population to be tested and the testing environment

Auditory brainstem response

Both Israeli and American scientists first characterised the ABR in the late 1960s and early. The origins of the numerous response components, the effects of maturation and gender on the response, and therapeutic applications for audiologic and neurologic objectives were all investigated in the beginning [24, 25].

Schulman-Galambos and Galambos, introduced its application in newborn hearing screening [26].

The auditory brainstem response, also known as an auditory evoked potential, is an electrophysiologic response to an acoustic stimulus recorded from the auditory and central nervous systems. Surface electrodes placed to the subject's scalp can capture a series of auditory evoked potentials. The latency of these potentials, or the time it takes for them to appear after auditory stimulation, is usually used to classify them. The auditory brainstem response (ABR) is one of the first auditory evoked potentials, occurring within 20 milliseconds of sound stimulation. To detect any auditory evoked potential, including the ABR, certain stimulus and recording settings are required.

The ABR is derived from components in the eighth nerve and the brainstem auditory system. Within the first 20 milliseconds following stimulation by a short-duration, broad-spectrum auditory stimulus, often a click, this modest amplitude (less than 1.0 microvolt) response is recorded. Because the reaction is time-locked to the stimulus, automated signal-averaging algorithms may extract it from the subject's continuing electroencephalogram (EEG). Responses to more than 1,500 stimuli provided at rapid click rates (e.g., 10 to 30 clicks/second) are averaged at close-to-threshold

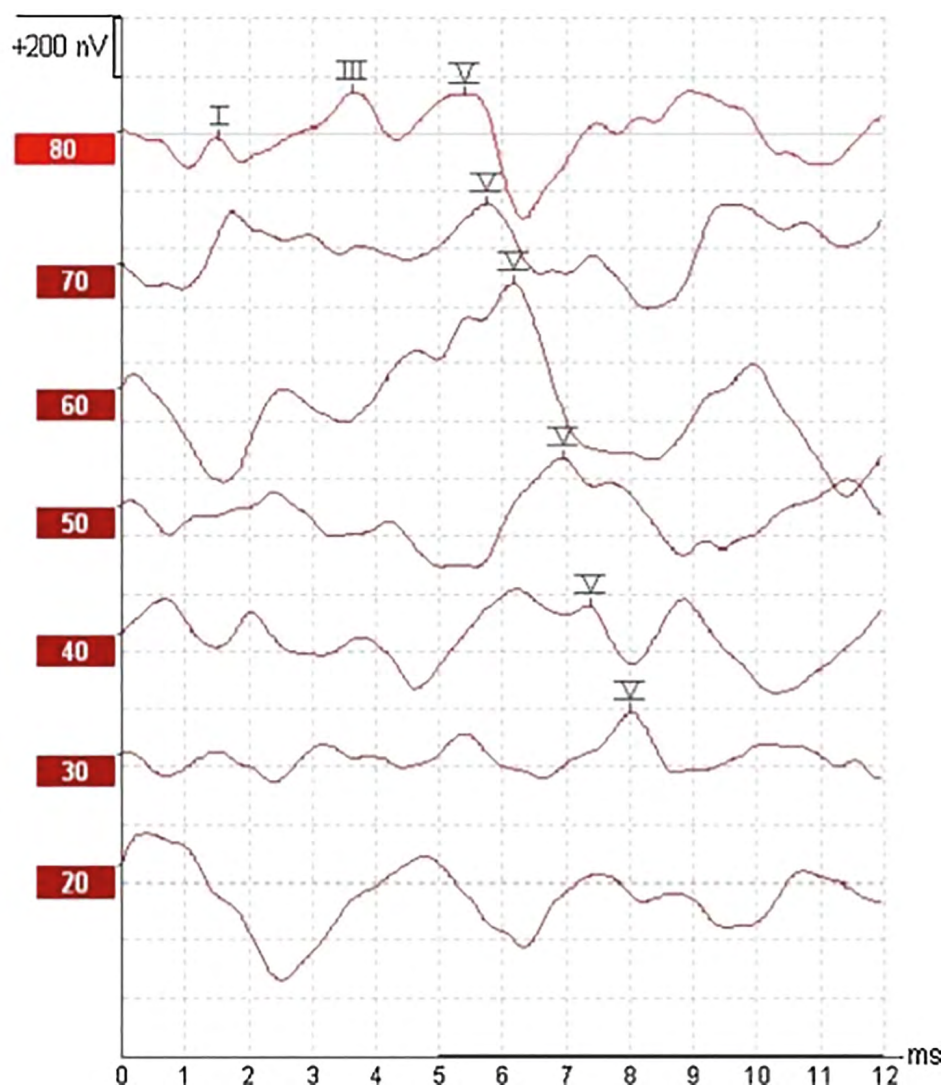


Fig. 1. Objective hearing threshold determination. Wave V remains visible up to 30 dB HL, defining this patient's threshold. ABRs reliably explore only between 2000 and 4000 Hz [30]

intensities to produce a clearly recognisable waveform (Fig. 1).

As a technique for UNHS, A-ABR provides a number of advantages. It's a well-established procedure with well-defined response characteristics. In newborn and preterm neonates, the reaction is consistently present. Specific elements such as maturation, peripheral and central auditory abnormalities, subject condition, and physiologic variables have well-defined effects on response.

According to Herrmann et al and Sininger et al. the ABR is obtained by automatic response detection

technologies such as template matching or calculation of the noise vs. noise plus signal variance ratio, which eliminates observer bias and allows the test to be conducted by nonprofessional screening personnel [27, 28].

Finally, because the response is generated by both sensory (cochlea) and neural (eighth nerve and brainstem structures and path ways) components of the auditory system, A-ABR screening will detect infants with auditory neuropathy, a relatively uncommon but important disorder [29].

The use of A-ABR for UNHS has a few drawbacks

Gorga et al. and Vohr et al. suggested that there are just a few drawbacks to adopting A-ABR for UNHS. Some manufacturers' disposable supplies are quite expensive, increasing the overall cost of screening per baby [31, 32]. Norton et al., 2001c suggested that the Test time is longer by several minutes than test time for OAE screening; longer test time is largely related to preparation for electrode application [33].

Gorga M. et al and Kileny P.R. et al suggested that the ABR response generated by a click corresponds well with hearing sensitivity in the 2k-4k Hz frequency range, but only moderately with hearing sensitivity below 1k Hz [34, 35]. So low-frequency hearing loss, an atypical audiometric configuration, may thus be missed by A-ABR screening.

Otoacoustic emissions

Acoustic signals generated by the cochlea either spontaneously or in response to sound stimulation are known as otoacoustic emissions. As part of the

natural hearing process, movement of the outer hair cells (OHC) creates OAEs. As a result, OAEs may be thought of as «cochlear energy» that travels via the middle ear and external ear canal. This cochlear energy might be detected using a sensitive tiny microphone sealed inside the subject's external ear canal. OAEs are produced both spontaneously and in response to auditory stimulus. Because spontaneous OAEs are not consistently present in all people with normal hearing, they are not currently employed in clinical audiology.

European scientists were reporting the presence of highly distinct OAEs in infants [36]. Early studies found that OAEs are consistently present in premature and newborn infant, infant OAEs are typically larger in amplitude than adult or even child OAEs and OAEs in new-borns are best obtained 48 hours or longer after birth [37–41].

The type of auditory signal used to elicit a response is usually used to classify evoked otoacoustic emissions (Fig.2).

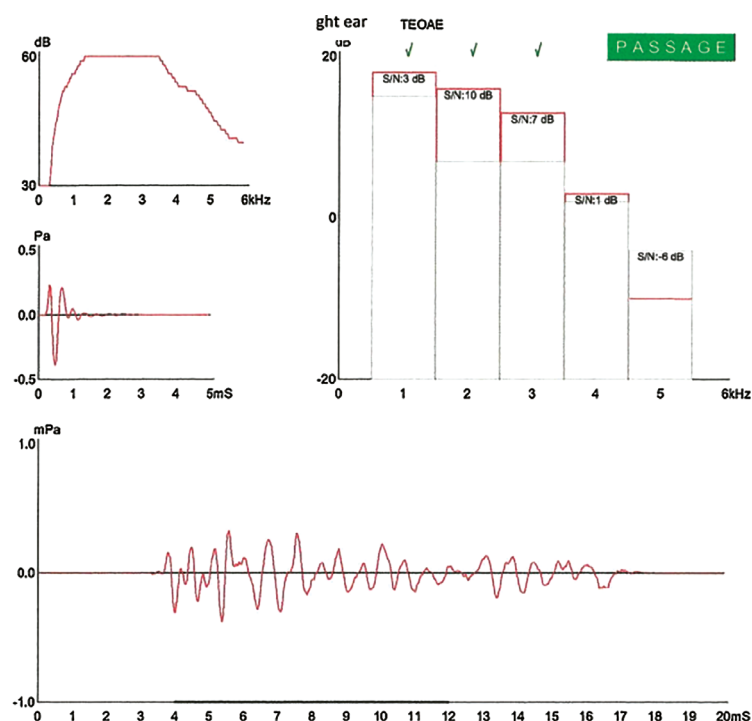


Fig. 2. Right-side transient evoked otoacoustic emissions, indicating normal right-ear hearing [30]

Transient evoked OAEs (TEOAEs), which are stimulated by a short duration acoustic transient such as a click or tone burst, and distortion product OAEs (DPOAEs), which are stimulated by two continuous pure tones delivered to the ear at the same time, have both proven therapeutic uses. DPOAEs are the result of the inner ear's natural asymmetrical amplification process. Similar to A-ABR, using OAEs in UNHS provides various advantages. It's a tried-and-true approach with well-understood response characteristics. The response is always present in new-borns and preterm new-borns. Specific factors affecting response include maturation, peripheral auditory abnormalities, subject condition, and physiologic variables. OAEs may be obtained using automated methods, which eliminate observer bias and allow nonprofessional screening employees to do the test.

Using OAEs in UNHS provides a number of benefits. It's a tried-and-true approach with well-understood response characteristics. The test is non-invasive, requires no special subject preparation (e.g., electrode attachment), and provides low risk to the new-born.

There are few disadvantages in using OAEs for UNHS. According to Vohr et al., there is a higher refer rates in the first 24 hours of life result in higher follow-up costs and unnecessary parental anxiety [42]. Because these refer rates are frequently associated with transient external or middle ear conditions that do not produce significant hearing loss, detection of infants with these conditions does not contribute to the goal of UNHS.

The discovery of new-borns with these disorders does not contribute to the UNHS target since these refer rates are commonly linked with temporary external or middle ear diseases that do not cause severe hearing loss. Another issue with OAEs for UNHS is false negative findings in new-borns with auditory neuropathy. Because OAEs are a preneural phenomenon, they do not identify issues at the sensory cell—neural element synapse, the eighth nerve, or higher auditory structures.

According to Sininger, infants with auditory neuropathy and severe hearing impairment usually display intense and recurrent OAEs [43].

Comparison

The AABR pass rate (67.9 %) was greater than the DPOAE pass rate (50.1 percent). With increasing age, both DPOAE and AABR pass rates improved dramatically (p-value 0.001). Between the ages of 36 and 48 hours, the highest pass rate for both DPOAE and AABR was 73.1 percent and 84.2 percent, respectively. With a p-value of 0.001, the mean testing duration for AABR (13.54 min 7.47) was substantially longer than DPOAE (3.52 min 1.87) [44].

The OAE is an automated hearing test that records sounds released by the cochlea in people with normal hearing, whereas the AABR is an automated hearing test that evaluates the auditory nerve system. According to previous studies by B.R. Vohr et al., N.K. Apostolopoulos et al, J.T. Jacobson et al., and B.S. Hermmann et al., OAE has a sensitivity of 90 percent-95 percent and a specificity of 89 percent-91 percent, while AABR has a sensitivity of 100 percent and a specificity of 96 percent-98 percent [45-48].

The AABR is judged required for HRNHS in high-risk new-borns (prematurity, anoxia, hyperbilirubinemia), who are at risk of auditory neuropathy that cannot be diagnosed by OAE, according to I. Rapin, J. et al. [49].

According to Benito-Orejas, AABR is more expensive and time demanding than OAE, but it has less false positives and referral rates [50].

According to Gabbard and Akinpelu AABR is less impacted by temporary circumstances in the middle ear (presence of amniotic fluid) and external auditory canal (presence of debris and vernix) than OAE at 24-48 hours after birth [51, 52].

Conclusion

Hearing screening for new-borns is critical for detecting congenital hearing loss and providing early management. Every person has the right to live a healthy lifestyle. Hearing impairment, like communication disorders, begins early in life. Infants with hearing loss will only be able to reach their full potential as fully active, contributing, and integrated members of society if systematic early screening programmes

are implemented. Hearing screening for new-borns is critical for detecting congenital hearing loss.

The AABR is considered necessary for HRNHS in high-risk new-borns (prematurity, anoxia, hyperbilirubinemia) who are at risk of auditory neuropathy that cannot be detected using the OAE test. The OAE test is faster and easier to conduct, but it has a larger false positive rate than the AABR. The ideal hearing procedure is still being developed. As a result, the hearing screening technique should be adapted to the specific demands of each centre.


References

- Humes LE. The World Health Organization's hearing-impairment grading system: an evaluation for unaided communication in age-related hearing loss. *Int J Audiol*. 2019;58(1):12–20. doi:10.1080/14992027.2018.
- WHO Global Estimates on Prevalence of Hearing Loss. Mortality and Burden of Diseases and Prevention of Blindness and Deafness WHO; 2012. Available from: http://www.who.int/pbd/deafness/WHO_GE_HL.pdf. [Last accessed on 2022 October 02].
- Mathers C, Smith A, Concha M. *Global burden of hearing loss in the year 2000*; 18(4): 1–30. https://www.who.int/healthinfo/statistics/bod_hearingloss.pdf
- State of Hearing and Ear Care in the South East Asia Region. WHO Regional Office for South East Asia. World Health Organization. Available from: http://www.searo.who.int/LinkFiles/Publications_HEARING_&_EAR_CARE.pdf. [Last accessed on 2022 October 09].
- Garg S, Chadha S, Malhotra S, Agarwal AK. Deafness: burden, prevention and control in India. *Natl Med J India*. 2009;22(2):79–81.
- Report No. 485: Disabled Persons in India, JulyDecember 2002. NSS 58th Round. National Sample Survey Organisation. Ministry of Statistics and Programme Implementation. Government of India. December, 2003. [Last accessed on 2022 October 09].
- Directorate General of Health Services. National Programme for Prevention and Control of Deafness, Project Proposal. New Delhi: Ministry of Health and Family Welfare; 2006 [Last accessed on 2022 October 09].
- Kapoor S, Kabra M. Newborn screening in India: current perspectives. *Indian Pediatr*. 2010;47(3):219–224. doi:10.1007/s13312-010-0043-0
- Nagapoornima P, Ramesh A; Srilakshmi, et al. Universal hearing screening. *Indian J Pediatr*. 2007;74(6):545–549. doi:10.1007/s12098-007-0105-z
- Cunningham M, Cox EO. Committee on Practice and Ambulatory Medicine and the Section on Otolaryngology and Bronchoesophagology. Hearing assessment in infants and children: recommendations beyond neonatal screening. *Pediatrics*. 2003;111(2):436–440. doi:10.1542/peds.111.2.436
- Mukherjee SS, Mukherjee S, Sarkar KD. Prevalence of Hearing Loss in High Risk Infants of Mediocre Socio-economic Background at Around One Year of Age and Their Correlation with Risk Factors. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;65(Suppl 3):598–603. doi:10.1007/s12070-012-0580-z
- Annual Report 200910. All India Institute of Speech and Hearing. 2009;10. [Last accessed on 2022 October 09].
- American Academy of Pediatrics, Joint Committee on Infant Hearing. Year 2007 position statement: Principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *Pediatrics*. 2007;120(4):898–921. doi:10.1542/peds.2007-2333.
- Ewing IR, Ewing AWG. The Ascertainment of Deafness in Infancy and Early Childhood. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1944;59(9):309–333. doi:10.1017/S0022215100007465.
- Froeschels E, Beebe H. Testing the hearing of new-born infants. *Archives of otolaryngology*. 1946;446:710–4.
- Hardy BJ, Dougherty A, Hardy WG. Hearing responses and audiologic screening in infants. *The Journal of Paediatrics*. 1959;55(3):382–390. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(59\)80233-X](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(59)80233-X).
- Simmons FB, Russ FN. Automated New-born Hearing Screening, the Crib-o-gram. *Arch Otolaryngol*. 1974;100(1):1–7. doi:10.1001/archotol.1974.00780040005001.
- Bennett MJ. Trials with the auditory response cradle. I—Neonatal responses to auditory stimuli. *Br J Audiol*. 1979;13(4):125–134. doi:10.3109/03005367909078887.
- Bennett MJ. Trials with the auditory response cradle III: head turns and startles as auditory responses in the neonate. *Br J Audiol*. 1980;14(4):122–131. doi:10.3109/03005368009072017.
- Bennett MJ, Lawrence RJ. Trials with the Auditory Response Cradle. II — The neonatal respiratory response to an auditory stimulus. *British Journal of Audiology*. 1980 Feb;14(1): 1–6. doi:10.3109/03005368009078892.
- Rai N, Thakur N. Universal screening of newborns to detect hearing impairment—is it necessary? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2013;77(6):1036–1041. doi: 10.1016/j.ijporl.2013.04.006.
- American Academy of Pediatrics, Joint Committee on Infant Hearing. Year 2007 position statement: Principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *Pediatrics*. 2007;120(4):898–921. doi:10.1542/peds.2007-2333.
- Lewis DR, Marone SA, Mendes BC, Cruz OL, Nóbrega Md. Multiprofessional committee on auditory health: COMUSA. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2010;76(1):121–128. doi:10.1590/S1808-86942010000100020.
- Sohmer H, Feinmesser M. Cochlear action potentials recorded from the external ear in man. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1967;76(2):427–435. doi:10.1177/000348946707600211.
- Jewett DL, Williston JS. Auditory-evoked far fields averaged from the scalp of humans. *Brain*. 1971;94(4):681–696. doi:10.1093/brain/94.4.681.

26. Schulman-Galambos C, Galambos R. Brain stem evoked response audiometry in newborn hearing screening. *Arch Otolaryngol.* 1979;105(2):86–90. doi:10.1001/archotol.1979.00790140032006.
27. Herrmann BS, Thornton AR, Joseph JM. Automated infant hearing screening using the ABR: development and validation. *American Journal of Audiology* 1995; 4:6–14. doi:10.1044/1059-0889.0402.06.
28. Sininger YS. Auditory brain stem response for objective measures of hearing. *Ear Hear.* 1993;14(1):23–30. doi:10.1097/0003446-199302000-00004.
29. Joint Committee on Infant Hearing; American Academy of Audiology; American Academy of Pediatrics; American Speech-Language-Hearing Association; Directors of Speech and Hearing Programs in State Health and Welfare Agencies. Year 2000 position statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. Joint Committee on Infant Hearing, American Academy of Audiology, American Academy of Pediatrics, American Speech-Language-Hearing Association, and Directors of Speech and Hearing Programs in State Health and Welfare Agencies. *Pediatrics.* 2000;106(4):798–817. doi:10.1542/peds.106.4.798.
30. Bakhos D, Marx M, Villeneuve A, Lescanne E, Kim S, Robier A. Electrophysiological exploration of hearing. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2017;134(5):325–331. doi:10.1016/j.anorl.2017.02.011.
31. Gorga MP, Preissler K, Simmons J, Walker L, Hoover B. Some issues relevant to establishing a universal newborn hearing screening program. *Journal of American Academy of Audiol.* 2001;12(2):101–112.
32. Vohr BR, Oh W, Stewart EJ, Bentkover JD, Gabbard S, Lemons J, Papile LA, Pye R. Comparison of costs and referral rates of 3 universal newborn hearing screening protocols. *Journal of Pediatr.* 2001;139(2):238–244. doi:10.1067/mpd.2001.115971.
33. Cone-Wesson B, Vohr BR, Sininger YS, et al. Identification of neonatal hearing impairment: infants with hearing loss. *Ear Hear.* 2000;21(5):488–507. doi:10.1097/00003446-200010000-00012.
34. Gorga MP, Worthington DW, Reiland JK, Beauchaine KA, Goldgar DE. Some comparisons between auditory brain stem response thresholds, latencies, and the pure-tone audiogram. *Ear Hear.* 1985;6(2):105–112. doi:10.1097/00003446-198503000-00008.
35. Kileny PR, Magathan MG. Predictive value of ABR in infants and children with moderate to profound hearing impairment. *Ear Hear.* 1987;8(4):217–221. doi:10.1097/00003446-198708000-00005.
36. Johnsen NJ, Bagi P, Elberling C. Evoked acoustic emissions from the human ear. III. Findings in neonates. *Scand Audiol.* 1983;12(1):17–24. doi:10.3109/01050398309076220.
37. Bray P, Kemp D. An advanced cochlear echo technique suitable for infant screening. *Br J Audiol.* 1987;21(3):191–204. doi:10.3109/03005368709076405.
38. Bonfils P, Dumont A, Marie P, Francois M, Narcy P. Evoked otoacoustic emissions in newborn hearing screening. *Laryngoscope.* 1990;100(2 Pt 1):186–189. doi:10.1288/00005537-199002000-00015.
39. Lafreniere D, Jung MD, Smurzynski J, Leonard G, Kim DO, Sasek J. Distortion-product and click-evoked otoacoustic emissions in healthy newborns. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991;117(12):1382–1389. doi:10.1001/archotol.1991.01870240074012.
40. Prieve BA, Fitzgerald TS, Schulte LE. Basic characteristics of click-evoked otoacoustic emissions in infants and children. *J Acoust Soc Am.* 1997;102(5 Pt 1):2860–2870. doi:10.1121/1.420341.
41. Kok MR, van Zanten GA, Brocaer MP. Growth of evoked otoacoustic emissions during the first days postpartum. A preliminary report. *Audiology: Official Organ of the International Society of Audiology.* 1992;31(3):140–149. doi: 10.3109/00206099209072909
42. Vohr BR, Letourneau KS, McDermott C. Maternal worry about neonatal hearing screening. *J Perinatol.* 2001;21(1):15–20. doi:10.1038/sj.jp.7200475
43. Sininger, Yvonne S. Identification of Auditory Neuropathy in Infants and Children. *Seminars in Hearing* 2002; 23: 193–200. doi:10.1055/s-2002-34456.
44. Ngui LX, Tang IP, Prepageran N, Lai ZW. Comparison of distortion product otoacoustic emission (DPOAE) and automated auditory brainstem response (AABR) for neonatal hearing screening in a hospital with high delivery rate. *Int J Paediatric Otorhinolaryngology.* 2019;120:184–188. doi: 10.1016/j.ijporl.2019.02.045.
45. Vohr BR, Carty LM, Moore PE, Letourneau K. The Rhode Island Hearing Assessment Program: experience with statewide hearing screening (1993–1996). *J Pediatr.* 1998;133(3):353–357. doi:10.1016/s0022-3476(98)70268-9.
46. Apostolopoulos NK, Psarommatis IM, Tsakanikos MD, Dellagrammatikas HD, Douniadakis DE. Otoacoustic emission-based hearing screening of a Greek NICU population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1999;47(1):41–48. doi:10.1016/s0165-5876(98)00168-2.
47. Jacobson JT, Jacobson CA, Spahr RC. Automated and conventional ABR screening techniques in high-risk infants. *Journal of American Academy Audiol.* 1990;1(4):187–195.
48. Herrmann BS, Thornton AR, Joseph JM. Automated infant hearing screening using the ABR: development and validation. *American Journal of Audiology.* 1995;4:6–14. doi:10.1044/1059-0889.0402.06.
49. Rapin I, Gravel J. «Auditory neuropathy»: physiologic and pathologic evidence calls for more diagnostic specificity. *International Journal of Paediatric Otorhinolaryngology.* 2003;67(7):707–728. doi:10.1016/s0165-5876(03)00103-4.
50. Benito-Orejas JL, Ramirez B, Morais D, Almaraz A, Fernández-Calvo JL. Comparison of two-step transient evoked otoacoustic emissions (TEOAE) and automated auditory brainstem response (AABR) for universal new-born hearing screening programs. *Int. Journal of Paediatric Otorhinolaryngology.* 2008;72(8):1193–1201. doi: 10.1016/j.ijporl.2008.04.011.
51. Kepekci A. Evaluation of 1808 New-borns Hearing Screening Outcome. *EJMO.* 2018; 2(3): 135–137. doi: 10.14744/ejmo.2018.58076.
52. Akinpelu OV, Peleva E, Funnell WR, Daniel SJ. Otoacoustic emissions in new-born hearing screening: a systematic review of the effects of different protocols on test outcomes. *International journal of Paediatric Otorhinolaryngology.* 2014;78(5):711–717. doi: 10.1016/j.ijporl.2014.01.021.

Способы оценки потери слуха у младенцев

Р. Сони  , С. Какер , Н. Сабу 

Колледж медицинских наук Раджастанского университета медицинских наук, г. Джайпур, Раджастан, Индия
 drrajeevsoni5@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Способность слышать — одно из пяти основных чувств, позволяющих нам эффективно общаться с другими. К сожалению, люди часто воспринимают свой слух как нечто само собой разумеющееся и не осознают, насколько он важен, пока он не утрачен или не нарушен. Потеря слуха до недавнего времени не была главной проблемой индийского правительства. Профилактика, ранняя диагностика и уход могут предотвратить половину всех случаев глухоты и нарушений слуха. Слух имеет решающее значение для развития мозга ребенка. Раннее выявление потери слуха не позволит проблеме выйти из-под контроля. Наиболее экономически эффективной стратегией снижения бремени потери слуха является обследование новорожденных и младенцев. Потеря слуха является наиболее частым сенсорным дефицитом у людей во всем мире. Тяжесть потери слуха может варьироваться от легкой до тяжелой. Капур Сет др. предположили, что с помощью скрининга заболевание выявляется раньше, чем в противном случае оно было бы диагностировано. Из-за острой необходимости предотвращения инфекционных причин смертности новорожденные в Индии не проверяются регулярно на наличие каких-либо конкретных заболеваний. Отдел профилактики коммуникативных расстройств Всеиндийского института речи и слуха (AIISH), расположенный на юге Индии, регулярно проводит скрининг младенцев на нарушение слуха в различных больницах, связанных с ним, с использованием поведенческой обзорной аудиометрии и скрининга отоакустической эмиссии (ОАЭ) и ведение Регистра высокого риска (HRR). В 2009–2010 годах в общей сложности 12 416 новорожденных в 10 больницах, связанных с AIISH, были обследованы на предмет нарушений слуха. В обзоре проанализированы различные вопросы, связанные с проверкой слуха младенцев в Индии. Методология исследования заключалась в поиске соответствующих статей в PubMed Central и Google Scholar по ключевым словам «слух, скрининг, потеря слуха и младенцы». Полнотекстовые статьи были загружены с июля 2022 г. по 19 сентября 2022 г. Релевантность оценивалась по статьям, описывающим теории скрининга слуха младенцев в Индии. Вывод. Проверка слуха у новорожденных имеет решающее значение для выявления врожденной тугоухости и обеспечения раннего лечения. Каждый человек имеет право на здоровый образ жизни. Нарушение слуха, как и расстройства общения, начинается в раннем возрасте. Младенцы с потерей слуха смогут полностью реализовать свой потенциал как полноценные, активные и интегрированные члены общества только в том случае, если будут реализованы систематические программы раннего скрининга. Скрининг слуха новорожденных имеет решающее значение для выявления врожденной тугоухости. AABR считается необходимым для HRNHS у новорожденных с высоким риском (недоношенность, аноксия, гипербилирубинемия), которые подвержены риску слуховой нейропатии, которую невозможно обнаружить с помощью теста ОАЭ. Тест ОАЭ проводится быстрее и проще, но у него более высокий уровень ложноположительных результатов, чем у AABR. Идеальная процедура проверки слуха еще находится в стадии разработки. В результате методика проверки слуха должна быть адаптирована к конкретным требованиям каждого центра.

Ключевые слова: слух, скрининг, потеря слуха, дети раннего возраста

Информация о финансировании. Авторы не получали финансовой поддержки для проведения исследования, авторства и публикации обзорной статьи.

Вклад авторов: Сони Р. — концепция исследования, поиск литературы; Какер С. — анализ данных; Сабу Н. — написание текста и концептуальный обзор. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследование и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 12.02.2023. Принята 15.03.2023.

Для цитирования: *Soni R., Kacker S., Saboo N. Techniques for assessing hearing loss in infants // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.. 2023. Т. 27. No 3. С. 318—328. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-318-328*

Corresponding Author: Rajeev Soni — MD, Resident, Department of Physiology, Rajasthan University of Health Sciences College of Medical Sciences, 302033, Pratap nagar, Jaipur, Rajasthan, India. E-mail: drrajeevsoni5@gmail.com

Soni R. ORCID 0000-0002-3511-7087

Kacker S. ORCID 0000-0001-8947-2036

Saboo N. ORCID 0000-0002-3874-1459

Ответственный за переписку: Раджив Сони — доктор медицинских наук, доцент кафедры физиологии, Колледж медицинских наук Университета здравоохранения Раджастана, Индия. 302033, Раджастхан, г. Джайпур, Пратап Нагар, E-mail: drrajeevsoni5@gmail.com

Сони Р. ORCID 0000-0002-3511-7087

Какер С. ORCID 0000-0001-8947-2036

Сабу Н. ORCID 0000-0002-3874-1459



IMMUNOLOGY ИММУНОЛОГИЯ

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-329-341

EDN: PEYTWL

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ


Inflammatory response modulation by epinephrine and norepinephrine

Svetlana V. Guryanova^{1,2}  , Artem S. Ferberg³ , Ilya A. Sigmatulin³ 

¹M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russian Federation

²RUDN University, Moscow, Russian Federation

³Moscow State University, Moscow, Russian Federation

 svgur@mail.ru

Abstract: *Relevance.* Inflammation is a defense response of an organism to a pathogen. It appears in order to maintain homeostasis and is regulated by the immune, nervous, and endocrine systems. The hormones epinephrine and norepinephrine are produced in the adrenal medulla and in the brain, and are universal messengers that trigger the transmission of nerve impulses at synapses, and also have a receptor-mediated effect on immunocompetent cells. *The aim* of this study was to investigate adrenergic pathway regulation of inflammation on the neutrophil granulocytes in the presence of activators of innate immunity receptors. *Materials and Methods.* Neutrophil granulocytes were obtained from peripheral blood of healthy volunteers in a density gradient of Histopaque 1077 and Histopaque 1119 (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), and cultured in the presence of LPS, GMDP, epinephrine and norepinephrine. The amount of human neutrophil peptides 1–3 (HNP1–3) was examined using an enzyme-linked immunosorbent assay; the gene expression of *TLR4*, *NOD2*, *ATF3* and *A20* was determined using RT-PCR. *Results and Discussion.* Norepinephrine (noradrenaline) was found to decrease the synthesis of human neutrophils peptides 1–3 (HNP 1–3 defensins, alone and in the combination with agonists of TLR4 and NOD2 receptors — LPS and GMDP respectively. It was found out that there was no a statistically significant effect of epinephrine (adrenaline) on the production of HNP 1–3, including when combined with LPS and GMDP. As a result of the study, an increase in the levels of expression of the genes *TLR4*, *NOD2* and regulator of inflammatory reactions *A20* both in LPS- and GMDP- induced neutrophil culture were uncovered, while *ATF3* was increased only in LPS-induced neutrophil culture. Epinephrine demonstrated the absence of a statistically significant effect on the expression of the studied genes. While norepinephrine significantly increased the expression of *A20* genes. *Conclusion.* The data obtained

© Guryanova S.V., Ferberg A.S., Sigmatulin I.A. 2023



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

shows that norepinephrine can reduce the synthesis of HNP 1–3, including the one induced by LPS and GMDP. Moreover, the ability of norepinephrine to induce the expression of *A20* may play a significant role in modulation of inflammation.

Key words: innate immunity, TLR4, NOD2, LPS, muramyl peptide, defensins, human neutrophil peptides 1–3, epinephrine, norepinephrine, catecholamine, inflammation regulation

Funding: This paper has been supported by the RUDN University Strategic Academic Leadership Program.

Author Contributions: Conceptualization — S.V. Guryanova; methodology — S.V. Guryanova; validation S.V.- Guryanova; investigation — S.V. Guryanova, A.S. Ferberg, I.A. Sigmatulin; writing — S.V. Guryanova, A.S. Ferberg, I.A. Sigmatulin. All authors have read and agreed to the final version of the manuscript.

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

Acknowledgments — not applicable.

Ethics approval. The study protocol was approved by Ethics Committee of the RUDN University.

Consent for publication — not applicable. Voluntary written informed consent was obtained from all subjects involved in the study with an agreement to take part in the study, personal data processing and publishing this paper.

Received 02.06.2023. Accepted 06.07.2023.

For citation: Guryanova S.V., Ferberg A.S., Sigmatulin I.A. Inflammatory response modulation by epinephrine and norepinephrine. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):329—341. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-329-341

Introduction

Human immune homeostasis is maintained by adequate reactions of immunocompetent cells to external factors, including microorganisms inhabiting the skin and mucous membranes. The commensal microbiota can either directly affect pathogens, preventing their penetration and reproduction, or do it indirectly through the host's immune system. Pathogen-associated molecular pattern (PAMP) sensors are pattern recognition receptor (PRR) belonging to several families of innate immunity receptors: Toll-like receptors (TLRs), Nod-like receptors (NLRs), retinoic acid-induced gene I (RIG- I)-like receptors (RLRs), C-type lectin receptors (CLRs), and some others [1]. Orthologues of innate immunity receptors found in cnidarians indicate that they appeared in the first metazoans hundreds of millions of years ago and are an ancient and universal way of recognizing foreign organisms [2, 3]. The interaction of PRR with its ligands triggers cascades of intracellular processes, which result in the synthesis of cytokines and mediators, changes in the cell phenotype, additional recruitment of various

cell populations to the pathogen penetration site, and elimination of the pathogen. Regulation of the intensity and type of the immune response depends on many factors, including readiness of the immune system to quickly and accurately recognize and respond to a pathogen. Active search is underway for compounds that prevent the development of inflammatory processes, including those from natural raw materials [4–9]. Commensal microorganisms help to keep the immune system in constant readiness for an adequate response. And from another side, commensal microorganisms take part in maintaining a tolerance to resident microflora keeping a balance of host proinflammatory and anti-inflammatory incentives.

During the course of life, microorganisms inhabiting the mucous membranes and skin not only produce a large amount of substances necessary for the existence of the host organism, they also, when disintegrated under the action of host enzymes, release pathogen-associated molecular patterns that constantly interact with innate immunity receptors. Interaction of the ligand with PRR induces production of pro-

inflammatory cytokines that activate anti-infective defenses and, later, anti-inflammatory factors that stop inflammation [10]. Individuals with genetic mutations in innate immunity receptors develop chronic, autoimmune, and oncological diseases [11–13]. When establishing the ligands' mechanisms of action, it is necessary to take into account numerous «classical» and «non-classical» pathways, the presence of positive and negative feedback, as well as the action of factors associated with various physiological conditions of the body.

It is known that stress and enhanced physical exercise lead to changes in the state of the immune system and the spectrum of cytokines [14,15], and additional exposure to bacterial ligands during stressful exposure can modulate negative effects. Lipopolysaccharides (LPS) and muramyl peptides (MPs) are the most studied fragments of bacterial walls due to their ubiquitous activity [16–18]. Lipopolysaccharides are components of the cell walls of Gram-negative bacteria and specific ligands of the innate immunity receptor TLR4 [17–20]. Muramyl peptides are included in the structure of the cell wall of all known bacteria and implement their biological activity through specific binding to NOD2 receptors of innate immunity related to NLR [21]. Muramyl peptides, acting on cells of the immune system and epitheliocytes, stimulates production of cytokines, immunoglobulins and defensins, changes the phenotype of immunocompetent cells [22–26].

Stress and exercise can have both positive and negative effects on immune function and disease susceptibility. Changes to stressful impact must occur very quickly following the principle of «fight-or-flight» to save the life of an organism in the event of a serious threat [27]. Rapid reactions are mediated primarily by catecholamines, epinephrine and norepinephrine, secreted by the adrenal medulla and brain [27]. Epinephrine (adrenaline) and norepinephrine (noradrenaline) interact with adrenergic receptors present on the cell membranes of all internal organs and smooth muscles, leading to activation of signaling pathways and subsequent changes in organ function, smooth muscle tone and blood pressure. Endogenous catecholamines

such as epinephrine and norepinephrine can have a direct modulating effect on immune cell activity through interaction with adrenoreceptors (AR) on their cell membrane [28]. Adrenergic pathways represent the main communication channel between the nervous system and the immune system [29,30]. Adrenoreceptors $\alpha 1$ and $\beta 1$ respond to norepinephrine activity. Adrenoreceptors $\alpha 2$ — respond to norepinephrine and epinephrine, and norepinephrine inhibits its own release, forming a negative feedback loop [31]. $\beta 2$ -ARs have a high affinity for epinephrine, and $\beta 2$ -AR-induced cAMP has an immunosuppressive effect [30]. It was shown that $\beta 2$ -adrenoreceptor agonists suppress the functions of Ca-dependent neutrophils, inhibit neutrophil extracellular traps in human polymorphonuclear leukocytes [32, 33], while $\alpha 2$ -ARs are involved in the stimulation of neutrophil functions during exercise [32–34]. Antimicrobial components of granulocytes of neutrophilic granulocytes — alpha-defensins (Human neutrophil peptides 1–3, HNP1–3) — are constitutively produced by neutrophilic granulocytes and make up to 50 % of all proteins in neutrophils [35, 36]. HNP1, 2, and 3 have the same chemical structure, are differing in the N-terminal amino acid. HNPs are released upon activation of innate immune receptors and protect against pathogenic bacteria, fungi, and protozoa [37, 38].

It is known that fragments of bacterial cell walls activate signaling pathways, as a result of which the transcription factor NF κ B induces synthesis of pro-inflammatory cytokines and the receptors of innate immunity, initiating positive feedback regulation [39, 40]. Negative feedback develops much later under certain conditions and contributes to the weakening of the inflammatory process [41]. The inflammatory response is downregulated by several pathways, in particular, by deubiquitinase A20 and the activating transcription factor ATF3. Thus, under the action of LPS and GMDP, the expression of the TLR4 and NOD2 genes indicates a positive regulation of the inflammatory response, while the expression of A20 and ATF3 contributes to the negative regulation of inflammation [42, 43].

The aim of this study was to uncover the effect of bioregulators of bacterial origin, when combined with catecholamines, on the production of alpha-defensins HNP 1–3 by human neutrophils, as well as their effect on the expression of genes for TLR4 and NOD2 receptors and regulators of inflammatory responses *ATF3* and *A20*.

Materials and Methods

Isolation of Human Neutrophils

Human neutrophils were isolated from peripheral blood from healthy volunteers on a gradient of Histopaque 1077 and of Histopaque 1119 (Sigma Aldrich), and centrifuged at 300g for 8 min. The granulocytes were washed in DPBS medium (Paneko, Russia), centrifuged at 800 g for 10 min, and resuspended in complete RPMI medium. Cell viability was 96 % determined by trypan blue staining [44].

In Vitro Studies

Primary human neutrophils were cultured (37 °C, 5 % CO₂) for 4 h in the presence of 10 ng/ml LPS (*E. coli*:055: B5, Merck), 5 µg/ml GMDP (JSC Peptek, Russia), 0.1 µM epinephrine and 0,1 µM norepinephrine (all from Sigma-Aldrich, Germany) and DPBS as control. Then the medium was removed and collected for ELISA, cell lysates were collected for analysis of gene expression.

HNP1–3 Quantification

For detection of quantity of HNP1–3 in supernatants commercial ELISA kits (Hycult Biotech) were used, according to the manufacturer's protocols. Samples were diluted in 5 times with PBS.

Quantitative RT-PCR

The study of gene expression was performed using real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), described previously [45]. Primers used in RT PCR are represented in Table 1.

Statistical analysis

The results were processed in the Prism 8 program with two-way ANOVA followed by Bonferroni post-hoc tests to determine significance. Differences were considered statistically significant when reaching $p < 0.05$.

Results and discussion

At the first stage, the levels of HNP1–3 were determined after 1, 2, 4, 8, 12 and 24 hours of exposure to GMDP. It was found that the HNP1–3 synthesis significantly increased after 4 hours and remained at a high level for 24 hours (Figure 1). For further studies, an incubation time of 4 hours was chosen, due to the fact that after this exact time the level of defensin synthesis reaches a plateau.

Table 1

Primers used in RT PCR analysis

Genes	Forward primer	Reverse primer
<i>A20</i>	5'-GGACTTTGCGAAAGGATCG-3'	5'-TCACAGCTTCCGCATATTG-3'
<i>ATF3</i>	5'-CATCTTTGCCTCAACTCCAG-3'	5'-GACACTGCTGCCTGAATCCT-3'
<i>NOD2</i>	5'-GCCACGGTGAAAGCGAAT-3'	5'-GGAAGCGAGACTGAGCAGACA-3'
<i>TLR4</i>	5'-TGGGCAACCTGCTCTACCTA-3'	5'-GCTGTAGCTCGTTGGCAGA-3'
<i>GAPDH</i>	5'-AGGTCGGAGTCAACGGATTG-3'	5'-GTGATGGCATGGACTGTGGT-3'

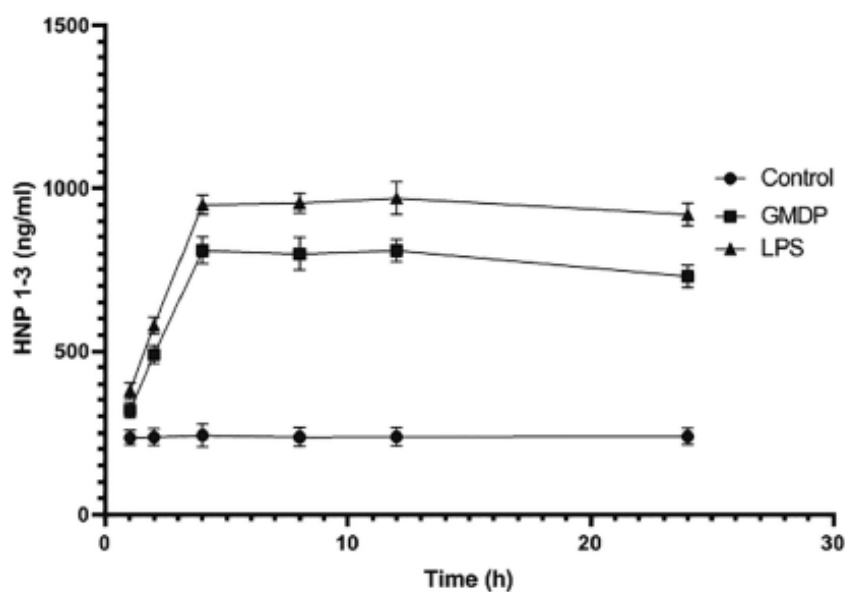


Fig. 1. Levels of HNP 1–3 in neutrophil samples in the presence of GMDP after 1, 2, 4, 8, 12 and 24 hours after GMDP or PBS (in control) exposure. Data for experiments are expressed as the mean \pm SEM of the mean of three experiments; * $p < 0.05$

The investigation of the effect of LPS and GMDP in the presence of epinephrine and norepinephrine and on the production of alpha-defensins by neutrophils *in vitro* revealed that GMDP increased the synthesis of HNP1–3

by 3.2 times ($p < 0.05$) (Figure 2. and LPS increased the production of HNP1–3 by 5.8 times ($p < 0.05$) compared with unstimulated cells (Figure 3).

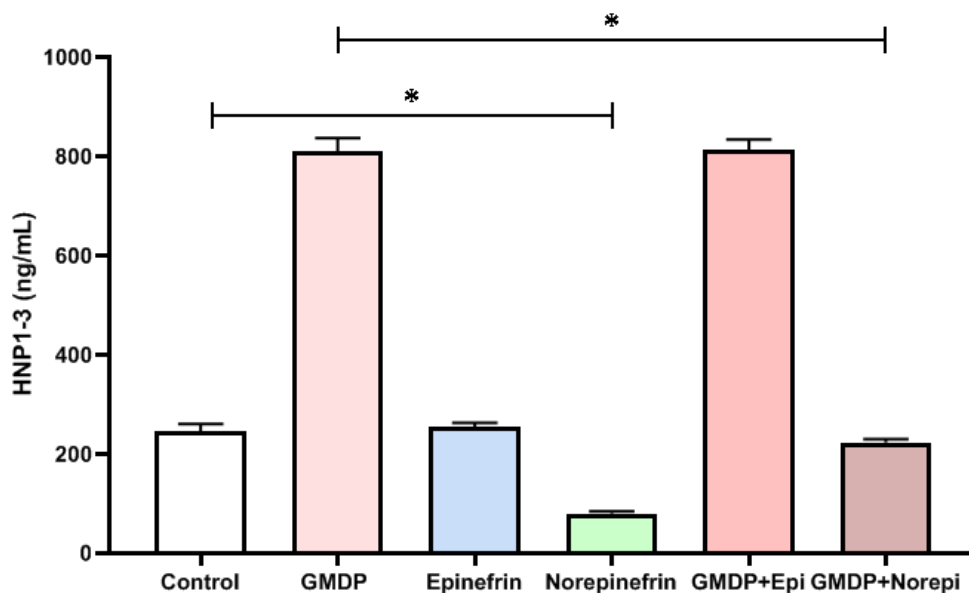


Fig. 2. Levels of HNP 1–3 in neutrophil samples in the presence of GMDP, epinephrine and norepinephrine. Data for experiments are expressed as the mean \pm SEM of the mean of three experiments; * $p < 0.05$

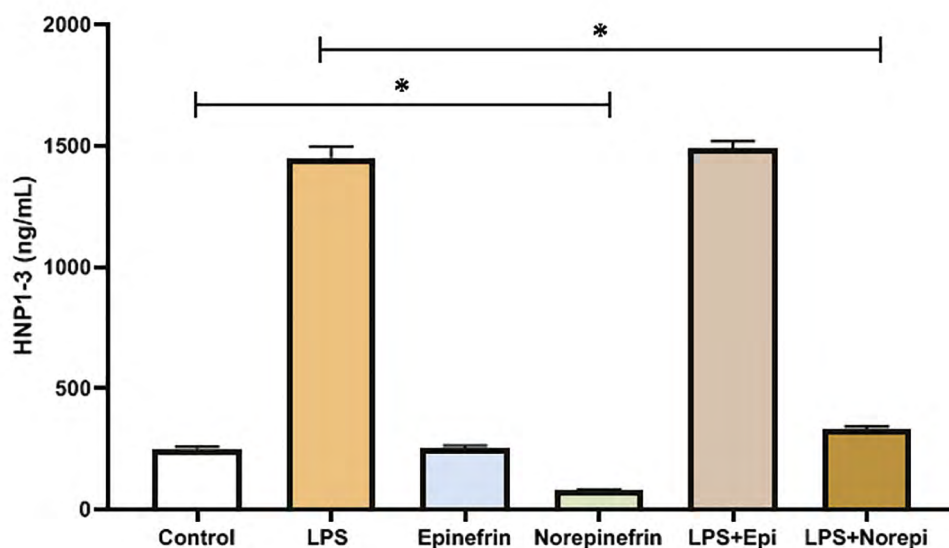


Fig.3. Levels of HNP 1–3 in neutrophil samples in the presence of LPS, epinephrine and norepinephrine. Data for experiments are expressed as the mean \pm SEM of the mean of three experiments; * $p < 0.05$

Changes in the synthesis of HNP1–3 under epinephrine impact had no statistical significance. Norepinephrine (norepinephrine), when exposed to neutrophils, reduced the synthesis of defensins HNP 1–3 by 3 times ($p < 0.05$) in unstimulated cell culture.

Epinephrine activity did not abolish the stimulating effect of LPS, while norepinephrine significantly decreased the LPS-induced HNP1–3 synthesis by 4.4 times ($p < 0.05$). A similar effect of catecholamines was also observed in GMDP-induced neutrophil culture. Epinephrine did not abolish the stimulating effect of GMDP, and norepinephrine statistically significantly decreased the synthesis of HNP1–3 induced by GMDP by 3.6 times ($p < 0.05$) (Figures 2, 3).

In order to identify a possible correlation between changes in the synthesis of HNP1–3 and changes in the expression levels of receptors responsible for the binding of LPS and GMDP, we studied the effect of catecholamines and bacterial cell wall fragments on the genes expression levels of their receptors, *TLR4* and *NOD2*, respectively. The innate immunity receptors *TLR4* and *NOD2*, when interacting with their ligands, not only trigger a cascade of downstream pathways to stimulate pro-inflammatory responses, but also increase the expression of their own receptors, demonstrating positive feedback. The study of the expression levels of the *TLR4* and *NOD2* receptor

genes revealed the stimulating effect of bacterial cell wall fragments, which is consistent with the previously obtained data [45,46]. Moreover, bacterial fragments of LPS and GMDP increased the expression of not only the genes of their own receptors, their cross-effect was also observed. In particular, LPS increased the expression of its own *TLR4* receptor genes by 9 times ($p < 0.05$) and the expression of the *NOD2* receptor gene by 3 times ($p < 0.05$). GMDP increased the expression of its own *NOD2* receptor gene by 5.8 times ($p < 0.05$), and also increased by 4.4 times ($p < 0.05$) the gene expression of *TLR4*, which is responsible for binding to LPS (Figure 4).

The catecholamines epinephrine and norepinephrine did not affect the expression levels of the *TLR* and *NOD2* genes and did not abolish the stimulating effect of LPS and GMDP on the expression of innate immunity receptor genes. Epinephrine did not affect the expression of the *A20* and *ATF3* genes too. The increase in expression of *A20* gene in the presence of norepinephrine in unstimulated cell culture and in combination with stimulated LPS and GMDP cell culture by 110 %, 169 % and 141 %, respectively, was statistically significant. Thus, the study of genes expression levels of *A20* inflammation regulator showed a statistically significant effect of norepinephrine on its expression.

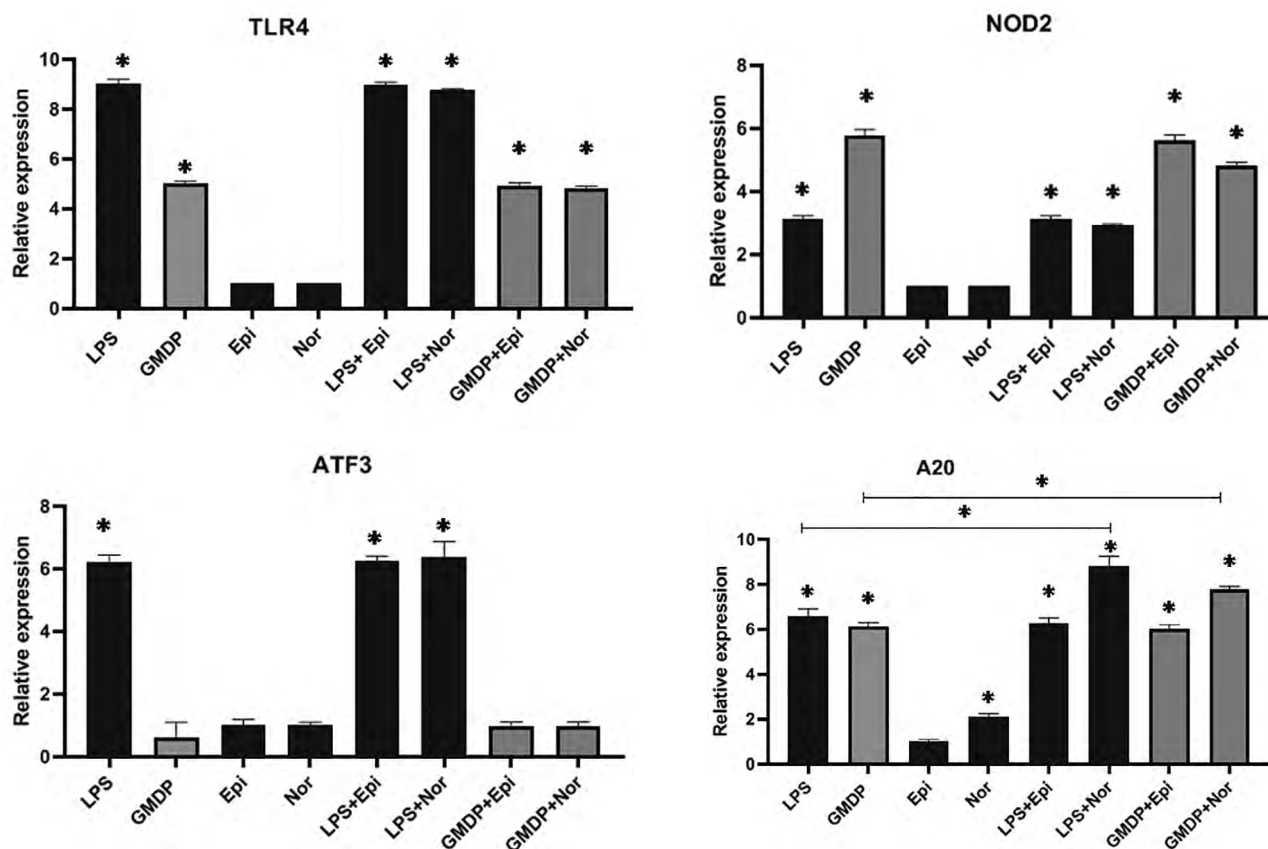


Fig.4. Relative expression (RT-qPCR) of *TLR4*, *NOD2*, *ATF3* and *A20* genes in human neutrophils. Relative expression was normalized to GAPDH. Data are represented as an average of three independent samples and error bars represent standard deviation; Nor – norepinephrine; Epi – epinephrine; * $p < 0.05$

Neutrophil granulocytes are important participants in inflammatory processes of bacterial and viral etiology, as well as inflammatory processes in allergic pathology. They are the first to go to the site of pathogen entry, activating pro-inflammatory reactions and use 3 strategies to destroy the pathogen: using the contents of their granules, throwing out extracellular traps or phagocytosis. Neutrophils play an important role in chronic diseases such as atherosclerosis, diabetes mellitus, non-alcoholic fatty liver disease and autoimmune diseases, their role in these diseases is not yet well understood [47]. Neutrophils, along with a protective function, can aggravate the disease with tumor growth and ischemia-reperfusion damage of the heart and brain [48].

Effector functions of neutrophils are implemented by releasing content of their granules, which not only destroys microorganisms, but also protects cells from death, for example, when combined with LL-37 [49]. Dysregulation of neutrophil functions can provoke a respiratory burst, as well as death of neutrophils, including necrosis, apoptosis, necroptosis, pyroptosis, netosis, and autophagy observed during the progression of sepsis [50, 51]. At the same time, high levels of human neutrophil peptides 1–3 can be markers of serious pathologies, such as myocardial infarction, lupus nephritis, and colorectal cancer [52–54]. In the study of HNP1–3 in the development of colorectal cancer, it turned out that HNP1–3 is expressed by tumor cells and significantly contributes to tumor

development [54]. The negative effect of HNP1–3 is also associated with their ability to enhance the development of viral and bacterial infections in certain biological conditions [55].

Our study demonstrates an increase in HNP1–3 levels under the impact of fragments of bacterial cell walls, which is consistent with the results of other researchers on a several-fold increase in the concentration of HNPs in the blood serum during inflammation [56]. Our data is consistent with the previously established dependence of HNP-1 secretion on NOD2 and absence of HNP1–3 secretion in the case of the NOD2 3020insC mutant variant associated with increased susceptibility to Crohn's disease [57].

For the first time this study shows the absence of effects of epinephrine to reduce levels of HNP 1–3 in both unstimulated culture and if induced by LPS and GMDP. The decrease in HNP1–3 synthesis in 3 times ($p < 0.05$) under the impact of norepinephrine alone was statistically significant. Norepinephrine significantly reduced the level of HNP 1–3 by 4.4 times ($p < 0.05$) in stimulated by LPS culture, and by 3.6 times ($p < 0.05$) in GMDP- induced cell culture. This observation is important because HNPs, along with their antimicrobial properties, can also have a negative effect under certain conditions, acting as a «double-edged sword» in host immunity, in infectious, oncological and cardiovascular diseases [52, 54–57]. On the other hand, it is important to distinguish between the effects of epinephrine and norepinephrine on the synthesis of HNPs with subsequent extrapolation of the obtained data on the state of immunity under various types of stress. In this regard, it is interesting to observe the immune system in a state of clinical depression and acute stress [58]. After analyzing levels of pro-inflammatory cytokines in a stressful situation, the authors of this study suggested that the state of depression is associated with greater resistance to molecules that normally stop the inflammatory cascade [58].

When examining the plasma level of endogenous epinephrine in children, it was found that in exercise-induced asthma, bronchoconstriction was accompanied by an increase in the level of norepinephrine. This increase in norepinephrine was much more pronounced than in the control group of children with allergen-induced asthma [59].

The process of induction of inflammatory reactions is studied quite widely, at the same time; reactions aimed at stopping inflammation require close study. The limitation of inflammation by LPS and GMDP on the cellular level was demonstrated in a mouse model of asthma [60]. In this experiments if LPS and GMDP were administered before the allergen, the level of eosinophilia and IgE in bronchoalveolar lavage decreased. Joint introduction of the allergen and LPS or GMDP, resulted in increasing of eosinophils, neutrophils, and Ig E. Other studies have also observed with a time delay the anti-inflammatory effect of LPS in mouse macrophages. Time delay was associated with the need for autocrine activity of type I interferons (IFN) and the subsequent formation of IL10 [61–63]. It was also found that cAMP transiently regulates IL-10 transcription in LPS-stimulated macrophages by synergism with LPS only in the early but not in the late phase. This has been demonstrated at the level of the IL-10 reporter promoter, mRNA expression and protein secretion. In addition, this finding has been replicated in primary macrophages as well as in vivo in an LPS 3-induced mouse model of septic shock [64–66].

Intracellular regulators of biological processes also contribute to limiting inflammation. It is known that transcription factors, such as activating transcription factor 3 (ATF3) and deubiquitinase, in particular A20, can act as negative regulators of inflammatory processes [67, 68]. ATF3 is produced during physiological stress and, depending on the context, can be an activator or suppressor of transcription [69, 70]. Deubiquitinase A20 removes ubiquitin from ubiquitinated substrates, thus inhibiting signal transduction in downstream pathways, stopping the inflammatory cascade. A20 is required for normal NF- κ B signaling and suppression of inflammation [68]. At the same time, both TLR4 and NOD2, when activated, trigger the translocation of NF- κ B to the nucleus, and, as a result, the synthesis of pro-inflammatory cytokines.

Experimental material was accumulated confirming the possibility of regulation of both pro-inflammatory and anti-inflammatory reactions by bacterial fragments [71]. In the present work, one of the possible explanations for the negative regulation

of inflammation is proposed — through the activation of ATF3 and A20. The effect of norepinephrine significantly increasing the expression of A20 genes requires further study. It is a first study of the influence of epinephrine and norepinephrine on the neutrophils from healthy donors. Investigation of the detailed mechanism of anti-inflammatory properties of pathogen associated molecular patterns requires a wide range of experiments.

The data obtained confirms the critical role of adrenergic mechanisms in the regulation of innate immunity [72]. Regulation of the innate immune system via sympathoadrenergic pathways may represent novel anti-inflammatory and immunomodulatory targets with significant therapeutic potential.

Conclusion

Through research, analysis and experiments we meticulously studied the influence of bioregulators of bacterial origin LPS and GMDP, when combined with catecholamines, on the production of alpha-defensins HNP 1–3 by neutrophils, as well as their influence on the expression of genes of *TLR4* and *NOD2* receptors and regulators of inflammatory reactions *ATF3* and *A20*.

As a result of this work, we uncovered that there was no effect of epinephrine on the production of HNP 1–3 when combined with LPS and GMDP, and the ability of norepinephrine to reduce the level of HNPs induced by LPS and GMDP.

Next, there was an increase in the expression levels of the *TLR*, *NOD2* genes and *A20* regulator of inflammatory responses in LPS- and GMDP- induced neutrophil culture and there was an absence of a statistically significant effect of epinephrine upon co-administration.

Besides, when using norepinephrine, its ability to reduce the level of HNPs alone and in cell culture with LPS or GMDP should be taken into account.

Thus, the ability of norepinephrine to reduce the level of alpha-defensins, thereby reducing nonspecific resistance, must be taken into account during exercise in order to maintain immune homeostasis.

Therefore, it is crucial to highlight that the fragments of bacterial cell walls and norepinephrine are involved in the regulation of inflammatory processes, demonstrating the relationship between the immune and nervous systems (Figure 5).

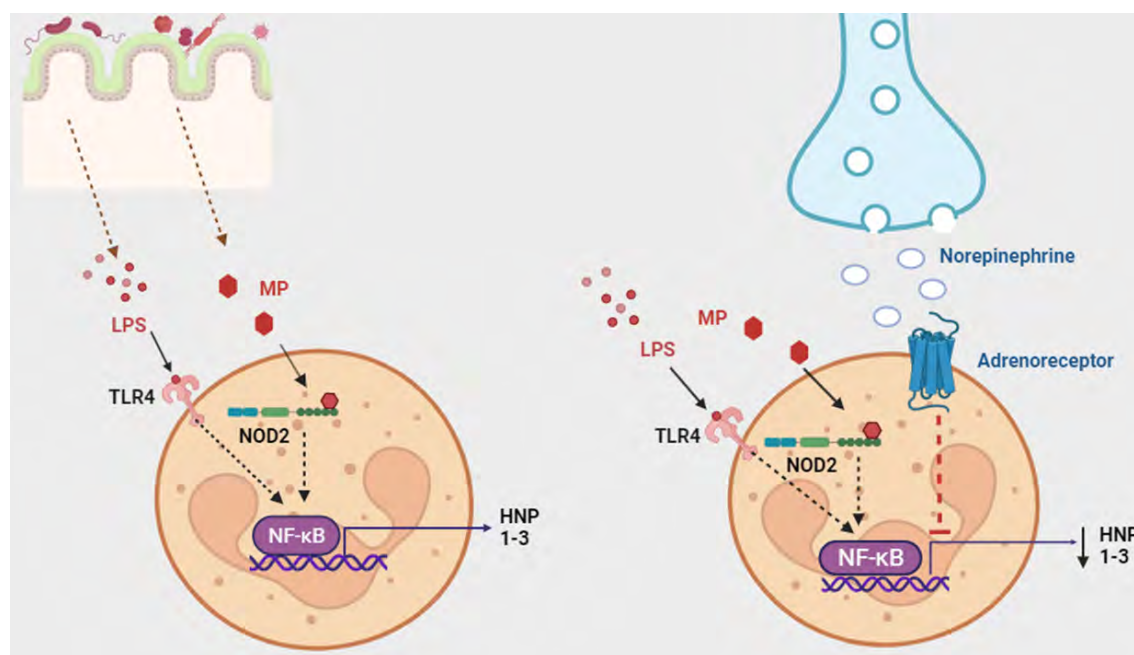


Fig. 5. Norepinephrine reduces production of human neutrophil peptides 1–3

References / Библиографический список

- Li P, Chang M Roles of PRR-Mediated Signaling Pathways in the Regulation of Oxidative Stress and Inflammatory Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;19:7688. <https://doi.org/10.3390/ijms22147688>.
- Nie L, Cai SY, Shao JZ, Chen J. Toll-Like Receptors, Associated Biological Roles, and Signaling Networks in Non-Mammals. *Front. Immunol.* 2018;9:1523. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01523>.
- Guryanova SV, Ovchinnikova TV. Innate Immunity Mechanisms in Marine Multicellular Organisms. *Mar. Drugs.* 2022;20:549. <https://doi.org/10.3390/md20090549>.
- Cai S-Q, Zhang Q, Zhao X-H, Shi J. The In Vitro Anti-Inflammatory Activities of Galangin and Quercetin towards the LPS-Injured Rat Intestinal Epithelial (IEC-6) Cells as Affected by Heat Treatment. *Molecules* 2021;26:7495. doi: 10.3390/molecules26247495.
- Šudomová M, Hassan STS. Nutraceutical Curcumin with Promising Protection against Herpesvirus Infections and Their Associated Inflammation: Mechanisms and Pathways. *Microorganisms.* 2021;9:292. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020292>.
- Hwang S-J, Wang J-H, Lee J-S, Kang J-Y, Baek D-C, Kim G-H, Ahn Y-C, Son C-G. Ginseng Sprouts Attenuate Mortality and Systemic Inflammation by Modulating TLR4/NF- κ B Signaling in an LPS-Induced Mouse Model of Sepsis. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:1583. <https://doi.org/10.3390/ijms24021583>.
- Yoon JH, Kim M-Y, Cho JY. Apigenin: A Therapeutic Agent for Treatment of Skin Inflammatory Diseases and Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:1498. <https://doi.org/10.3390/ijms24021498>.
- Hoeng J, Boue S, Fields B, Park J, Peitsch MC, Schlage WK, Talikka M, Binenbaum I, Bondarenko V, Bulgakov OV, Cherkasova V, Diaz-Diaz N, Fedorova L, Guryanova S, Guzova J, Igorevna Koroleva G, Kozhemyakina E, Kumar R, Lavid N, Lu Q, Menon S, Ouliel Y, Peterson SC, Prokhorov A, Sanders E, Schrier S, Schweitzer Neta G, Shvydchenko I, Tallam A, Villa-Fombuena G, Wu J, Yudkevich I, Zelikman M. Enhancement of COPD biological networks using a web-based collaboration interface. *F1000Res.* 2015;4. doi: 10.12688/f1000research.5984.2.
- Tataurshchikova NS. OM-85: Personalized approach to the treatment of acute respiratory infections in children. *Voprosy Prakticheskoi Pediatrii this link is disabled.* 2020;15(1):61–68. (in Russian). doi: 10.20953/1817-7646-2020-1-61-68. [Татауршчикова Н.С. OM-85: персонифицированный подход в лечении ОРВИ у детей. Вопросы практической педиатрии // 2020. Т. 15. № 1. С. 61–68. doi: 10.20953/1817-7646-2020-1-61-68].
- Guryanova SV. Regulation of Immune Homeostasis via Muramyl Peptides-Low Molecular Weight Bioregulators of Bacterial Origin. *Microorganisms.* 2022;10(8):1526. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081526>.
- Negróni A, Pierdomenico M, Cucchiara S, Stronati L. NOD2 and inflammation: current insights. *J. Inflamm. Res.* 2018;11:49–60. doi: 10.2147/JIR.S137606.
- Yao Q, Shen M, McDonald C, Lacbawan F, Moran R, Shen B. NOD2-associated autoinflammatory disease: a large cohort study. *Rheumatology.* 2015;54(10):1904–1912. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev207>.
- Branquinho D, Freire P, Sofia C. NOD2 mutations and colorectal cancer — Where do we stand? *World J Gastrointest Surg.* 2016;8(4):284–93. doi: 10.4240/wjgs.v8.i4.284.
- Dickerson SS, Gable SL, Irwin MR, Aziz N, Kemeny ME. Social-evaluative threat and proinflammatory cytokine regulation: an experimental laboratory investigation. *Psychol Sci.* 2009;20(10):1237–44. doi: 10.1111/j.1467-9280.2009.02437.x.
- Miller GE, Rohleder N, Stetler C, Kirschbaum C. Clinical depression and regulation of the inflammatory response during acute stress. *Psychosom Med.* 2005;67(5):679–87. doi: 10.1097/01.psy.0000174172.82428.ce.
- Miller SI, Ernst RK, Bader MW. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(1):36–46. doi: 10.1038/nrmicro1068.
- Kirschning CJ, Wesche H, Merrill Ayres T, Rothe M. Human toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *J Exp Med.* 1998;188(11):2091–7. doi: 10.1084/jem.188.11.2091.
- Gorshkova RP, Isakov VV, Nazarenko EL, Ovodov YS, Guryanova SV, Dmitriev BA. Structure of the O-specific polysaccharide of the lipopolysaccharide from *Yersinia kristensenii* O:25.35. *Carbohydr Res.* 1993;241:201–208. doi: 10.1016/0008-6215(93)80106-o.
- L'vov VL, Gur'yanova SV, Rodionov AV, Dmitriev BA, Shashkov AS, Ignatenko AV, Gorshkova RP, Ovodov IS. The structure of a repetitive unit of the glycerolphosphate-containing O-specific polysaccharide chain from *Yersinia kristensenii* strain 103 (O:12,26) lipopolysaccharide. *Bioorganicheskaya khimiya.* 1990;16(3):379–389.
- L'vov VL, Gur'yanova SV, Rodionov AV, Gorshkova RP. Structure of the repeating unit of the O-specific polysaccharide of the lipopolysaccharide of *Yersinia kristensenii* strain 490 (O:12,25). *Carbohydr Res.* 1992;228(2):415–422. doi:10.1016/0008-6215(92)84134-e.
- Girardin SE, Travassos LH, Hervé M, Blanot D, Boneca IG, Philpott DJ, Sansonetti PJ, Mengin-Lecreux D. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2. *J Biol Chem.* 2003;278(43):41702–8. doi: 10.1074/jbc.M307198200.
- Guryanova SV, Khaitov RM. Glucosaminylmuramyl dipeptide — GMDP: effect on mucosal immunity (on the issue of immunotherapy and immunoprophylaxis). *Immunologiya.* 2020;41(2):174–83. (in Russian). doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-2-174-183. [Гурьянова С.В., Хаитов Р.М. Глюкозаминилмурамилдипептид — ГМДП: воздействие на мукозальный иммунитет (к вопросу иммунотерапии и иммунопрофилактики). Иммунология // 2020. Т. 41. № 2. С. 174–183. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-2-174-183].
- Guryanova S.V., Khaitov R.M. Glucosaminylmuramyl dipeptide in treatment and prevention of infectious diseases. *Infectious diseases. News, Opinions, Training,* 2020;9(3): 79–86. doi: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-3-79-86>. (In Russian). [Гурьянова С.В., Хаитов Р.М. Глюкозаминилмурамилдипептид в терапии и профилактике инфекционных заболеваний // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9. № 3. С. 79–86. doi: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-3-79-86>].
- Rechkina EA, Denisova GF, Masalova OV, Lideman LF, Denisov DA, Lesnova EI, Ataulakhanov RI, Gur'yanova SV, Kushch AA. Epitope mapping of antigenic determinants of hepatitis C virus proteins by phage display. *Mol Biol (Mosk).* 2006;40(2):357–68.
- Manapova ER, Fazylov VKh, Guryanova SV. Cytopenia and their correction in antiviral therapy of chronic hepatitis C in patients with genotype 1. *Problems of Virology.* 2017;62(4):174–8. (in Russian). doi: 10.18821/0507-4088-2017-62-4-174-178. [Манапова Э.Р., Фазылов В.Х., Гурьянова С.В. Цитопении и их коррекция при противовирусной терапии хронического гепатита С у пациентов

- с генотипом 1. Вопросы вирусологии // 2017. Т. 62. № 4. С. 174–8. doi: 10.18821/0507-4088-2017-62-4-174-178].
26. Guryanova SV, Kudryashova NA, Kataeva AA, Orozbekova BT, Kolesnikova NV, Chuchalin AG. Novel approaches to increase resistance to acute respiratory infections. *RUDN Journal of Medicine*. 2021;25(3):181–195. doi: 10.22363/2313-0245-2021-25-3-181-195.
27. Tank AW, Lee Wong D. Peripheral and central effects of circulating catecholamines. *Compr Physiol*. 2015;5(1):1–15. doi: 10.1002/cphy.c140007.
28. Marino F, Cosentino M. Adrenergic modulation of immune cells: an update. *Amino Acids*. 2013;45(1):55–71. doi: 10.1007/s00726-011-1186-6.
29. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The Sympathetic Nerve — An Integrative Interface between Two Supersystems: The Brain and the Immune System. *Pharmacol. Rev*. 2000;52(4): 595–638
30. Lorton D, Bellinger DL. Molecular mechanisms underlying β -adrenergic receptor-mediated cross-talk between sympathetic neurons and immune cells. *Int J Mol Sci*. 2015;16(3):5635–65. doi: 10.3390/ijms16035635.
31. Mravec B. Role of catecholamine-induced activation of vagal afferent pathways in regulation of sympathoadrenal system activity: negative feedback loop of stress response. *Endocr Regul*. 2011;45(1):37–41.
32. Wahle M, Greulich T, Baerwald CG. Influence of catecholamines on cytokine production and expression of adhesion molecules of human neutrophils in vitro. *Immunobiol*. 2005;21(1):43–52. doi: 10.1016/j.imbio.2005.02.004.
33. Marino F, Scanzano A, Pulze L, Pinoli M, Rasini E, Luini A, Bombelli R, Legnaro M, de Eguileor M, Cosentino M. β 2-Adrenoceptors inhibit neutrophil extracellular traps in human polymorphonuclear leukocytes. *J Leukoc Biol*. 2018;104(3):603–614. doi: 10.1002/JLB.3A1017-398RR.
34. Giraldo E, Hinchado MD, Ortega E. Combined activity of post-exercise concentrations of NA and eHsp72 on human neutrophil function: role of cAMP. *J. Cell Physiol*. 2013;228(9):1902–1906. <https://doi.org/10.1002/jcp.24354>.
35. Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect*. 2003;5:1317–1327. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2003.09.008>.
36. Rice WG, Ganz T, Kinkade JM Jr, Selsted ME, Lehrer RI, Parmley RT. Defensin-rich dense granules of human neutrophils. *Blood*. 1987;70(3):757–65.
37. Yamamoto-Furusho JK, Barnich N, Hisamatsu T, Podolsky DK. MDP-NOD2 stimulation induces HNP-1 secretion, which contributes to NOD2 antibacterial function. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(5):736–42. doi: 10.1002/ibd.21144.
38. Selsted ME, Ouellette AJ. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol*. 2005;6:551–7.
39. Caruso R, Warner N, Inohara N, Núñez G. NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease. *Immunity*. 2014;41(6):898–908. doi: 10.1016/j.immuni.2014.12.010.
40. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine*. 2015;74(2):181–9. doi: 10.1016/j.cyto.2015.02.025.
41. Prescott JA, Mitchell JP, Cook SJ. Inhibitory feedback control of NF- κ B signalling in health and disease. *Biochem J*. 2021;478(13):2619–2664. doi: 10.1042/BCJ20210139.
42. Ku HC, Cheng CF. Master Regulator Activating Transcription Factor 3 (ATF3) in Metabolic Homeostasis and Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:556. doi: 10.3389/fendo.2020.00556.
43. Martens A, van Loo G. A20 at the Crossroads of Cell Death, Inflammation, and Autoimmunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2020;12(1): a036418. doi: 10.1101/cshperspect.a036418.
44. Dömer D, Walther T, Möller S, Behnen M and Laskay T. Neutrophil Extracellular Traps Activate Proinflammatory Functions of Human Neutrophils. *Front. Immunol*. 2021;12:636954. doi: 10.3389/fimmu.2021.636954.
45. Guryanova, SV, Kataeva, A. Inflammation Regulation by Bacterial Molecular Patterns. *Biomedicines* 2023;11:183. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11010183>
46. Guryanova SV, Khaitov RM. Strategies for Using Muramyl Peptides — Modulators of Innate Immunity of Bacterial Origin — in Medicine. *Front Immunol*. 2021;12:607178. doi:10.3389/fimmu.2021.607178
47. Herrero-Cervera A, Soehnlein O, Kenne E. Neutrophils in chronic inflammatory diseases. *Cell Mol Immunol*. 2022;19(2):177–191. doi: 10.1038/s41423-021-00832-3.
48. Grüneboom A, Aust O, Cibir Z, Weber F, Hermann DM, Gunzer M. Imaging innate immunity. *Immunol Rev*. 2022;306(1):293–303. doi: 10.1111/imr.13048.
49. Drab E, Sugihara K. Cooperative Function of LL-37 and HNP1 Protects Mammalian Cell Membranes from Lysis. *Biophys J*. 2020;119(12):2440–2450. doi: 10.1016/j.bpj.2020.10.031.
50. Uriarte SM, Rane MJ, Luerman GC, Barati MT, Ward RA, Nauseef WM, McLeish KR. Granule exocytosis contributes to priming and activation of the human neutrophil respiratory burst. *J Immunol*. 2011;187(1):391–400. doi: 10.4049/jimmunol.1003112.
51. Zhu CL, Wang Y, Liu Q, Li HR, Yu CM, Li P, Deng XM, Wang JF. Dysregulation of neutrophil death in sepsis. *Front Immunol*. 2022;13:963955. doi: 10.3389/fimmu.2022.963955.
52. Katkat F, Varol S, Işıksaçan N, Turhan Çağlar FN, Akın F, Karabulut D, Okuyan E. Human neutrophil peptides 1–3 level in patients with acute myocardial infarction and its relation with coronary artery disease severity. *Turk Kardiyol Dern Ars*. 2021;49(2):120–126. doi: 10.5543/tkda.2021.99537.
53. Cheng FJ, Zhou XJ, Zhao YF, Zhao MH, Zhang H. Human neutrophil peptide 1–3, a component of the neutrophil extracellular trap, as a potential biomarker of lupus nephritis. *Int J Rheum Dis*. 2015;18(5):533–40. doi: 10.1111/1756-185X.12433.
54. Mothes H, Melle C, Ernst G, Kaufmann R, von Eggeling F, Settmacher U. Human Neutrophil Peptides 1–3-early markers in development of colorectal adenomas and carcinomas. *Dis Markers*. 2008;25(2):123–9. doi: 10.1155/2008/693937.
55. Xu D, Lu W. Defensins: A Double-Edged Sword in Host Immunity. *Front Immunol*. 2020;11:764. doi: 10.3389/fimmu.2020.00764.
56. Ihi T, Nakazato M, Mukae H, Matsukura S. Elevated Concentrations of Human Neutrophil Peptides in Plasma, Blood, and Body Fluids from Patients with Infections. *Clin. Infect. Dis*. 1997;25:1134–1140.
57. Quinn K, Henriques M, Parker T, Slutsky AS, Zhang H. Human neutrophil peptides: a novel potential mediator of inflammatory cardiovascular diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295(5): H1817–24. doi: 10.1152/ajpheart.00472.2008.

58. Miller GE, Rohleder N, Stetler C, Kirschbaum C. Clinical depression and regulation of the inflammatory response during acute stress. *Psychosom Med.* 2005;67(5):679–87. doi: 10.1097/01.psy.0000174172.82428.ce.
59. Ağaç D, Gill MA, Farrar JD. Adrenergic Signaling at the Interface of Allergic Asthma and Viral Infections. *Front Immunol.* 2018;9:736. doi: 10.3389/fimmu.2018.00736.
60. Guryanova SV, Gigani OB, Gudima GO, Kataeva AM, Kolesnikova NV. Dual Effect of Low Molecular Weight Bioregulators of Bacterial Origin in Experimental Model of Asthma. *Life.* 2022;12:192. <https://doi.org/10.3390/life12020192>.
61. Baliu-Pique M., Jusek G., Holzmann B. Neuroimmunological communication via CGRP promotes the development of a regulatory phenotype in TLR4-stimulated macrophages. *European Journal of Immunology.* 2014;44(12):3708–3716. doi: 10.1002/eji.201444553.
62. Chang EY, Guo B, Doyle SE, Cheng G. Cutting edge: involvement of the type I IFN production and signaling pathway in lipopolysaccharide-induced IL-10 production. *Journal of Immunology.* 2007;178(11):6705–6709. doi: 10.4049/jimmunol.178.11.6705.
63. Iyer SS, Ghaffari AA, Cheng G. Lipopolysaccharide-mediated IL-10 transcriptional regulation requires sequential induction of type I IFNs and IL-27 in macrophages. *Journal of Immunology.* 2010;185(11):6599–6607. doi: 10.4049/jimmunol.1002041.
64. Ernst O, Glucksam-Galnoy Y, Athamna M, Ben-Dror I, Ben-Arosh H, Levy-Rimler G, Fraser IDC, Zor T. The cAMP Pathway Amplifies Early MyD88-Dependent and Type I Interferon-Independent LPS-Induced Interleukin-10 Expression in Mouse Macrophages. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:3451461. doi: 10.1155/2019/3451461.
65. Brightbill HD, Plevy SE, Modlin RL, Smale STA prominent role for Sp1 during lipopolysaccharide-mediated induction of the IL-10 promoter in macrophages. *Journal of Immunology.* 2000;164(4):1940–1951. doi: 10.4049/jimmunol.164.4.1940.
66. Goldsmith M, Avni D, Ernst O. Synergistic IL-10 induction by LPS and the ceramide-1-phosphate analog PCERA-1 is mediated by the cAMP and p38 MAP kinase pathways. *Molecular Immunology.* 2009;46(10):1979–1987. doi: 10.1016/j.molimm.2009.03.009.
67. Thompson MR, Xu D, Williams BR. ATF3 transcription factor and its emerging roles in immunity and cancer. *J Mol Med (Berl).* 2009;87(11):1053–60. doi: 10.1007/s00109-009-0520-x.
68. Shembade N, Harhaj E. Regulation of NF-κB signaling by the A20 deubiquitinase. *Cell Mol Immunol.* 2012;9:123–130. <https://doi.org/10.1038/cmi.2011.59>.
69. Chu HM, Tan Y, Kobierski LA, Balsam LB, Comb MJ. Activating transcription factor-3 stimulates 3',5'-cyclic adenosine monophosphate-dependent gene expression. *Mol Endocrinol.* 1994;8(1):59–68. doi: 10.1210/mend.8.1.8152431.
70. Kwon JW, Kwon HK, Shin HJ. Activating transcription factor 3 represses inflammatory responses by binding to the p65 subunit of NF-κB. *Sci Rep.* 2015;5:14470. <https://doi.org/10.1038/srep14470>.
71. Kolesnikova NV, Kozlov IG, Guryanova SV, Kokov EA, Andronova TM. Clinical and immunological efficiency of muramyl dipeptide in the treatment of atopic diseases. *Medical Immunology (Russia).* 2016;18(1):15–20. (In Russian). [Колесникова Н.В., Козлов И.Г., Гурьянова С.В., Кокков Е.А., Андронов Т.М. Клинико-иммунологическая эффективность и перспективы использования мурамилдипептидов в лечении atopических заболеваний. Медицинская иммунология. 2016. Т. 18. № 1. С. 15–20. doi: 10.15789/1563-0625-2016-1-15-20].
72. Scanzano A, Cosentino M. Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Front Pharmacol.* 2015;6:171. doi: 10.3389/fphar.2015.00171.


Модуляция воспалительного ответа адреналином и норадреналином

С.В. Гурьянова^{1,2}  , А.С. Ферберг³ , И.А. Сигматулин³ 

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва, Российская Федерация

²Российский университет дружбы народов, Медицинский институт, г. Москва, Российская Федерация

³Московский государственный университет, г. Москва, Российская Федерация

 svgur@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Воспаление является защитной реакцией организма на патоген с целью поддержания гомеостаза и регулируется иммунной, нервной и эндокринной системами. Гормоны адреналин и норадреналин вырабатываются в мозговом веществе надпочечников и в головном мозге и являются универсальными мессенджерами, запускающими передачу нервного импульса в синапсах, а также оказывают рецептор-опосредованное действие на иммунокомпетентные клетки. Цель настоящего исследования — изучение адренергического пути регуляции воспаления нейтрофильных гранулоцитов в присутствии активаторов рецепторов врожденного иммунитета. *Материалы и методы.* Нейтрофильные гранулоциты получали из периферической крови здоровых добровольцев в градиенте плотности

Histopaque 1077 и Histopaque 1119 (Sigma Aldrich, Штайнхайм, Германия) и культивировали в присутствии липополисахарида (ЛПС), глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП), адреналина и норадреналина. Количество нейтрофильных пептидов человека 1–3 (HNP1–3) исследовали с помощью иммуноферментного анализа; экспрессию генов *TLR4*, *NOD2*, *ATF3* и *A20* определяли с помощью RT-PCR. *Результаты и обсуждение.* Установлено, что норадреналин снижает синтез дефензинов HNP 1–3 как отдельно, так и в сочетании с агонистами рецепторов TLR4 и NOD2 — ЛПС и ГМДП соответственно. Установлено отсутствие статистически значимого влияния адреналина на продукцию HNP 1–3, в том числе при сочетании с ЛПС и ГМДП. В результате исследования выявлено повышение уровня экспрессии генов *TLR4*, *NOD2* и регулятора воспалительных реакций *A20* как в ЛПС-, так и в ГМДП-индуцированной культуре нейтрофилов, тогда как уровень *ATF3* повышался только в ЛПС-индуцированной культуре нейтрофилов. Адреналин продемонстрировал отсутствие статистически значимого влияния на экспрессию исследуемых генов, тогда как норадреналин значительно повышал экспрессию *A20*. *Выводы.* Полученные данные показывают, что норадреналин способен снижать синтез HNP 1–3, в том числе индуцируемый ЛПС и ГМДП. Более того, способность норадреналина индуцировать экспрессию *A20* может играть значительную роль в модуляции воспаления.

Ключевые слова: врожденный иммунитет, TLR4, NOD2, ЛПС, мурамилпептид, дефензины, пептиды нейтрофилов человека 1–3, адреналин, норадреналин, катехоламины, регуляция воспаления

Вклад авторов: С.В. Гурьянова — разработка дизайна исследования; С.В. Гурьянова и А.С. Ферберг, И.А. Сигматулин — исследования методами иммуноферментного анализа и RT PCR; С.В. Гурьянова, А.С. Ферберг, И.А. Сигматулин — подготовка рукописи. Все авторы прочитали и согласились с окончательной версией рукописи.

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

Информация о финансировании. Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства РУДН. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. От всех участников исследования было получено добровольное письменное информированное согласие с согласием на участие в исследовании, обработку персональных данных и публикацию данной статьи.

Поступила 02.06.2023. Принята 06.07.2023.

Для цитирования: Guryanova S.V., Ferberg A.S., Sigmatulin I.A. Inflammatory response modulation by epinephrine and norepinephrine // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. № 3. С. 329–341. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-329-341

Corresponding author: Svetlana V. Guryanova — PhD, Associate Professor, Department of Biology and General Genetics, Institute of Medicine, RUDN University, 117198, Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russian Federation, 177997, ul. Miklukho-Maklayay, 16/10, Moscow, Russian Federation. E-mail: svgur@mail.ru
Guryanova S.V. ORCID 0000-0001-6186-2462
Ferberg A.S. ORCID 0009-0001-8107-089X
Sigmatulin I.A. ORCID 0009-0008-2254-6932

Ответственный за переписку: Гурьянова Светлана Владимировна — кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и общей генетики медицинского института РУДН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10. E-mail: svgur@mail.ru






Гурьянова С.В. SPIN 6722-8695; ORCID 0000-0001-6186-2462
Ферберг А.С. ORCID 0009-0001-8107-089X
Сигматулин И.А. ORCID 0009-0008-2254-6932




DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-342-353
EDN: OLFHDI

REVIEW
ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Иммунологическое прогнозирование эффективности вспомогательных репродуктивных технологий

Л.В. Матвеева  , Г.В. Фомина , Е.В. Громова ,
Е.А. Алямкина , А.С. Галыня 

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, г. Саранск,
Российская Федерация
 MatveevaLjubov1@mail.ru

Аннотация. Высокая частота бесплодия является значимой медико-социальной проблемой многих стран мира, для решения активно применяются вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ). Учитывая, что в развитии и сохранении беременности важную роль играют иммунные реакции, изучение изменений иммунных параметров актуально в разных триместрах беременности, а также на этапе прегравидарной подготовки. Считается, что материнско-фетальные отношения не исчерпываются развитием материнской толерантности к антигенам плода, а дополняются сложными цитокиновыми взаимодействиями, управляющими селективной иммунной регуляцией, контролем процессов адгезии и васкуляризации во время имплантации эмбриона и беременности. Целью обзора стал анализ имеющихся научных сведений о применении иммунных параметров для прогнозирования эффективности ВРТ. Проведен обзор российских и зарубежных научных работ по распространенности, иммунопатогенетическим механизмам и диагностике бесплодия. Осуществлен многокритериальный поиск по изобретениям, рефератам патентных документов по иммунологическому прогнозированию эффективности ВРТ. В качестве предикторов представлены иммунокомпетентные клетки (CD3⁺, CD4⁺, CD3⁻CD16⁺56⁺-лимфоциты венозной крови, CD95⁺-макрофаги биоптата эндометрия), цитокины, гликопротеины беременности, аутоантитела, иммуногенетические маркеры. Исследование в сыворотке крови, фолликулярной жидкости яичников и эндометрии количественного уровня цитокинов как медиаторов межклеточных и межклеточных взаимодействий имеет несомненный научно-практический интерес в плане установления их дискриминационных уровней, специфичных для разных триместров нормально протекающей беременности, угрозы невынашивания, бесплодия. Отмечена ассоциация с ненаступлением беременности вследствие экстракорпорального оплодотворения повышенного содержания в фолликулярной жидкости интерлейкина (IL)-2 и интерферона (IFN)- γ , в сыворотке крови — растворимого рецептора IL-2- α , IL-8 и лактоферрина. Иммуносупрессивное действие ассоциированного с беременностью α 2-гликопротеина, трофобластического β 1-гликопротеина, α -фетопропротеина, α 2-макроглобулина способствует развитию и сохранению беременности, но оценка

© Матвеева Л.В., Фомина Г.В., Громова Е.В., Алямкина Е.А., Галыня А.С., 2023



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

их прогностической ценности не однозначна. Исследование в фолликулярной жидкости и сыворотке крови содержания иммуноглобулинов G к α 2-макроглобулину, лактоферрину, прогестерону, эстрадиолу, кардиолипину позволяет прогнозировать результат применения ВРТ. Выводы. Изучение иммунных показателей, особенно в комбинации с половыми гормонами и характеристикой состояния эмбриона, у инфертильных женщин обладает диагностической ценностью и прогностической значимостью, может способствовать своевременной коррекции терапии и программы ВРТ.

Ключевые слова: антитела, бесплодие, колониестимулирующий фактор, цитокин, прогнозирование беременности, репродуктивные технологии, экстракорпоральное оплодотворение

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии финансирования на подготовку статьи.

Вклад авторов: Матвеева Л.В. — концепция обзора; Матвеева Л.В., Фоминова Г.В., Громова Е.В., Алямкина Е.А., Галыня А.С. — сбор и анализ литературных данных, написание текста. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследования и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.


Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 28.04.2023. Принята 02.08.2023.

Для цитирования: Матвеева Л.В., Фоминова Г.В., Громова Е.В., Алямкина Е.А., Галыня А.С. Иммунологическое прогнозирование эффективности вспомогательных репродуктивных технологий // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. № 3. С. 342—353. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-342-353

The effectiveness of assisted reproductive technologies immunological prediction

Ljubov V. Matveeva  , Galina V. Fominova , Elena V. Gromova ,
Elena A. Alyamkina , Anastasiya S. Galynya 

Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation
 MatveevaLjubov1@mail.ru

Abstract. The high frequency of infertility is a significant medical and social problem in many countries of the world; assisted reproductive technologies (ART) are actively used to solve it. Given that immune responses play an important role in the development and maintenance of pregnancy, the study of changes in immune parameters is relevant in different trimesters of pregnancy, as well as at the stage of preconception preparation. It is believed that the maternal-fetal relationship is not limited to the development of maternal tolerance to fetal antigens, but is complemented by complex cytokine interactions that control selective immune regulation, control of adhesion and vascularization processes during embryo implantation and pregnancy. The purpose of the review was to analyze the available scientific data on the use of immune parameters to predict the effectiveness of ART. A review of Russian and foreign scientific papers on prevalence, immunopathogenetic mechanisms, and infertility diagnostics was carried out. A multi-criteria search was carried out for inventions, abstracts of patent documents on

immunological prediction of the effectiveness of ART. As predictors, immunocompetent cells (CD3⁺, CD4⁺, CD3-CD16⁺56⁺-venous blood lymphocytes, CD95⁺ macrophages of endometrial biopsy), cytokines, pregnancy glycoproteins, autoantibodies, immunogenetic markers are presented. The study of the quantitative level of cytokines in blood serum, ovarian follicular fluid and endometrium as mediators of intercellular and intertissue interactions is of undoubted scientific and practical interest in terms of establishing their discriminatory levels specific to different trimesters of a normal pregnancy, the threat of miscarriage, and infertility. There was an association with non-occurrence of pregnancy due to in vitro fertilization of an increased content of interleukin (IL)-2 and interferon (IFN)- γ in the follicular fluid, and a soluble receptor IL-2- α , IL-8 and lactoferrin in the blood serum. The immunosuppressive effects of pregnancy-associated α 2-glycoprotein, trophoblastic β 1-glycoprotein, α -fetoprotein, α 2-macroglobulin contribute to the development and maintenance of pregnancy, but their prognostic value is not unambiguous. The study of the content of immunoglobulins G to α 2-macroglobulin, lactoferrin, progesterone, estradiol, cardiolipin in the follicular fluid and blood serum makes it possible to predict the result of ART. *Conclusion.* The study of immune parameters, especially in combination with sex hormones and characteristics of the state of the embryo, in infertile women has diagnostic value and prognostic significance, and can contribute to the timely correction of therapy and the ART program.

Key words: antibodies, infertility, colony-stimulating factor, cytokine, pregnancy prediction, reproductive technologies, in vitro fertilization.

Funding. The authors declare that there is no funding for the preparation of the article.

Author contributions. Matveeva L.V. — concept of the review; Matveeva L.V., Fominova G.V., Gromova E.V., Alyamkina E.A., Galynya A.S. — collection and analysis of literary data, writing the text.

Conflict of interest information. The authors declare no conflicts of interest.

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 28.04.2023. Accepted 01.08.2023.

For citation: Matveeva LV, Fominova GV, Gromova EV, Alyamkina EA, Galynya AS. The effectiveness of assisted reproductive technologies immunological prediction. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):342—353. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-342-353

Введение

Иммunosuppressивные механизмы, развивающиеся при беременности и поддерживающие ее течение, весьма разнообразны [1]. В формировании толерантности иммунцитов матери к антигенам плода важную роль играет усиление активности CD4⁺Foxp3⁺-T-регуляторных лимфоцитов (Treg), интерлейкина (IL)-10 и индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), обуславливающее уменьшение цитотоксичности CD16⁺CD56⁺-клеток [2]. Установлено, что при беременности эстриол индуцирует секрецию IDO в моноцитах, через протеинкиназу А способствует повышению количества Treg, угнетает экспрессию молекулы CD16⁺ на натуральных

киллерных клетках (NK), тем самым усиливает плодосохраняющие иммунные реакции [2]. Также иммуносупрессивным действием обладают ассоциированный с беременностью α 2-гликопротеин (СБАГ), трофобластический β 1-гликопротеин (ТБГ), α -фетопропротеин (АФП). Так, АФП подавляет экспрессию молекул МНС II, фагоцитирующую и антигенпрезентирующую способность макрофагов, продукцию антител плазматическими клетками, пролиферативный ответ лимфоцитов на митоген, секрецию IL-1 β и туморнекротизирующего фактора (TNF)- α моноцитами, активность NK [1, 3]. Глюкокортикоиды у беременных женщин влияют на дифференцировку Т-хелперных лимфоцитов (Th),

блокируя продукцию Th1 провоспалительных цитокинов (TNF- α , интерферона (INF)- γ) и стимулируя образование Th2 иммуносупрессивных медиаторов (IL-4, IL-5, IL-10), что является важным для поддержания гестационного гомеостаза и неосложненного исхода родов [1].

При срыве иммунной толерантности вследствие инфицирования, стресса, гормонального дисбаланса, генитальных или экстрагенитальных заболеваний, ряда других факторов повышается риск бесплодия и невынашивания беременности.

Высказано предположение, что материнско-фетальные отношения не исчерпываются только развитием материнской толерантности к антигенам плода, а дополняются сложными цитокиновыми взаимодействиями, управляющими селективной иммунной регуляцией, контролем процессов адгезии и васкуляризации во время имплантации эмбриона и беременности [4].

В настоящее время высокая частота бесплодия является значимой медико-социальной проблемой многих стран мира и, по данным ВОЗ, касается 96–186 миллионов человек [5]. В регионах России частота бесплодия колеблется от 17,2 до 24 % [6], в Камеруне составляет 19,2 % [7], в Казахстане — 20 % [8], в столице Эфиопии — 27,6 % [9]. Во Франции у 3,3 миллионов человек диагностировано бесплодие [10].

Для лечения бесплодия активно применяются вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ): экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) и перенос эмбрионов (ПЭ), интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит (ИКСИ), внутриматочная инсеминация (ВМИ), криоконсервация гамет, эмбрионов и другие [6, 8]. Применение ВРТ показано при неэффективной терапии бесплодия в течение 12 месяцев у женщин до 35 лет или в течение 6 месяцев при возрасте женщины 35 лет и старше [6].

В Италии в 2017 г. доля детей, рожденных вследствие применения ВРТ, в структуре всех новорожденных составила 2,7 %, что на фоне снижения общей рождаемости является позитивной стабильной динамикой [11]. В 2018 г. во Франции

было применено около 150000 ВРТ, что привело к более 25000 родов (>3 % рожденных детей) [12].

На современном этапе ЭКО считается самым эффективным методом достижения беременности [6]. Так по данным исследования в Дании [13], из женщин, начавших лечение бесплодия с ВМИ, 35 % родили в течение 5 лет, 24 % — после перехода на программу ЭКО, 17 % — после естественного зачатия. Напротив, после начала лечения с ЭКО в течение 5 лет родили 53 % женщин, 11 % — после естественного зачатия и менее 1 % — после ВМИ.

Пятилетний показатель рождаемости сильно зависит от возраста женщин и колеблется от 80 % у женщин до 35 лет до 26 % у женщин ≥ 40 лет [13]. В частности, частота наступления беременности в результате ВРТ значительно снижается с увеличением возраста пациентки и у женщин до 35 лет составляет около 30 %, после 35 лет снижается в 2 раза, в 40 лет не превышает 10 %, после 43-летнего возраста стремится к нулю. Вероятность родов снижается с увеличением числа неудачных циклов ВРТ [6, 14].

Изучение изменений иммунных параметров актуально в разных триместрах беременности, а также на этапе прегравидарной подготовки, особенно при применении вспомогательных репродуктивных технологий. Важность оценки иммунного и гормонального статусов определяется диагностической ценностью и прогностической значимостью маркеров, коррелирующих с течением и исходом беременности.

Целью данного обзора стал анализ имеющихся научных сведений о применении иммунных параметров для прогнозирования эффективности вспомогательных репродуктивных технологий.

Материал и методы

Проведен обзор российских и зарубежных научных работ, представленных в научной электронной библиотеке eLibrary и в базах данных PubMed, Scopus, по распространенности, иммунопатогенетическим механизмам, диагностике бесплодия. Ключевыми словами служили «антитела», «бесплодие», «колониестимулирующий фактор», «цитокин», «прогнозирование беременности», «ре-

продуктивные технологии», «экстракорпоральное оплодотворение», «antibodies», «infertility», «colony-stimulating factor», «cytokine», «pregnancy prediction», «reproductive technologies», «in vitro fertilization». Осуществлен многокритериальный поиск по изобретениям, рефератам патентных документов на русском и английском языках по иммунологическому прогнозированию эффективности ВРТ.

Иммунокомпетентные клетки как предикторы эффективности ВРТ

Иммуноциты яичников за счет секреции цитокинов способны регулировать процессы фолликулогенеза, овуляции, развития и регрессии желтого тела, синтез стероидных гормонов [15].

Ранее предложено перед ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в лютеиновую фазу цикла определять относительное количество CD95⁺-макрофагов в лейкоцитарном инфильтрате биоптата эндометрия и при значении $\geq 48,8$ % с точностью 80 % прогнозировать наступление беременности, при меньшем содержании — отсутствие. Предположительно, большая численность CD95⁺-макрофагов в эндометрии отражает адекватную активацию макрофагов, необходимую для успешной имплантации и развития беременности [16].

Разработан способ прогнозирования наступления клинической беременности у женщин с индексом массы тела $\geq 28,5$ в программе ЭКО по оценке относительного количества мононуклеаров периферической крови с высокополяризованными митохондриями до и после стимуляции суперовуляции и измерении объема талии. По данным Горшиловой В.К. и соавторов, точность прогнозирования наступления беременности по предложенному уравнению логистической регрессии составила 82,6 % [17].

Ранее предложено у инфертильных женщин при лечении бесплодия по стандартному длинному протоколу ЭКО в середине лютеиновой фазы менструального цикла исследовать количество рецепторов прогестерона в мононуклеарной фракции клеток периферической крови и при величине > 700 предсказывать наступление беременности [18].

Известно, что маточные НК-клетки выполняют важную роль в процессе имплантации: активируются и накапливаясь в маточных железах и вокруг маточных артерий в месте имплантации, участвуют в ремоделировании сосудов [19]. Считается, что рецептивность матки оптимальна при достаточном количестве активированных НК-клеток [4]. Цитокиновый дисбаланс может сопровождаться трансформацией НК-клеток в лимфокин-активированные киллеры (LAK), способные лизировать клетки трофобласта [20], секретировать TNF- α и INF- γ , которые в высоких дозах индуцируют спонтанный аборт [19].

Известен способ прогнозирования риска прерывания беременности на раннем сроке после ЭКО и ПЭ у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием по прогностическому индексу (PI) на основе абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов, CD3⁺-, CD4⁺-, CD3⁺CD16⁺56⁺-популяций лимфоцитов венозной крови. При PI $< -0,1$ делают благоприятный прогноз вынашивания беременности, при $0,1 < PI < -0,1$ пациенток включают в группу риска по раннему прерыванию беременности, при PI $> 0,1$ предсказывают высокий риск прерывания беременности в I триместре. Специфичность и чувствительность определения PI > 80 % [21].

Цитокины как предикторы эффективности ВРТ

Исследование в сыворотке крови, фолликулярной жидкости яичников и эндометрии количественного уровня цитокинов как медиаторов межклеточных и межтканевых взаимодействий имеет несомненный научно-практический интерес в плане установления дискриминационных уровней иммунных параметров, специфичных для разных триместров нормально протекающей беременности, угрозы невынашивания, бесплодия. Трудности интерпретации содержания иммуномедиаторов с определением их диагностической и прогностической ценности обусловлены многообразием, плеiotропностью и полифункциональностью цитокинов.

В роли предикторов эффективности ВРТ рядом исследователей [15, 22] предлагается оценка

содержания интерлейкинов, интерферонов, колониестимулирующих факторов, TNF- α , факторов роста с доминирующей про- или противовоспалительной активностью. Представленные в научной литературе данные не однозначны из-за дуализма действия некоторых цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, INF- γ) в условиях микроокружения [4, 23, 24].

Ранее установлено, что при преждевременных родах и при преждевременном разрыве плодных оболочек уровни IL-1 β и IL-6 увеличиваются. На молекулярном уровне выявлено, что в амниохорионе индуцировалась экспрессия каспаз 8 и 9 под действием IL-1 β и IL-6, каспаз 2 и 3 при стимуляции IL-1 β , как и фрагментация ДНК. Следовательно, IL-1 β является индуктором апоптоза клеток плодных оболочек человека в большей степени, чем IL-6, а повышение его количества коррелирует с прерыванием беременности на раннем сроке [23].

Выявлена ассоциация с ненаступлением беременности вследствие ЭКО содержания в фолликулярной жидкости IL-2 ≥ 15 пг/мл, INF- $\gamma \geq 11$ пг/мл. Вероятным объяснением неблагоприятного исхода служит индуцированная IL-2 активация цитотоксичности CD3⁺CD4⁻CD8⁺- и CD3⁻CD16⁺56⁺-клеток. Кроме того, увеличение количества INF- γ сопровождалось уменьшением частоты дробления и формирования blastocyst [22].

Имеются свидетельства ассоциации увеличенных сывороточных уровней растворимого рецептора IL-2- α (IL-2 sR- α) и INF- γ с невынашиванием беременности после ЭКО. В работе Fasouliotis S.J. et al. [24] показано, что содержание IL-2 sR- α у пациенток с невынашиванием беременности на ранних сроках значительно превышало количество рецептора у женщин с нормальным течением беременности, а при значениях маркера ≥ 1000 пг/мл прогнозировался неблагоприятный исход беременности. Частота имплантации эмбриона была ниже у INF- γ -положительных пациенток (37,6 %) по сравнению с INF- γ -отрицательными женщинами (50 %), при этом риск неблагоприятного исхода беременности при ЭКО в два раза был выше у первых. Не выявлено зависимости исхода беременности от уровня TNF- α .

По данным Н.О. Мотовиловой и соавт. [15], после ЭКО у больных бесплодием женщин наступление или отсутствие беременности не сопровождалось достоверными различиями содержания в фолликулярной жидкости гранулоцитарного (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагального (GM-CSF) колониестимулирующих факторов. Отмечены слабые позитивные корреляционные связи между уровнем GM-CSF и числом растущих при гонадотропной стимуляции фолликулов, количеством яйцеклеток, полученных при пункции яичников. При этом, напротив, выявлена слабая негативная взаимосвязь содержания в фолликулярной жидкости яичников GM-CSF и частоты оплодотворения, предположительно являющаяся следствием влияния на ооцит стимуляции яичников гонадотропинами.

Имеются данные об участии GM-CSF во взаимодействии ооцита и соматических (гранулезных) клеток, в активизации роста фолликула, синтеза прогестерона, пролиферации и дифференцировки клеток blastocyst, эмбриона, в формировании толерантности иммунцитов матери к антигенам плода [1, 15].

Экспрессия G-CSF и его рецептора определяется в гранулезных клетках яичников, в децидуальной оболочке, трофобласте [15]. Количество G-CSF в сыворотке крови повышается в первой фазе естественного менструального цикла и во время стимуляции яичников гонадотропинами, содействуя росту фолликула и овуляции [15]. A. Salmassi и соавт. установили прямую взаимосвязь частоты наступления беременности с содержанием в крови G-CSF во время пункции фолликулов [25]. Н.О. Мотовиловой и соавт. обнаружена умеренной силы позитивная корреляционная связь содержания в фолликулярной жидкости G-CSF и возрастом больных бесплодием женщин, предположительно являющаяся следствием адаптации яичников к стимуляции гонадотропинами [15]. Сочетанная оценка количества G-CSF в фолликулярной жидкости и состояния эмбрионов позволяет прогнозировать наступление беременности в программе ЭКО при значениях цитокина ≥ 410 пг/мл и наличии эмбрионов морфологически хорошего качества, чувствительность способа — 80 %, специфичность — 83 % [26].

Ранее предложен способ прогнозирования эффективности программ ЭКО по сывороточному уровню IL-8 и лактоферрина (ЛФ) при трубно-перитонеальном бесплодии, ассоциированном с хроническим эндометритом [27]. В день пункции фолликулов в программе ЭКО в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа определяют количество маркеров и прогнозируют высокую вероятность положительного результата ЭКО при концентрации ЛФ $\leq 1,8$ мкг/мл, IL-8 ≤ 10 пг/мл, негативного результата при содержании ЛФ $> 2,0$ мкг/мл и IL-8 > 10 пг/мл с рекомендацией криоконсервации и отсроченного переноса эмбриона.

Имеется способ прогнозирования исхода программы ЭКО и ПЭ: в фолликулярной жидкости определяют количества TNF- α , фактора роста фибробластов- β и рассчитывают PI по формуле. При значении PI $< 0,3038$ прогнозируют благоприятный исход оплодотворения *in vitro*, при PI $\geq 0,3038$ — неблагоприятный исход [28].

У пациенток позднего репродуктивного возраста обнаружено уменьшение экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора (VEGF), способствующее нарушениям васкуляризации эндометрия [29].

Гликопротеины беременности для оценки эффективности ВРТ

При исследовании количественного уровня ТБГ, секретируемого клетками синцитиального слоя трофобласта и плаценты, у беременных с ЭКО получены статистически значимые различия в зависимости от исхода применения ВРТ [30]. Сниженную концентрацию ТБГ имели около 60 % беременных после ЭКО и лишь 3,3 % пациенток со спонтанной беременностью. При этом угроза преждевременных родов ассоциировалась с двукратным уменьшением сывороточного количества гликопротеина, а устранение клинических признаков сопровождалось ростом маркера на 56 %, но без достижения значений здоровых беременных. В прогностическом плане вероятность спонтанного прерывания беременности равняется 100 % при снижении уровня ТБГ в 5 раз

и более от исходного, 30–33 % — при сокращении в 2–4 раза [30].

В работе Мальцевой Н.В. и соавт. показано, что у женщин с трубным бесплодием до применения программ ЭКО сывороточное содержание $\alpha 2$ -макроглобулина (МГ) не отличалось от значений здоровых небеременных женщин, в результате ЭКО забеременели 50 % пациенток с количеством МГ 2,75–4,55 мкмоль/л и 36 % — с концентрацией МГ $< 2,75$ мкмоль/л. [31]. Применение гонадотропинов приводило к повышению уровня МГ у половины infertильных женщин, ассоциированного с беременностью $\alpha 2$ -гликопротеина (АБГ) — у 18 %. У всех забеременевших пациенток после ЭКО количество АБГ увеличивалось в 7 раз относительно небеременных и в 4 раза при сравнении с уровнем при физиологической беременности. Соотношение МГ/АБГ отрицательно коррелировало с фактом наступления беременности у женщин с трубным бесплодием в программах ЭКО.

Аутоантитела как предикторы эффективности ВРТ

Для прогнозирования ранних потерь плода при индуцированной беременности у женщин с наступившей в программе ЭКО беременностью рекомендуется определять в фолликулярной жидкости уровень иммунных комплексов МГ-иммуноглобулин (Ig) G и ЛФ-IgG и при количестве МГ-IgG $< 0,6$ мкг/мл, ЛФ-IgG $< 0,8$ мкг/мл прогнозировать высокую вероятность прерывания беременности на раннем сроке [32]. Способ предназначен для своевременной оценки риска репродуктивной потери и назначения интенсивной поддержки лютеиновой фазы по показаниям сразу после забора ооцитов.

У infertильных женщин перед стимуляцией яичников в программах ВРТ в половине случаев в сыворотке крови выявляются IgM, IgG к прогестерону и эстрадиолу, что сочетается с пятикратным снижением частоты имплантации; точность метода превышает 70 % [33].

С помощью искусственного интеллекта разработаны модели прогнозирования исходов беременности у пациенток после применения ВРТ. Показано, что больший титр IgG к кардиолипину без превышения дискриминационного уровня ассоциирован с рождением живого ребенка [34].

Иммуногенетические маркеры прогнозирования эффективности ВРТ

В целях прогнозирования исходов ЭКО и ПЭ у инфертильных женщин предложено определять полиморфизм генов Human Leukocytes Antigens (HLA) II класса в лейкоцитах периферической венозной крови до начала стимуляции яичников. При выявлении носительства гаплотипов DQA1*0101-DQB1*0501 или DQA1*0102-DQB1*0502, предположительно ассоциируемых с нарушением имплантации бластоцисты при срыве иммунной

толерантности матери к антигенам плода, прогнозируют неблагоприятный исход ВРТ (табл.), напротив, при отсутствии носительства указанных гаплотипов предсказывают наступление беременности с точностью 81,1 % [35].

Разработан способ прогнозирования результатов ЭКО у пациенток с аутоиммунными заболеваниями [36], когда до овариальной стимуляции яичников определяют наличие аднексита в анамнезе, HLA-антигенов B18, Cw3, Cw4 в фенотипе, количество тромбоцитов в коагулограмме с вычислением прогностического индекса F. При значениях F больше 0 предсказывают наступление беременности в результате проведения ЭКО и ПЭ, при индексе меньше 0 — неблагоприятный исход. Ассоциация иммунных параметров с результативностью вспомогательных репродуктивных технологий представлены в таблице.

Таблица / Table

Ассоциация иммунных параметров с результативностью вспомогательных репродуктивных технологий / Association of immune parameters with the effectiveness of assisted reproductive technologies

Параметр / Parameter	Положительный результат / Positive result	Негативный результат / Negative result	Источник / References
Количество рецепторов прогестерона в мононуклеарах периферической крови в середине лютеиновой фазы цикла / Number of progesterone receptors in peripheral blood mononuclear cells in the middle of the luteal phase of the cycle	>700	<700	[18]
Количество CD95 ⁺ -макрофагов в лейкоцитарном инфильтрате биоптата эндометрия, % / Number of CD95 ⁺ -macrophages in the leukocyte infiltrate of the endometrial biopsy, %	≥48,8	<48,8	[16]
IL-2 в фолликулярной жидкости, пг/мл / IL-2 in follicular fluid, pg/ml	<15	≥15	[22]
IL-2 sR-α в сыворотке, пг/мл / IL-2 sR-α in serum, pg/ml	<1000	≥1000	[24]
IL-8 в сыворотке, пг/мл / IL-8 in serum, pg/ml	≤10	>10	[27]
INF-γ в фолликулярной жидкости, пг/мл / INF-γ in follicular fluid, pg/ml	<11	≥11	[22]
G-CSF в фолликулярной жидкости, пг/мл / G-CSF in follicular fluid, pg/ml	≥410	<410	[26]
Лактоферрин в сыворотке, мкг/мл / Lactoferrin in serum, mcg/ml	≤1,8	>2,0	[27]
α2-макроглобулин-IgG в фолликулярной жидкости, мкг/мл / α2-macroglobulin-IgG in follicular fluid, mcg/ml	>0,6	<0,6	[32]
Лактоферрин-IgG в фолликулярной жидкости, мкг/мл / Lactoferrin-IgG in follicular fluid, mcg/ml	>0,8	<0,8	[32]
Носительство гаплотипа DQA1*0101-DQB1*0501 HLA II класса в лейкоцитах венозной крови / Carriage of haplotype DQA1*0101-DQB1*0501 HLA class II in venous blood leukocytes	Отсутствует / absent	Имеется / available	[35]
Носительство гаплотипа DQA1*0102-DQB1*0502 HLA II класса в лейкоцитах венозной крови / Carriage of haplotype DQA1*0102-DQB1*0502 HLA class II in venous blood leukocytes	Отсутствует / absent	Имеется / available	[35]

Выводы

Развитию и сохранению беременности способствует сложная регуляция иммунных реакций в женском организме. Материнско-фетальные отношения не исчерпываются развитием толерантности к антигенам плода: супрессивные механизмы дополняются изменениями цитокинового профиля и иммунокомпетентных клеток, активирующими и контролирующими процессы адгезии и васкуляризации во время имплантации эмбриона и беременности.

Вследствие инфицирования, стресса, гормонального дисбаланса, генитальных или экстрагенитальных заболеваний, ряда других факторов нарушаются иммунные взаимодействия в системе мать-плод и повышается риск невынашивания беременности и бесплодия.

В лечении бесплодия активно применяются ВРТ, из которых ЭКО считается самым эффективным методом достижения беременности.

Для прогнозирования результативности ВРТ успешно может использоваться оценка иммунных параметров, особенно в комбинации с половыми гормонами и характеристикой состояния эмбриона. Актуальны исследования количественного уровня и функционального состояния иммунокомпетентных клеток, цитокинов и их рецепторов, гликопротеинов беременности, аутоантител к половым гормонам и другим антигенам, иммуногенетических маркеров.

Определение части иммунных параметров в периферической крови, сыворотке, фолликулярной жидкости сопоставимо по чувствительности, специфичности и с высокой точностью позволяет прогнозировать результат применения ВРТ. Ряд иммуноцитов и цитокинов статистически значимо различается по содержанию в исследуемом материале на разных этапах прегравидарной подготовки и беременности.

Таким образом, изучение иммунных показателей у инфертильных женщин актуально, обладает диагностической ценностью и прогностической значимостью, может способствовать своевременной коррекции терапии и программы ВРТ.

Библиографический список

1. Мамиев О.Б., Гужвина Е.Н., Мороз М.В., Григорян Н.В., Мамиев В.О. Состояние некоторых иммуносупрессивных механизмов в системе мать-плацента-плод при различных типах ее адаптации к родовому стрессу // Вестник ВолгГМУ. 2009. Т. 31. № 3. С. 99–101.
2. Некрасова И.В., Ширшев С.В. Формирование толерогенных свойств мононуклеарных клеток под действием эстриола // Российский иммунологический журнал. 2012. Т. 6 (15). № 1. С. 45–50.
3. Черешнев В.А., Родионов С.Ю., Черкасов В.А., Малюткина Н.Н., Орлов О.А. Альфа-фетопротеин. Екатеринбург: УрО РАН. 2004. 376 с.
4. Chaouat G., Zourbas S., Ostojic S., Lappree-Delage G., Dubanchet S., Ledee N., Martal J. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy // J Reprod Immunol. 2002. V. 53. P. 241–256. doi: 10.1016/s0165-0378(01)00119-x
5. Информационный бюллетень ВОЗ. Бесплодие. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/infertility> [Дата обращения: 18.04.2023].
6. ООО «Российское общество акушеров-гинекологов» (РОАГ). ООО «Российская ассоциация репродукции человека» (РАРЧ). Клинические рекомендации. Женское бесплодие. 2021. Режим доступа: https://mosgorzdrav.ru/uploads/imperavi/ru-RU/женское_бесплодие_2021.pdf [Дата обращения: 18.04.2023].
7. Egbe T.O., Mbaki C.N., Tendongfor N., Temfack E., Bellepriso E. Infertility and associated factors in three hospitals in Douala, Cameroon: a cross-sectional study // Afr. Health. Sci. 2020. V. 20 (4). P. 1985–1995.
8. Рыбина А.Н., Исенова С.Ш., Локишин В.Н. Современные аспекты вспомогательных репродуктивных технологий в мире и Казахстане // Вестник КазНМУ. 2019. № 1. С. 17–22.
9. Akalewold M., Yohannes G.W., Abdo Z.A., Hailu Y., Negesse A. Magnitude of infertility and associated factors among women attending selected public hospitals in Addis Ababa, Ethiopia: a cross-sectional study // BMC Women's Health. 2022. V. 22. 11 p. doi:10.1186/s12905-022-01601-8
10. Ben Messaoud K., Bouyer J., de La Rochebrochard E. Infertility Treatment in France, 2008–2017: A Challenge of Growing Treatment Needs at Older Ages // Am J Public Health. 2020. V. 110. № 9. P. 1418–1420. doi: 10.2105/AJPH.2020.305781.
11. Локишин В.Н., Корсаков В.С., Фельдберг Д., Смирнова А.А., Колода Ю.А., Еришова А., Шурыгина О.В. ВРТ в условиях пандемии: организация деятельности лабораторий ВРТ. Международная встреча экспертов // Репрод. медицина. 2020. № 2 (43). С. 61–66. doi: 10.37800/RM2020-1-18
12. Bourrion B., Panjo H., Bithorel P.L., de La Rochebrochard E., François M., Pelletier-Fleury N. The economic burden of infertility treatment and distribution of expenditures overtime in France: a self-controlled pre-post study // BMC Health Services Research. 2022. V. 22. P. 512. doi: 10.1186/s12913-022-07725-9
13. Malchau S.S., Henningsen A.A., Loft A., Rasmussen S., Forman J., Nyboe Andersen A., Pinborg A. The long-term prognosis for live birth in couples initiating fertility treatments // Hum. Reprod. 2017. V. 32. № 7. P. 1439–1449. doi: 10.1093/humrep/dex096.
14. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению). Клинические рекомендации (протокол лечения) МЗ РФ. 2019. 70 с.
15. Мотовилова Н.О., Коган И.Ю., Тотолян Арег А. Секретция колониестимулирующих факторов в яичниках у больных

- с бесплодием в цикле ЭКО // Журн. акуш. и жен. болезней. 2012. Т. LXI. Вып. 3. С. 35–40.
16. Патент РФ на изобретение № 2523401 / 20.07.2014. Бюл. № 20. Богатова И.К., Анциферова Ю.С., Бойцова А.В. Способ прогнозирования наступления беременности у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в программе экстракорпорального оплодотворения. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2523401C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
17. Патент РФ на изобретение № 2616240 / 13.04.2017. Бюл. № 11. Горшилова В.К., Володина М.А., Тарасова Н.В., Высоких М.Ю., Смольникова В.Ю., Калинина Е.А., Сухих Г.Т. Прогнозирование вероятности наступления клинической беременности у женщин с индексом массы тела от 28,5 и выше в программе экстракорпорального оплодотворения на основании оценки окружности талии и изменения доли мононуклеаров периферической крови с высокополяризованными митохондриями в результате стимуляции суперовуляции. Режим доступа: <https://patentdb.ru/patent/2616240> [Дата обращения: 18.04.2023].
18. Патент РФ на изобретение № 2430379 / 27.09.2011. Бюл. № 27. Савельева Г.М., Шимановский Н.Л., Клименко П.А., Карева Е.Н., Каппушева Л.М., Сукновалова М.В., Крамаренко М.П. Способ прогнозирования наступления беременности в программе экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в стандартном длинном протоколе стимуляции суперовуляции. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2430379C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
19. *Ledee-Bataille N., Dubanchet S., Kadoch J., Castelo-Branco A., Frydman R., Chaouat G.* Controlled natural in vitro fertilization may be an alternative for patients with repeated unexplained implantation failure and a high uterine natural killer cell count // *Fertility Sterility*. 2004. V. 82. № 1. P. 234–236. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.12.030
20. *Coulam C.B., Goodman C.* Increased pregnancy rates after IVF/ET with intravenous immunoglobulin treatment in women with elevated circulating C56+ cells // *Early Pregnancy*. 2000. V. 4. P. 90–98.
21. Патент РФ на изобретение № 2567731 / 10.11.2015. Бюл. № 3. Кожекина Ю.Н., Ковалев В.В., Чистякова Г.Н., Мазуров А.Д., Ремизова И.И. Способ прогнозирования риска прерывания беременности в раннем сроке после экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов у пациенток с бесплодием трубно-перитонеального генеза. Режим доступа: <https://patentdb.ru/patent/2567731> [Дата обращения: 18.04.2023].
22. Абдулмеджидова А.Г., Цибизов А.С., Краснопольская К.В., Померанцева Е.И., Красова Н.К., Куц А.А. Высокие уровни интерлейкина 2 и интерферона гамма в фолликулярной жидкости и в сыворотке крови коррелируют со снижением эффективности лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения // *Росс. иммунол. журнал*. 2012. Т. 15. № 6. С. 35–44.
23. *Fortunato S.J., Menon R.* IL-1 β is a better inducer of apoptosis in human fetal membranes than IL-6 // *Placenta*. 2003. V. 24. № 10. P. 922–927.
24. *Fasouliotis S.J., Spandorfer S.D., Witkin S.S., Schattman G., Liu H.C., Roberts J.E., Rosenwaks Z.* Maternal serum levels of interferon-gamma and interleukin-2 soluble receptor-alpha predict the outcome of early IVF pregnancies // *Hum. Reprod*. 2004. V. 19. № 6. P. 1357–1363. doi: 10.1093/humrep/deh169
25. *Salmassi A., Schmutzler A.G., Huang L., Hedderich J., Jonat W., Mettler L.* Detection of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulosa cells // *Fertil. Steril*. 2004. V. 81. Suppl 1. P. 786–91. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.039
26. Патент РФ на изобретение № 2784576 / 28.11.2022. Бюл. № 34. Нгуен К.Т., Махмадалиева М.Р., Джемлиханова Л.Х., Лесик Е.А., Комарова Е.М., Ткаченко Н.Н., Ниаури Д.А., Гзгзян А.М., Коган И.Ю. Способ прогнозирования наступления клинической беременности в циклах ЭКО у пациенток с прогнозируемым субоптимальным ответом на контролируруемую овариальную стимуляцию. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2784576C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
27. Патент РФ на изобретение № 2677467 / 17.01.2019. Бюл. № 2. Лихачева В.В., Зорина В.Н., Андропова Т.М., Зорин Н.А., Шилова Н.В., Лихачев А.Г. Способ прогнозирования эффективности программ ЭКО при трубно-перитонеальном бесплодии, ассоциированном с хроническим эндометритом. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2677467C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
28. Патент РФ на изобретение № 2273031 / 27.03.2006. Бюл. № 9. Кузьмин А.В., Орлов В.И., Сагамонова К.Ю., Ефанова Е.А., Ломтева С.В., Ермоленко Е.Н. Способ прогнозирования исходов программы ЭКО и ПЭ. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2273031C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
29. *Кравцова Е.И., Колесникова Н.В., Лукошкина И.Н., Урюпина К.В., Авакимян В.А.* Иммунологические и иммуногистохимические особенности имплантационного фактора эндометрия у здоровых пациенток позднего репродуктивного возраста // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2023. Т. 27. № 1. С. 46–56. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-1-46-5
30. *Эштемурова Х.А., Саиджалилова Д.Д., Аюпова Д.А.* Изменения уровня трофобластического β -гликопротеина у беременных с ЭКО при невынашивании // *Материалы XVII международного конгресса по репродуктивной медицине*. М., 2023. С. 139–140.
31. *Мальцева Н.В., Маркина Л.А., Баженова Л.Г., Чирикова Т.С., Белогорова Т.И.* Сравнительный анализ содержания α 2-макроглобулина и ассоциированного с беременностью α 2-гликопротеина в сыворотке крови женщин при экстракорпоральном оплодотворении // *Сибирский медицинский журнал*. 2007. № 4. С. 60–65.
32. Патент РФ на изобретение № 2394495 / 20.07.2010. Бюл. № 20. Зорина Р.М., Маркина Л.А., Зорина В.Н., Баженова Л.Г., Полукаров А.Н., Меденкова Н.К. Способ прогнозирования риска ранних плодовых потерь при индуцированной беременности в программах ЭКО. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2394495C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
33. *Менжинская И.В., Краевая Е.Е., Калинина Е.А., Ванько Л.В., Долгушина Н.В.* Прогностическое значение аутоиммунных маркеров в программах вспомогательных репродуктивных технологий // *Акушерство и гинекология*. 2021. № 3. С. 130–137. doi: 10.18565/aig.2021.3.130-137
34. *Huang C., Xiang Z., Zhang Y., Tan D.S., Yip C.K., Liu Z., Li Y., Yu S., Diao L., Wong L.Y., Ling W.L., Zeng Y., Tu W.* Using Deep Learning in a Monocentric Study to Characterize Maternal Immune Environment for Predicting Pregnancy Outcomes in the Recurrent Reproductive Failure Patients // *Front. Immunol*. 2021. № 12. P. 642167. doi: 10.3389/fimmu.2021.642167
35. Патент РФ на изобретение № 2474822 / 10.02.2013. Бюл. № 4. Мальшикина А.И., Липин М.А., Фетисова И.Н., Богатова И.К., Дюжев Ж.А., Полумискова Е.В. Способ прогнозирования исхода экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2474822C1> [Дата обращения: 18.04.2023].
36. Патент РФ на изобретение № 2345715 / 10.02.2009. Бюл. № 4. Ярыгина Т.В., Башмакова Н.В., Мазуров А.Д. Способ прогнозирования результатов экстракорпорального оплодотворения у пациенток с аутоиммунными заболеваниями. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2345715C2> [Дата обращения: 18.04.2023].

References

- Mamiev OB, Guzhvina EN, Moroz MV, Grigoryan NV, Mamiev VO. Condition of several immunosuppressive mechanisms in the system of mother-placenta-fetus with different types of its adaptation to the birth stress. *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2009;3(31):99–101. (In Russian).
- Nekrasova IV, Shirshv SV. Forming of mononuclear cells toleragenic features under the estriol influence. *Russian Journal of Immunology*. 2012; 6 (15): 45–50. (In Russian).
- Chereshnev VA, Rodionov SY, Cherkasov VA, Malyutina NN, Orlov OA. Alpha-fetoprotein. Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2004. 376 p. (In Russian).
- Chaouat G, Zourbas S, Ostojic S, Lappree-Delage G, Dubanchet S, Ledee N, Martal J. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. *J. Reprod. Immunol*. 2002;53:241–256. doi: 10.1016/s0165-0378(01)00119-x
- WHO Newsletter. Infertility. Available from: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/infertility> [Accessed 2023 April 18].
- Russian Society of Obstetricians and Gynecologists (ROAG). Russian Association of Human Reproduction (RAHR). Clinical guidelines. female infertility. 2021. Available from: https://mosgorzdrav.ru/uploads/imperavi/ru-RU/женское_бесплодие_2021.pdf. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).
- Egbe TO, Mbaki CN, Tendongfor N, Temfack E, Belley-priso E. Infertility and associated factors in three hospitals in Douala, Cameroon: a cross-sectional study. *Afr. Health Sci*. 2020; 20(4): 1985–1995.
- Rybina AN, Isenova SS, Lokshin VN. Modern aspects of assisted reproductive technologies in the world and Kazakhstan. *Vestnik KazNMU*. 2019;1:17–22.
- Akalewold M, Yohannes GW, Abdo ZA, Hailu Y, Negesse A. Magnitude of infertility and associated factors among women attending selected public hospitals in Addis Ababa, Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC Women's Health*. 2022; 22:11 p. doi: 10.1186/s12905-022-01601-8
- Ben Messaoud K, Bouyer J, de La Rochebrochard E. Infertility Treatment in France, 2008–2017: A Challenge of Growing Treatment Needs at Older Ages. *Am. J. Public. Health*. 2020;110(9):1418–1420. doi: 10.2105/AJPH.2020.305781.
- Lokshin VN, Korsak VS, Feldberg D, Smirnova AA, Koloda YA, Ershova A, Shurygina OV. ART in a pandemic: organization of activities ART laboratories. International meeting experts. *Reproductive Medicine*. 2020;2(43):61–66. doi: 10.37800/RM2020-1-18 (In Russian).
- Bourrion B, Panjo H, Bithorel PL, de La Rochebrochard E, François M, Pelletier-Fleury N. The economic burden of infertility treatment and distribution of expenditures overtime in France: a self-controlled pre-post study. *BMC Health Services Research*. 2022;22:512. doi: 10.1186/s12913-022-07725-9
- Malchau SS, Henningsen AA, Loft A, Rasmussen S, Forman J, Nyboe Andersen A, Pinborg A. The long-term prognosis for live birth in couples initiating fertility treatments. *Hum. Reprod*. 2017; 32 (7): 1439–1449. doi: 10.1093/humrep/dex096.
- Clinical recommendations (treatment protocol) of the Ministry of Health of the Russian Federation «Female infertility (modern approaches to diagnosis and treatment)». 2019. 70 p. (In Russian).
- Motovilova NO, Kogan IY, Totolian AA. Ovaries colony-stimulating factors secretion in patients with infertility in IVF cycles. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 2012; LXI (3):35–40. (In Russian).
- Patent RUS № 2523401 / 20.07.2014. Byul. № 20. Bogatova IK, Antsiferova JS, Bojtsova AV. Method for prediction of onset of pregnancy in females with tubal-peritoneal infertility in in vitro fertilization programme. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2523401C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).
- Patent RUS № 2616240 / 13.04.2017. Byul. № 11. Gorshilova VK, Volodina MA, Tarasova NV, Vysokikh MY, Smolnikova VY, Kalinina EA, Sukhikh GT. Predicting likelihood of onset of clinical pregnancy of women with BMI 28,5 and above in vitro fertilization program based on estimates of waist circumference and changes in share of peripheral blood mononuclear with highly mitochondria as a result of superovulation. Available from: <https://patentdb.ru/patent/2616240>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).
- Patent RUS № 2430379 / 27.09.2011 Byul. № 27. Savel'eva GM, Shimanovskij NL, Klimenko PA, Kareva EN, Kappusheva LM, Suknovalova MV, Kramarenko MP Method of predicting pregnancy in programme of extracorporeal fertilisation and transfer of embryos in standard long protocol of superovulation stimulation. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2430379C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).
- Ledee-Bataille N, Dubanchet S, Kadoch J, Castelo-Branco A, Frydman R, Chaouat G. Controlled natural in vitro fertilization may be an alternative for patients with repeated unexplained implantation failure and a high uterine natural killer cell count. *Fertility Sterility*. 2004;82(1):234–236. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.12.030
- Coulam CB, Goodman C. Increased pregnancy rates after IVF/ET with intravenous immunoglobulin treatment in women with elevated circulating C56+ cells. *Early Pregnancy*. 2000;4:90–98.
- Patent RUS № 2567731/ 10.11.2015 Byul. № 3. Kozhekina Yu. N., Kovalev V.V., Chistyakova G.N., Mazurov A.D., Remizova I.I. A method for predicting the risk of early pregnancy termination after in vitro fertilization and embryo transfer in patients with tubal peritoneal infertility genesis. Available from: <https://patentdb.ru/patent/2567731>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).
- Abdulmedzhidova AG, Tsbizov AS, Krasnopolskaya KV, Pomerantseva EI, Krasova NK, Kushch AA. The high levels of interleukin 2 and interferon gamma in follicular fluid and blood serum correlate with decrease in efficiency of infertility treatment by method of in vitro fertilization. *Russian Journal of Immunology*. 2012;6(15):35–44. (In Russian).
- Fortunato SJ, Menon R. IL-1 β is a better inducer of apoptosis in human fetal membranes than IL-6. *Placenta*. 2003;24(10):922–927.
- Fasouliotis SJ, Spandorfer SD, Witkin SS, Schattman G, Liu HC, Roberts JE, Rosenwaks Z. Maternal serum levels of interferon-gamma and interleukin-2 soluble receptor-alpha predict the outcome of early IVF pregnancies. *Hum. Reprod*. 2004;19(6):1357–1363. doi: 10.1093/humrep/deh169
- Salmassi A, Schmutzler AG, Huang L, Hedderich J, Jonat W, Mettler L. Detection of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulosa cells. *Fertil. Steril*. 2004;81(S1):786–91. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.039.
- Patent RUS № 2784576 / 28.11.2022. Byul. № 34. Nguen KT, Makhmadaliev MR, Dzhemlikhanova LK, Lesik EA, Komarova EM,

Tkachenko NN, Niauri DA, Gzgzyan AM, Kogan IY. Method for prediction of the occasion of clinical pregnancy in IVF cycles in patients with a prediction of suboptimale response to controlled ovarian stimulation. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2784576C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).

27. Patent RUS № 2677467 / 17.01.2019. Byul. № 2. Likhacheva V.V., Zorina V.N., Andronova T.M., Zorin N.A., Shilova N.V., Likhachev A.G. A method for predicting the effectiveness of IVF programs in tubal-peritoneal infertility associated with chronic endometritis. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2677467C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).

28. Patent RUS № 2273031 / 27.03.2006. Byul. № 9. Kuzmin A.V., Orlov V.I., Sagamonova K. Yu., Efanova E.A., Lomteva S.V., Ermolenko E.N. Method for predicting the outcomes of the IVF and PE program. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2273031C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).

29. Kravtsova EI, Kolesnikova NV, Lukoshkina IN, Uryupina KV, Avakimyan VA. Immunological and immunohistochemical features of endometrial implantation factor in healthy patients of late reproductive age. *RUDN Journal of Medicine*. 2023; 27 (1): 46–56. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-1-46-56. (In Russian).

30. Eshtemirova KA, Saijalilova DD, Ayupova DA. Changes in the level of trophoblastic β -glycoprotein in pregnant women with IVF in case of miscarriage. Proceedings of the XVII International Congress on Reproductive Medicine. M., 2023. p. 139–140. (In Russian).

31. Mal'tseva NV, Markina LA, Bagenova LG, Chirikova TS, Belogorlova TI. Comparative analysis of human serum α 2-macroglobulin and pregnancy-associated α 2-glycoprotein levels in blood serum of women in extracorporeal fertilization. *The Siberian Scientific Medical Journal*. 2007; 4: 60–65. (In Russian).

32. Patent RUS № 2394495 / 20.07.2010. Byul. № 20. Zorina RM, Markina LA, Zorina VN, Bazhenova LG, Polukarov AN, Medenkova NK. Method for prediction of risk of early fetal loss in IVF induced pregnancies. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2394495C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).

33. Menzhinskaya IV, Kraevaya EE, Kalinina EA, Vanko LV, Dolgushina NV. Prognostic value of autoimmune markers in programs of assisted reproductive technologies. *Obstetrics and gynecology*. 2021;3:130–137. (In Russian). doi: 10.18565/aig.2021.3.130-137

34. Huang C, Xiang Z, Zhang Y, Tan DS, Yip CK, Liu Z, Li Y, Yu S, Diao L, Wong LY, Ling WL, Zeng Y, Tu W. Using Deep Learning in a Monocentric Study to Characterize Maternal Immune Environment for Predicting Pregnancy Outcomes in the Recurrent Reproductive Failure Patients. *Front. Immunol*. 2021;12:642167. doi: 10.3389/fimmu.2021.642167

35. Patent RUS № 2474822 / 10.02.2013. Byul. № 4. Malyshkina AI, Lipin MA, Fetisova IN, Bogatova IK, Djuzhev ZA, Polumiskova EV. Method for prediction of clinical outcome of extracorporeal fertilisation and embryo transfer. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2474822C1>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).

36. Patent RUS № 2345715 / 2009. Byul. № 4. Yarygina TV, Bashmakova NV, Mazurov AD. A method for predicting the results of in vitro fertilization in patients with autoimmune diseases. Available from: <https://patenton.ru/patent/RU2345715C2>. [Accessed 2023 April 18]. (In Russian).

Ответственный за переписку: Матвеева Любовь Васильевна — доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва», Российская Федерация, 430032, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Ульянова, д. 26а. E-mail: MatveevaLjubov1@mail.ru

Матвеева Л.В. SPIN 6017–0118; ORCID 0000–0001–9342–3157

Фоминова Г.В. SPIN 6306–1864; ORCID 0009–0004–8757–7976

Громова Е.В. SPIN4828–4866; ORCID 0000–0001–9255–2571

Алямкина Е.А. SPIN 1026–4723; ORCID 0000–0003–3259–4088

Галыня А.С. SPIN 8441–8731; ORCID 0009–0001–6059–5689

Corresponding author: Matveeva Ljubov Vasiljevna — MD, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of immunology, Microbiology and Virology of the Medical Institute of National Research Mordovia State University, 430032, Ulyanov str., 26a, Saransk, Russian Federation. E-mail: MatveevaLjubov1@mail.ru

Matveeva L.V. ORCID 0000–0001–9342–3157

Fominova G.V. ORCID 0009–0004–8757–7976

Gromova E.V. ORCID 0000–0001–9255–2571

Alyamkina E.A. ORCID 0000–0003–3259–4088

Galynya A.S. ORCID 0009–0001–6059–5689

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-354-367

EDN: OQSGFG


ORIGINAL RESEARCH

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Оценка удовлетворенности условиями оказания медицинской помощи пациентами с новой коронавирусной инфекцией

Р.Р. Исмагилов  , Ф.С. Билалов , М.А. Шарафутдинов 

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Российская Федерация

 Ismagilovruslan92@bk.ru

Аннотация. Особую актуальность на сегодняшний день представляет изучение удовлетворённости пациентов условиями оказания медицинской помощи в госпиталях «с новой коронавирусной инфекцией», которые в основном были перепрофилированы из специализированных медицинских организаций в течение кратчайшего времени. *Цель исследования.* Оценка удовлетворенности условиями оказания медицинской помощи пациентам с новой коронавирусной инфекцией. *Материалы и методы.* Исследование проводилось методом анкетирования. Разработанная авторами анкета включала 29 вопросов. Анкета состояла из 3 групп вопросов: первая группа имела отношение к социально-демографическим характеристикам опрашиваемых (пол, возраст, семейное положение, образование и др.); во второй группе респонденты оценивали свое состояние здоровья на момент опроса; в третьей группе — респонденты отвечали на вопросы, касающиеся удовлетворенности условиями оказания медицинской помощи и нуждаемости в дополнительной помощи. Включенные в исследование результаты опроса 341 пациента с диагнозом «U07.1 Коронавирусная инфекция COVID-19», были разделены на 2 группы: 1 группа — пациенты, лечение которых проходило в условиях амбулаторно-поликлинического звена (173; 50,9 %); 2 группа — пациенты госпиталей «с новой коронавирусной инфекцией» (167; 49,1 %). Из общего числа обследованных мужчины составили 20,8 %, женщины — 79,2 %. Средний возраст составил $43,2 \pm 12,1$ лет. Большую часть среди женщин заняли лица в возрасте 40–49 лет (38,2 %), среди мужчин — в возрасте 50–59 лет (43,7 %). *Результаты и обсуждение.* На момент опроса пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» оценивали свое здоровье в среднем на $3,58 \pm 0,11$ балла, а пациенты, обратившиеся в поликлинику, на $3,72 \pm 0,09$ ($p < 0,05$) балла. Уровень доступности диагностических

© Исмагилов Р.Р., Билалов Ф.С., Шарафутдинов М.А., 2023



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

исследований, бесплатного лекарственного обеспечения и отношение врачей пациенты поликлиники оценили несколько ниже. Напротив, условия пребывания в медицинской организации пациенты поликлиники оценили выше, чем пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией». После перенесённого COVID-19 опрошенные пациенты отметили необходимость в дополнительной помощи. Наиболее частыми из них были: санаторно-курортное лечение — 39,3 %; дополнительная диагностическая помощь (обследование) — 15,0 %; профилактическая помощь (профосмотры) — 15,0 %.

Заключение. Проведённый социологический опрос позволил установить и сравнить уровень удовлетворенности оказанием медицинской помощи пациентов с новой коронавирусной инфекцией в лечебно-профилактических учреждениях. Важно в дальнейшем отслеживать мнение пациентов по их удовлетворенности организацией медицинской помощи и определять потребности, которые могут служить основой для планирования, предоставления и поддержания качества услуг во время пандемии COVID-19 и других чрезвычайных ситуаций.

Ключевые слова: удовлетворенность, условия, организация медицинской помощи, пациенты, COVID-19

Информация о финансировании. Авторы не имели спонсорской поддержки при проведении исследования и публикации данной статьи.

Вклад авторов: Р.Р. Исмагилов — литературный обзор, проведение анкетирования, статистика, написание статьи; Ф.С. Билалов — концепция, дизайн, редактирование статьи; М.А. Шарафутдинов — помощь в сборе и анализе материала. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследования и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение. Проводимое исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в декабре 2021 г.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и обработку персональных данных.


Поступила 11.01.2023. Принята 16.02.2023.

Для цитирования: Исмагилов Р.Р., Билалов Ф.С., Шарафутдинов М.А. Оценка удовлетворенности условиями оказания медицинской помощи пациентами с новой коронавирусной инфекцией // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. No 3. С. 354—367. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-354-367

Satisfaction assessment with the care conditions of patients with new coronavirus infection

Ruslan R. Ismagilov  , Fanil S. Bilalov , Marat A. Sharafutdinov 

The Bashkir state medical university, Ufa, Russian Federation

 Ismagilovruslan92@bk.ru

Abstract. The study of patient satisfaction with the conditions of medical care in «COVID» hospitals, which were mainly repurposed from specialized medical organizations within the shortest time, is of particular relevance. *The purpose of the study* was an assessment of satisfaction with the conditions of medical care for patients with a new coronavirus infection. *Materials*

and Methods. The study was conducted by questionnaire. The questionnaire was developed by the authors included 29 questions. The questionnaire consisted of 3 groups of questions: the first group was related to the socio-demographic characteristics of the respondents (gender, age, marital status, education, etc.); in the second group, respondents assessed their health status at the time of the survey; in the third group — respondents answered questions regarding satisfaction with the conditions of care and the need for additional care. The results of a survey of 341 patients diagnosed with U07.1 Coronavirus infection COVID-19 included in the study were divided into 2 groups: 1 group — patients treated in outpatient care (173; 50,9 %); group 2 — patients of « COVID « hospitals (167; 49,1 %). The total number of examined men was 20.8 %, women — 79.2 %. The median age was $43,2 \pm 12,1$ years. Most of the women were persons aged 40–49 years (38.2 %), among men — aged 50–59 years (43.7 %). *Results and Discussion.* At the time of the survey, patients of the «covid» hospital rated their health on average by $3,58 \pm 0,11$ points, and patients who applied to the clinic by $3,72 \pm 0,09$ ($p < 0.05$) points. The level of availability of diagnostic studies, free drug provision and the attitude of doctors, patients of the clinic rated slightly lower. On the contrary, patients of the clinic rated the conditions of stay in the medical organization higher than patients of the «covid» hospital. After suffering from COVID-19, the interviewed patients noted the need for additional assistance. The most frequent of them were: spa treatment — 39.3 %; additional diagnostic care (examination) — 15.0 %; preventive care (professional examinations) — 15.0 %. *Conclusion.* A sociological survey made it possible to establish and compare the level of satisfaction with the provision of medical care for patients with a new coronavirus infection in medical and preventive institutions. It is important to further monitor patients' opinions on their satisfaction with the organization of medical care and identify needs that can serve as the basis for planning, providing and maintaining the quality of services during the COVID-19 pandemic and other emergencies.

Key words: satisfaction, conditions, organization of medical care, patients, COVID-19

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contributions. R.R. Ismagilov — literary review, survey, statistics, writing an article; F.S. Bilalov — concept, design, editing of the article; M.A. Sharafutdinov — assistance in the collection and analysis of material. All authors have made significant contributions to the development concepts, research, and manuscript writing, read and approved final version before publication.

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

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication. All patients provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), the processing of personal data and consent to publication.

Ethics approval. The study was approved at a meeting of the local ethical committee of The Bashkir state medical university of the Russian Ministry of Health of Russia in December 2021.

Received 11.01.2023. Accepted 16.02.2023.

For citation: Ismagilov RR, Bilalov FS, Sharafutdinov MA. Satisfaction assessment with the care conditions of patients with new coronavirus infection. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):354—367. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-354-367

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции привела к масштабным изменениям в сфере здравоохранения. Государством и обществом были приняты меры по предотвращению распространения инфекции, особенные мероприятия были проведены в медицинских организациях (МО),

которые были вынуждены работать в усиленном режиме. Практически в каждом субъекте Российской Федерации были открыты специализированные госпитали «с новой коронавирусной инфекцией» [1–3], а медицинские работники на сегодня всегда готовы к очередной «новой» волне роста заболеваемости COVID-19.

Удовлетворенность пациентов является популярным индикатором измерения качества условий оказания медицинских услуг, и не всегда отражает фактическое качество предоставленной медицинской помощи [4, 5].

Несмотря на субъективность трактовки критериев удовлетворенности медицинскими услугами пациентами, как меры оценки качества оказания медицинской помощи, необходимость изучения отношения пациентов к доступности и качеству медицинской помощи на постоянной основе является актуальным и необходимым. В таком случае пациенты вовлечены в лечебный процесс и чувствуют свою значимость [6–9].

Опыт оказания медико-социальной помощи больным COVID-19 в условиях стационара широко освещается в научной литературе. В то же время наблюдается дефицит информации по оценке удовлетворенности условиями оказания и доступности медицинской помощи пациентам с новой коронавирусной инфекцией [10–12].

Особую актуальность на сегодняшний день представляет изучение удовлетворенности пациентов условиями оказания медицинской помощи в госпиталях «с новой коронавирусной инфекцией», которые в основном были перепрофилированы из специализированных МО в течение кратчайшего времени. Помимо клинических симптомов COVID-19, у госпитализированных пациентов могут возникнуть негативные пси-

хосоциальные расстройства: изоляция, в том числе связанная с профилактикой недопущения распространения инфекции; отсутствие контакта с семьей и друзьями, неопределенность, связанная с дальнейшим прогнозом течения заболевания [13,14].

Цель исследования — на основе медико-социальных исследований оценить удовлетворенность пациентов, получавших медицинскую помощь в связи с заболеванием COVID-19, условиями оказания медицинской помощи на примере медицинских организаций г. Уфы.

Материалы и методы

Исследование проводилось методом анкетирования. Разработанная авторами анкета включала 29 вопросов. Анкета состояла из 3 групп вопросов: первая группа имела отношение к социально-демографическим характеристикам опрашиваемых (пол, возраст, семейное положение, образование и др.); во второй группе респонденты оценивали свое состояние здоровья на момент опроса; в третьей группе респонденты отвечали на вопросы, касающиеся удовлетворенности условиями оказания медицинской помощи и потребности в дополнительной помощи. Вопросы 2 и 3-й групп оценивались по пятибалльной шкале, где: 1 балл — «очень плохо», 2 балла — «плохо», 3 балла — «удовлетворительно», 4 балла — «хорошо», 5 баллов — «отлично» (табл. 1).

Таблица 1/ Table 1

Анкета / Questionnaire

№	Вопрос/Question	✓	Вариант ответа/Answer option
1	Укажите свой пол/Please enter your gender:		Женский/Female
			Мужской/Male
2	Укажите свой возраст/Enter your age:		до 20 лет/up to 20 years
			20–29 лет/20–29 years old
			30–39 лет/30–39 years old
			40–49 лет/40–49 years old
			50–59 лет/50–59 years old
			60 и старше лет/60 years and older

Продолжение табл. 1/ Continuation of Table 1

№	Вопрос/Question	✓	Вариант ответа/Answer option
3	Укажите свое образование/Please indicate your education:		Среднее/ Average
			Среднее профессиональное/Secondary vocational
			Высшее/Higher
4	Отрасль производственной деятельности/Branch of production activity:		промышленность/industry
			здравоохранение/healthcare
			транспорт/transport
			общественное питание/catering
			образование/education
			торговля/trade
			юриспруденция/jurisprudence
			туризм/tourism
5	Преобладающий вид труда/The predominant type of labor:		физический/physical
			умственный/mental
			смешанный/mixed
6	Связана ли ваша трудовая деятельность со следующими факторами (возможно несколько ответов)/Is your work activity related to the following factors (multiple answers are possible):		Дефицит двигательной активности/Lack of physical activity
			Высокая степень физического напряжения/High degree of physical stress
			Вынужденное положение тела/Forced position of the body
			Нарушение режима сна и питания/Sleep and eating disorders
			Частые стрессовые ситуации/Frequent stressful situations
			Ненормированный рабочий день/Irregular working hours
	Другое (пожалуйста, укажите) _____/Other (please specify) _____		
7	Семейное положение/Marital status:		состоите в браке/married
			не состоите/you are not a member
8	Как Вы оцениваете уровень своего дохода/How do you assess the level of your income:		высокий/high
			средний/average
			низкий/short
9	Имеете ли Вы хронические заболевания/Do you have chronic diseases:		нет/no
			да (какие _____) /yes (which _____)
10	Состоите ли Вы на диспансерном учете по поводу хронического заболевания?/Are you registered with a dispensary for a chronic illness?		Нет, не состою/No, I am not
			Да, состою/Yes, I am

Продолжение табл. 1/ Continuation of Table 1

№	Вопрос/Question	✓	Вариант ответа/Answer option
11	Вы вакцинированы от COVID-19?/Are you vaccinated against COVID-19?		да/yes
			нет/no
12	Были ли у Вас приступы паники, тревоги за все время болезни?/Have you had panic attacks, anxiety during the entire time of illness?		да/yes
			нет/no
			затрудняюсь ответить/hard to answer
13	Ощущаете ли Вы недостаток кислорода, одышку?/Do you feel a lack of oxygen, shortness of breath?		да/yes
			нет/no
14	Испытываете ли Вы проблемы со сном на данный момент?/Are you currently experiencing sleep problems?		да/yes
			нет/no
15	Как Вы оцениваете свое здоровье в целом по пятибалльной шкале?/How would you rate your overall health on a five-point scale?		1 2 3 4 5
16	Как долго Вам пришлось ждать врача на дом?/How long did you have to wait for a doctor at home?		первые сутки/first day
			2–3 сутки/2–3 days
			неделю/week
17	Как долго Вам пришлось ждать скорую помощь?/How long did you have to wait for an ambulance?		10–15 мин/10–15 min
			15–30 мин/15–30 min
			30–60 мин/30–60 min
			более 1 часа/more than 1 hour
			более 2 часов/more than 2 hours
18	Удовлетворены ли Вы своевременностью направления на медицинскую помощь?/Are you satisfied with the timely referral to medical care?		Удовлетворен/Satisfied
			Больше удовлетворен, чем не удовлетворен/More satisfied than dissatisfied
			Удовлетворен не полностью/Not fully satisfied
			Затрудняюсь ответить/Difficult to answer
			Не удовлетворен/ Not satisfied
19	Ваше лечение от COVID-19 проходило в каких условиях?/Under what conditions did you receive treatment for COVID-19?		в амбулаторной помощи/in outpatient care
			в стационаре/in hospital
			не обращался за мед. помощью/did not apply for honey help
20	Как Вы оцениваете отношение врачей (хирург, невролог, окулист, кардиолог и др.) в целом по пятибалльной шкале?/How would you rate the attitude of doctors (surgeon, neurologist, ophthalmologist, cardiologist, etc.) in general on a five-point scale?		1 2 3 4 5

Продолжение табл. 1/ Continuation of Table 1

№	Вопрос/Question	✓	Вариант ответа/Answer option
21	Как Вы оцениваете отношение среднего медицинского персонала в целом по пятибалльной шкале?/How do you rate the attitude of the nursing staff as a whole on a five-point scale?		1 2 3 4 5
22	Удовлетворены ли Вы материально-техническим обеспечением (наличие диагностической аппаратуры, лабораторной диагностики и др.)? Оцените в целом по пятибалльной шкале/Are you satisfied with the logistics (availability of diagnostic equipment, laboratory diagnostics, etc.)? Overall, rate on a five-point scale		1 2 3 4 5
23	Оцените уровень доступности диагностических исследований (лаборатория, КТ-кабинет, рентген-кабинет, функциональная диагностика) в целом по пятибалльной шкале?/Assess the level of availability of diagnostic studies (laboratory, CT room, X-ray room, functional diagnostics) in general on a five-point scale?		1 2 3 4 5
24	Как Вы оцениваете доступность лекарственного обеспечения в целом по пятибалльной шкале?/How do you assess the availability of drug provision in general on a five-point scale?		1 2 3 4 5
25	Как Вы оцениваете условиями пребывания в поликлинике или стационара в целом по пятибалльной шкале?/How do you assess the conditions of stay in the polyclinic or hospital in general on a five-point scale?		1 2 3 4 5
26	Удовлетворены ли Вы результатами оказанной помощи? Оцените в целом по пятибалльной шкале/Are you satisfied with the results of the assistance provided? Overall, rate on a five-point scale.		1 2 3 4 5
27	Чем Вы не удовлетворены?/What are you dissatisfied with?		Длительная очередность на медицинскую помощь/Long waiting list
			Длительное ожидание консультаций или отсутствие врачей-специалистов/Long waiting times for consultations or absence of specialist doctors
			Отказы в направлении на госпитализацию или длительное ожидание плановой госпитализации в стационар и дневной стационар для проведения медицинской помощи/Denial of referral for hospitalization or long waiting for scheduled hospitalization in a hospital and day hospital for medical care
			Отказы в направлении на консультацию к другим специалистам, на обследование, физиолечение/Refusal to refer for consultation with other specialists, for examination, physiotherapy
			Грубость, невнимательность медицинского персонала/Rudeness, inattention of medical personnel
			Сообщение сведений о моем здоровье другим лицам без моего согласия/Sharing my health information with others without my consent
		Отсутствие информированности о заболевании, возможных осложнениях, выбранной методике лечения/Lack of awareness about the disease, possible complications, the chosen method of treatment	

Окончание табл. 1/ End of Table 1

№	Вопрос/Question	✓	Вариант ответа/Answer option
28	Приходилось ли Вам платить в Вашей поликлинике или стационаре за обследование, лечение, консультации специалистов?/Did you have to pay in your polyclinic or hospital for examination, treatment, consultations of specialists?		Не приходилось/Didn't have to
			Оплачивал в других лечебных учреждениях/Paid in other medical institutions
			Приобретал(а) медикаменты или изделия медицинского назначения (шприцы, системы, перчатки) в дневном стационаре/Acquired medicines or medical products (syringes, systems, gloves) in a day hospital
29	Как Вы считаете, нуждаетесь ли Вы в следующих видах помощи в результате COVID-19 (возможно несколько ответов)?/Do you think you need the following types of assistance as a result of COVID-19 (multiple answers possible)?		В профилактической помощи (проф.осмотр)/In preventive care (prof.examination)
			Диагностической помощи (в обследовании)/Diagnostic assistance (in examination)
			В лечебных мероприятиях (дневной стационар или стационарное лечение)/In curative activities (day hospital or inpatient treatment)
			Санаторно-курортном лечении/Spa treatment
			Медицинской реабилитации/Medical rehabilitation
			В психологической реабилитации/In psychological rehabilitation
			В профессиональной реабилитации (обучение, помощь в трудоустройстве и др.)/Vocational rehabilitation (training, employment assistance, etc.)
	В правовой (юридические консультации, юридическая помощь)/Legal (legal advice, legal assistance)		

Критериями исключения из исследования были: анкеты, в которых отсутствовало информированное добровольное согласие; анкеты от беременных женщин; анкеты от респондентов, возраст которых менее 18 лет; и анкеты, в которых отсутствовали ответы на 1 и более вопросов. Всего из исследования было исключено 18 анкет. Включенные в исследование результаты опроса 341 пациента были разделены на 2 группы: 1 группа — пациенты, лечение которых проходило в условиях амбулаторно-поликлинического звена (173; 50,9 %); 2 группа — пациенты госпиталей «с новой коронавирусной инфекцией» (167; 49,1 %). Опрос участников исследования проходил на момент выписки пациента из стационара и/или на момент закрытия больничного листа с диагнозом «U07.1 Коронавирусная инфекция COVID-19» в поликлиниках.

Опрос респондентов проводился в период с декабря 2021 г. по март 2022 г. посредством заполнения электронных анкет. Ссылка (по QR-коду) на страницу с анкетой распространялась через медицинский персонал учреждений. Проводимое исследование

было одобрено на заседании локального этического комитета Башкирского государственного медицинского университета в декабре 2021 г. У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и обработку персональных данных.

Следует отметить, что участие в анонимном анкетировании было добровольным и его результаты отражают мнение наиболее активных и дееспособных лиц, данное мнение может не соответствовать объективной оценке.

Обработка и анализ полученных результатов проводились с использованием абсолютных, относительных, средних величин и ранговой корреляции. Вероятность достоверности результатов исследования оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Статистику выполняли с помощью программы SPSS (версия 26.0) и Microsoft Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Изучение состава опрошенных по полу показало, что среди них доля мужчин составила 20,8 %, доля женщин 79,2 %. Средний возраст $43,2 \pm 12,1$ лет.

Был проведен опрос лиц различного возраста, среди которых большую часть составили лица 40–49 лет (38,2 %) женского пола, и 50–59 лет (43,7 %) мужского пола (табл. 2).

Таблица 2/ Table 2

Распределение опрашиваемых респондентов по возрасту и полу, n=341/Gender and age distribution of respondents, n=341

№ п/п	Пол/ Gender	Мужчин/Male, n=71						Женщин/Female, n=270					
		20–29 лет/ years	30–39 лет/ years	40–49 лет/ years	50–59 лет/ years	Старше 60 лет/ years	Итого, мужчин/ male	20–29 лет/ years	30–39 лет/ years	40–49 лет/ years	50–59 лет/ years	Старше 60 лет/ years	Итого, женщин/ female
1	Возрастная группа/ age group												
2	В условиях стационара/ In a hospital setting, %	0	2,8	16,9	26,8	5,6	52,1	2,2	4,4	22,2	11,9	10,7	51,5
3	В условиях поликлиники/ In of a polyclinic, %	2,8	9,9	16,9	16,9	1,4	47,9	11,5	11,9	15,9	5,2	4,1	48,5
4	Всего/Total, %	2,8	12,7	33,8	43,7	7,0	100	13,7	16,3	38,2	17,0	14,8	100

Уровень образования лиц, принявших участие в опросе, оказался достаточно высоким: 70,9 % имели высшее образование; 19,4 % — среднее профессиональное; 9,7 % — среднее общее образование (табл. 3). Также в ходе анкетирования было установлено, что в зарегистрированном браке состояли 68,9 % опрошенных, не состояли в браке 31,1 %. При этом среди опрошенных респондентов госпиталя «с новой

коронавирусной инфекцией», состоящих в браке было больше, чем среди опрошенных в поликлинике, и составила 73,8 %. Изучение характеристики трудовой деятельности показало, что у 70,1 % преобладает умственный вид труда, у 24,6 % — смешанный, 5,7 % — физический труд. Установлено, что 73,9 % респондентов оценили свой уровень дохода как средний, 17,6 % — низкий и 8,5 % — высокий.

Таблица 3/ Table 3

Распределение по социальным характеристикам опрашиваемых респондентов/Distribution by social characteristics of respondents surveyed

Показатель/ Indicator	Пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией»/ Patients of the «covid» hospital, n = 168	Пациенты поликлиники/ Polyclinic patients, n = 173	Всего/Total, n = 341
Образование/Education, n (%)			
Среднее/ Secondary	18 (10,7)	15 (8,7)	9,7
Среднее профессиональное/ Secondary special	31 (18,5)	35 (20,2)	19,4
Высшее/ higher	119 (70,8)	123 (71,1)	70,9
Семейное положение/Family status, n (%)			
Состоят в браке/ Been married	124 (73,8)	111 (64,2)	68,9
Не состоят в браке/ not married	44 (26,2)	62 (35,8)	31,1
Преобладающий вид труда/Type of work, n (%)			
Умственный/ Mental	121 (72,0)	118 (68,2)	70,1
Физический/Physical	7 (4,2)	11 (6,4)	5,7
Смешанный/ Mixed	40 (23,8)	44 (25,4)	24,6
Уровень дохода/Income level, n (%)			
Высокий/High	21 (12,5)	8 (4,6)	8,5
Средний/ Medium	118 (70,2)	134 (77,5)	73,9
Низкий/ Low	29 (17,3)	31 (17,9)	17,6

Согласно представленным ответам на вопрос «Как Вы оцениваете свое здоровье в целом по пятибалльной шкале», средняя оценка пациентов госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» составила $3,58 \pm 0,11$ балла, оценка пациентов поликлиники — $3,72 \pm 0,09$ ($p < 0,05$) балла (табл. 4). Таким образом, у респондентов, получающих лечение в условиях госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией», средняя оценка здоровья ниже, чем у пациентов поликлиники. Различие в ответах можно объяснить субъективной оценкой состояния здоровья опрашиваемых респондентов в зависимости от вида оказываемой им медицинской помощи.

Своевременность направления на госпитализацию или в поликлинику на прием к врачу или посещение врача больного на дому является одним из основных критериев условия оказания медицинской помощи, позволяющий удовлетворять потребности пациентов [15, 16]. При оценке удовлетворенности своевременностью направления на медицинскую помощь среди опрошенных респондентов госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» и поликлиники мы не обнаружили значимых отличий в ответах.

При анализе доступности диагностических исследований (лаборатория, КТ-кабинет, рентгенкабинет, функциональная диагностика) пациенты госпиталей «с новой коронавирусной инфекцией» были более удовлетворены в сравнении с пациентами поликлиники, средняя оценка составила $4,02 \pm 0,12$ и $3,67 \pm 0,09$ ($p < 0,05$) баллов соответственно. Одна из причин разницы в результате оценок может заключаться в ограниченном перечне доступных диагностических услуг в поликлинике и, как следствие, субъективной низкой оценке. Низкая пропускная способность диагностического оборудования и наличие очередей в поликлинике также могли повлиять на результат ответа на данный вопрос.

Согласно ответам на вопрос «Как Вы оцениваете доступность лекарственного обеспечения в целом по пятибалльной системе» средняя оценка пациентов госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» составила $4,02 \pm 0,12$ балла. Оценка пациентов по-

ликлиники была более сдержанной — $3,65 \pm 0,12$ ($p < 0,05$) балла.

Взаимоотношения, складывающиеся в ходе лечебного процесса между пациентами и медицинскими работниками, оказывают существенное влияние на удовлетворенность медицинскими услугами и формируют доверие пациента к медицинскому специалисту. В ходе лечебного процесса пациентам важно получать эмоциональную поддержку, внимание и доброжелательность. Пациенты, как потребители медицинской помощи, прежде всего руководствуются субъективными, собственными впечатлениями. Так ответы респондентов на вопрос «Как Вы оцениваете отношение среднего медицинского персонала» по поликлинике ответы составили $4,38 \pm 0,11$ балла, в госпитале «с новой коронавирусной инфекцией» — $4,43 \pm 0,13$ балла ($p > 0,05$). Однако отношение врачей пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» оценили выше, чем пациенты поликлиники, $4,47 \pm 0,15$ и $4,17 \pm 0,10$ балла ($p < 0,05$) соответственно.

Нами было установлено, что пребывание в поликлинике для пациентов оказалось более комфортным, чем пребывание в стационаре. Ответы респондентов распределились следующим образом: оценка пациентов поликлиники составила $4,59 \pm 0,09$ балла; оценка пациентов госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» — $3,43 \pm 0,13$ балла, ($p < 0,05$). Вероятно, на оценку удовлетворенности условиям пребывания в значительной степени влияет длительное время пребывания в госпитале. В данном вопросе пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» более критичны и скорее «объективны».

Несомненным условием в оценке удовлетворенности условиями оказания медицинской помощи пациентам является материально-техническое обеспечение МО. Оценка удовлетворенности материально-техническим обеспечением среди опрошенных респондентов стационара составила $3,95 \pm 0,16$, а поликлиники $4,01 \pm 0,12$ балла. Результаты ответов на данный вопрос могут косвенно отражать, что ресурсное обеспечение МО на достаточно хорошем уровне.

Если охарактеризовать удовлетворенность результатами оказания медицинской помощи в целом, которые обобщают предыдущие вопросы, оценка опрошенных респондентов госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» составила $4,4 \pm 0,13$ балла, а оценка опрошенных респондентов поликлиники — $4,52 \pm 0,13$ балла ($p > 0,05$). Доминирующим фактором

удовлетворённости результатами оказания медицинской помощи является улучшение самочувствия в процессе лечения, также в большинстве случаев пациенты могут оценивать не только фактический результат, но и взаимодействие с медицинским учреждением, доступность медицинских услуг, условия пребывания и т. д. [17–19].

Таблица 4 / Table 4

**Анализ оценки удовлетворенности оказываемой медицинской помощи в медицинских организациях опрашиваемых респондентов по пятибалльной шкале (n=341)/
Analysis of satisfaction assessment of medical care provided in medical organizations of respondents on a five-point scale (n=341)**

Показатели удовлетворенности оказываемой медицинской помощи/ Satisfaction indicators of medical care provided	Пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией»/ Patients of the «covid» hospital, n=168	Пациенты поликлиники/ Polyclinic patients, n=173
Состояние здоровья на момент опроса/Health status at the time of the survey	$3,58 \pm 0,11$	$3,72 \pm 0,09^*$
Своевременность направления на медицинскую помощь/ Timeliness of referral for medical care	$3,91 \pm 0,09$	$3,93 \pm 0,10$
Доступность диагностических исследований/ Availability of diagnostic tests	$4,02 \pm 0,12$	$3,67 \pm 0,09^*$
Доступность бесплатного лекарственного обеспечения/ Availability of free drug provision	$4,23 \pm 0,08$	$3,65 \pm 0,12^*$
Отношение среднего медицинского персонала к пациентам/ The attitude of nursing staff to patients	$4,43 \pm 0,13$	$4,38 \pm 0,11$
Отношение врачей к пациентам/ The attitude of doctors to patients	$4,47 \pm 0,15$	$4,17 \pm 0,10^*$
Условия пребывания/ Conditions of stay	$3,43 \pm 0,13$	$4,59 \pm 0,09^*$
Удовлетворенность материально-техническим обеспечением/ Satisfaction with logistics	$3,95 \pm 0,16$	$4,01 \pm 0,12$
В целом удовлетворенность результатами оказания медицинской помощи/ Satisfaction with the results of medical care	$4,4 \pm 0,13$	$4,52 \pm 0,13$

*Примечание:**-представлены статистически достоверные показатели $p < 0,05$.

*Note:**- statistically reliable indicators of p are presented $p < 0,05$.

Поскольку вопросы потребности пациентов в дополнительной помощи после перенесённого COVID-19 недостаточно изучены, нами в анкету были включены несколько вопросов. По мнению респондентов, после перенесённого COVID-19 у них имеется необходимость в следующих видах помощи: в санаторно-курортном лечении — 40,0 %, при чем больше половины пациентов госпиталя

«с новой коронавирусной инфекцией» отметили данную потребность (52,4 %); профилактической медицинской помощи — 15,0 %; в дополнительном диагностическом обследовании — 15,0 %; в медицинской реабилитации — 12,0 %; в лечебных мероприятиях — 8,0 %; в психологической реабилитации — 5,0 %; и др. (таб. 5).

**Анализ потребности в дополнительной помощи после перенесенного COVID-19 (n=341) /
Analysis of the need for additional assistance after suffering COVID-19 (n=341)**

Виды оказываемой помощи/Types of assistance provided	Пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» / Patients of the «covid» hospital, n=168 (%)	Пациенты поликлиники/ Polyclinic patients, n=173 (%)	Всего/ Total, n=341 (%)
Санаторно-курортное лечение/Sanatorium and resort treatment	88 (52,4)	46 (26,6)	39,3
Диагностическая помощь (обследование)/ Diagnostic assistance (examination)	23 (13,7)	28 (16,2)	15,0
Профилактическая помощь (профосмотр)/ Preventive care (professional examination)	24 (14,3)	27 (15,6)	15,0
Медицинская реабилитация/Medical rehabilitation	22 (13,1)	19 (11,0)	12,0
Лечебные мероприятия (дневной стационар или стационарное лечение)/Therapeutic measures (day hospital or inpatient treatment)	6 (3,6)	21 (12,1)	7,9
Психологическая реабилитация/Psychological rehabilitation	11 (6,5)	6 (3,5)	5,0
Профессиональная реабилитация (обучение, помощь в трудоустройстве)/Vocational rehabilitation (training, employment assistance)	4 (2,4)	3 (1,7)	2,1
Правовая помощь (юридические консультации, юридическая помощь)/Legal assistance (legal advice, legal assistance)	4 (2,4)	2 (1,2)	1,8

В соответствии с действующими временными методическими рекомендациями после перенесенного COVID-19 рекомендуется проведение углубленной диспансеризации лиц, перенесших заболевание в средней и тяжелой степени тяжести, в ходе которого возникает необходимость в принятии дополнительных лечебно-реабилитационных мероприятий [20]. В то же время, как показал опрос, пациенты нуждаются в динамическом наблюдении с целью исключения отсроченных осложнений, оценки общего состояния, выявления депрессии, симптомов подозрительных на тромбоэмболию или других синдромов и заболеваний, требующих внимания.

Анализируя мнения пациентов, необходимо отметить, что это субъективная оценка, но в каждом ответе определяются требования пациентов, которые могут повысить удовлетворенность организацией медицинской помощи. Проведение анкетирования пациентов является одним из компонентов внутреннего аудита качества оказания медицинской помощи в медицинской организации, которое по-

зволяет выявить определённые проблемы в ходе её оказания. Важно в дальнейшем отслеживать удовлетворенность пациентов медицинской помощью со стороны администрации медицинских организаций, которая может служить основой для планирования, предоставления и поддержания качества услуг во время пандемии COVID-19 и других чрезвычайных ситуаций.

Выводы

1. Исследование показало, что среди опрошенных доля мужчин 20,8 %, средний возраст всех опрошенных — $43,2 \pm 12,1$ лет. Большую часть женщин составили лица в возрасте 40–49 лет (38,2 %), мужчин в возрасте 50–59 лет (43,7 %). На момент опроса пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией» оценивали свое здоровье в среднем на $3,58 \pm 0,11$ балла, а пациенты, обратившиеся в поликлинику, на $3,72 \pm 0,09$ ($p < 0,05$) балла.

2. При сравнении уровня удовлетворенности пациентов, получавших лечение в госпитале «с но-

вой коронавирусной инфекцией» и поликлинике, было установлено, что уровень доступности диагностических исследований, бесплатного лекарственного обеспечения и отношения врачей пациенты поликлиники оценили ниже. Напротив, условия пребывания пациенты поликлиники оценили выше, чем пациенты госпиталя «с новой коронавирусной инфекцией».

3. После перенесённого COVID-19 опрошенные пациенты отметили необходимость в дополнительной помощи: в санаторно-курортном лечении — 40,0 %, профилактической медицинской помощи — 15,0 %; в дополнительном диагностическом обследовании — 15,0 %; в медицинской реабилитации — 12,0 %; в лечебных мероприятиях — 8,0 %; в психологической реабилитации — 5,0 %; и др. Анализ потребности в дополнительной помощи после перенесенного COVID-19, можно объяснить состоянием тяжести заболевания, характером его течения и продолжительностью получения медицинской помощи.

Библиографический список

1. Павлов В.Н., Викторов В.В., Ахмерова С.Г., Имельбаева А.Г., Мухаметзянов А.М., Бакиров Б.А., Какаулин А.Г., Лutfарахманов И.И., Тюрин А.В. Мобильные выездные мультидисциплинарные бригады: их становление и развитие в период пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 // Медицинский вестник Башкортостана. 2021. № 6. С. 21–26.
2. Визель А.А., Хадеева В.З., Нуриева Л.Ф., Визель И.Ю., Аморов Н.Б., Саубанова К.О., Визель Л.А. Анализ диагностики и лечения пациентов с COVID-19 во временном инфекционном госпитале, развёрнутом в многопрофильной городской больнице // Вестник современной клинической медицины. 2022. Т. 15. № 3. С. 7–14.
3. Переходов С.Н., Сакварелидзе Н.Ю., Цахилова С.Г., Лунина Е.В. Перепрофилирование родильного дома в инфекционный госпиталь в условиях пандемии коронавирусной инфекции // Здоровье мегаполиса. 2022. Т. 2. № 1. С. 36–40.
4. Байсугурова В.Ю., Кашафутдинова Г.Т., Аимбетова Г.Е., Рамазанова М.А., Кошимбеков М.К., Калмаханов С.Б. Удовлетворенность населения медицинской помощью как показатель ее качества // Вестник КазНМУ. 2014. № 1. С. 393–395.
5. Гарипов Р.К., Шарафутдинова Н.Х. Критерии удовлетворенности сельских жителей организации медицинской помощи // Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н.А. Семашко. 2012. № 4. С. 35–37.
6. Кузьмина О.А., Кузьмин В.П. Опыт оказания медико-социальной помощи больным COVID-19 в условиях стационара // Коллекция гуманитарных исследований. 2022. Т. 1. № 30. С. 32–38.
7. Золотарев А.В., Чертухина О.Б., Хашина О.А. Опыт системного повышения удовлетворенности пациентов качеством медицинской помощи в Самарской областной клинической

офтальмологической больнице имени Т.И. Ерошевского путем обучения персонала выбору конструктивной стратегии поведения в конфликтных ситуациях // Наука и практика. 2015. С. 446–452.

8. Карпова О.В. Результаты социологического опроса медицинских работников об организации и качества стоматологической помощи // Вопросы экспертизы и качества медицинской помощи. 2015. № 3. С. 21–25.

9. Орлов А.Е. Научное обоснование системы обеспечения качества в условиях многопрофильной больницы. Автореф. дис. ...док. мед. наук. М. .2020. С. 22.

10. Wu M.S., Hayat F., Ratcliffe L., Beadsworth M.B.J., Defres S., Wingfield T. What do people hospitalised with covid-19 think about the care they received? // BMJ. 2020; V. 370. m3496. doi:10.1136/bmj.m3496

11. Karahan I. The COVID-19 anxiety of hospitalised patients in a palliative care unit // International Journal of Palliative Nursing. 2020. V. 26. № 6 P. 267. doi:10.12968/ijpn.2020.26.6.267

12. Pavlakis S., McAbee G., Roach E.S. Fear and Understanding in the Time of COVID-19 // *Pediatr Neurol.* 2020 V. 111. P. 37–38. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2020.06.015

13. Liu C.H., Goyal D., Mittal L., Erdei C. Patient Satisfaction with Virtual-Based Prenatal Care: Implications after the COVID-19 Pandemic // *Matern Child Health J.* 2021. V. 25. № 11. P. 1735–1743. doi: 10.1007/s10995-021-03211-6

14. Ammar A., Chtourou H., Boukhris O., Trabelsi K., Masmoudi L., Brach M., Bouaziz B., Bentlage E., How D., Ahmed M., Mueller P., Mueller N., Hsouna H., Aloui A., Hammouda O., Paineiras-Domingos L.L., Braakman-Jansen A., Wrede C., Bastoni S., Pernambuco C.S. COVID-19 Home Confinement Negatively Impacts Social Participation and Life Satisfaction: A Worldwide Multicenter Study // *Int J Environ Res Public Health.* 2020. V. 17. № 17: 6237. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176237>

15. Шкарин В.А. Анализ удовлетворенности пациентов круглосуточных стационаров Волгоградской области // Вестник новых медицинских технологий. 2012. № 1. С. 19–23.

16. Rezoagli E., Magliocca A., Bellani G., Pesenti A., Grasselli G. Development of a Critical Care Response — Experiences from Italy During the Coronavirus Disease 2019 Pandemic // *Anesthesiol Clin.* 2021. V. 39. № 2. P. 265–284. doi: 10.1016/j.anclin.2021.02.003

17. Шарабчиев Ю.Т., Дудина Т.В. Доступность и качество медицинской помощи: слагаемые успеха // *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье.* 2013. № 4. С. 16–34.

18. Бразовская Н.Г., Деев И.А., Кобякова О.С., Богайчук П.М., Яровой Н.Д., Шнайдер Г.В., Бойков В.А., Барановская С.В. Пациентоориентированный подход: анализ взаимосвязи оценки пациентами результативности медицинской помощи и условий её оказания // *Социальные аспекты здоровья населения.* 2019. Т. 65. № 5. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-5-1.

19. Baidya D.K., Maitra S. Improving quality and satisfaction in care of Covid-19: A patient-centric approach // *Natl Med J India.* 2021. V. 34. № 1. P. 59–60. doi: 10.4103/0970-258X.323454

20. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)». Версия 16 (18.08.2022) (утв. Минздравом России). URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V15.pdf (Дата обращения: 11.12.2022).

References

1. Pavlov VN, Viktorov VV, Ahmerova SG, Imelbaeva AG, Muhametzyanov AM, Bakirov BA, Kakaulin AG, Lutfarahmanov II, Tyurin AV. Mobile field multidisciplinary teams: their formation and

development during the pandemic of the new coronavirus infection COVID-19. *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2021;16:21–26. (In Russian).

2. Vizel AA, Hadeeva VZ, Nurieva LF, Vizel IY, Amirov NB, Saubanova KO, Vizel LA. Analysis of the diagnosis and treatment of patients with COVID-19 in a temporary infectious diseases hospital deployed in a multidisciplinary city hospital. *Bulletin of Modern Clinical Medicine*. 2022;15(3):7–14. (In Russian).

3. Perekhodov SN, Sakvarelidze NY, Cahilova SG, Lunina EV. Repurposing a maternity hospital into an infectious diseases hospital in a coronavirus pandemic. *The health of the metropolis*. 2022;2(1):36–40. (In Russian).

4. Bajsgurova VY, Kashafutdinova GT, Aimbetova GE, Ramazanova MA, Koshimbekov MK, Kalmahanov SB. Population satisfaction with health care as an indicator of its quality. *Bulletin of KazNMU*. 2014;1:393–395. (In Russian).

5. Garipov RK, SHarafutdinova NH. Criteria for rural satisfaction with health care organization. *Bulletin of the N.A. Semashko National Research Institute of Public Health*. 2012;4:35–37. (In Russian).

6. Kuz'mina OA, Kuz'min VP. Experience in providing medical and social assistance to COVID-19 patients in a hospital setting. *Collection of humanitarian studies*. 2022;1(30):32–38. (In Russian).

7. Zolotarev AV, Chertuxina OB, Xashina OA. Experience of systematic improvement of patient satisfaction with the quality of medical care in the Samara Regional Clinical Ophthalmological Hospital named after T.I. Eroshevskogo by training staff to choose a constructive strategy of behavior in conflict situations. *Science and practice*. 2015. 332 p. (In Russian).

8. Karpova OV. Results of a sociological survey of medical workers on the organization and quality of dental care. *Issues of expertise and quality of medical care*. 2015;3:21–25. (In Russian).

9. Orlov AE. Scientific substantiation of the quality assurance system in a multidisciplinary hospital. [dissertation]. Moscow. 2020. (In Russian).

10. Wu MS, Hayat F, Ratcliffe L, Beadsworth MJB, Defres S, Wingfield T. What do people hospitalised with covid-19 think about the care they received? *BMJ*. 2020;370: m3496. doi:10.1136/bmj.m3496.

11. Karahan I. The COVID-19 anxiety of hospitalised patients in a palliative care unit. *Int J Palliat Nurs*. 2020;26(6):267. doi:10.12968/ijpn.2020.26.6.267.

12. Pavlakis S, McAbee G, Roach ES. Fear and Understanding in the Time of COVID-19. *Pediatr Neurol*. 2020;111:37–38. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2020.06.015.

13. Liu CH, Goyal D, Mittal L, Erdei C. Patient Satisfaction with Virtual-Based Prenatal Care: Implications after the COVID-19 Pandemic. *Matern Child Health J*. 2021;25(11):1735–1743. doi: 10.1007/s10995-021-03211-6

14. Ammar A, Chtourou H, Boukhris O, Trabelsi K, Masmoudi L, Brach M, Bouaziz B, Bentlage E, How D, Ahmed M, Mueller P, Mueller N, Hsouna H, Aloui A, Hammouda O, Paineiras-Domingos LL, Braakman-Jansen A, Wrede C, Bastoni S, Pernambuco CS. COVID-19 Home Confinement Negatively Impacts Social Participation and Life Satisfaction: A Worldwide Multicenter Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(17):6237. doi:10.3390/ijerph17176237.

15. Shkarin VA. Analysis of patient satisfaction in round-the-clock hospitals of the Volgograd region. *Bulletin of New Medical Technologies*. 2012;1:19–23. (In Russian).

16. Rezoagli E, Magliocca A, Bellani G, Pesenti A, Grasselli G. Development of a Critical Care Response — Experiences from Italy During the Coronavirus Disease 2019 Pandemic. *Anesthesiol Clin*. 2021;39(2):265–284. doi:10.1016/j.anclin.2021.02.003.

17. Sharabchiev YT, Dudina TV. Accessibility and quality of medical care: components of success. *International reviews: clinical practice and health*. 2013;4:16–34. (In Russian).

18. Brazovskaya NG, Deev IA, Kobayakova OS, Bogajchuk PM, Yarovoj ND, Shnajder GV, Bojkov VA. Patient-oriented approach: analysis of the relationship between patients' assessment of the effectiveness of medical care and the conditions of its provision. *Social aspects of public health*. 2019;5:1–22. (In Russian). doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-5-1.

19. Baidya DK, Maitra S. Improving quality and satisfaction in care of Covid-19: A patient-centric approach. *Natl Med J India*. 2021;34(1):59–60. doi:10.4103/0970-258X.323454.

20. Temporary methodological recommendations «Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)». Version 16 (08/18/2022) (approved by the Ministry of Health of Russia). URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V15.pdf (In Russian). (Access date: 11.12.2022).

Ответственный за переписку: Исмагилов Руслан Рафисович — аспирант кафедры общественного здоровья и организации здравоохранения Института дополнительного профессионального образования Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3. E-mail: Ismagilovruslan92@bk.ru.

Исмагилов Р.Р. SPIN 3755–1823; ORCID 0000–0003–2719–0396

Билалов Ф.С. SPIN 6448–5906; ORCID 0000–0002–6644–1736

Шарафутдинов М.А. SPIN 6448–5506; ORCID 0000–0001–6062–6062

Corresponding author: Ismagilov Ruslan Rafisovich — graduate student departments of Public Health and Health Organization of the Institute of Additional Professional Education Bashkir State Medical University, 450008, st. Lenina, 3, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation. E-mail: Ismagilovruslan92@bk.ru.

Ismagilov R.R. ORCID 0000–0003–2719–0396

Bilalov F.S. ORCID 0000–0002–6644–1736

Sharafutdinov M.A. ORCID 0000–0001–6062–6062




DENTISTRY СТОМАТОЛОГИЯ

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-368-378
EDN: QAPUVW

REVIEW
ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Modern osteoplastic materials

Karina M. Salekh  , Alexandr B. Dymnikov ,
Roman F. Mukhametshin , Sergey G. Ivashkevich 

RUDN University, Moscow, Russian Federation
 ms.s.karina@mail.ru

Abstract. Relevance. Bone tissue regeneration and the development of methods for directed influence on the processes of bone healing are of the most urgent problems of modern medicine. Defects in the jaw bones are widespread, which in turn leads to the search for modern bone — replacing materials that meet the basic characteristics of the bone. Information was searched based on the PubMed and E-library databases, using the keywords: “bone tissue” AND “bone regeneration” AND “osteoplastic materials” AND “osteoiduction” AND “osteoconduction”. Autologous bone is considered the clinical gold standard and the most effective method of bone regeneration. It is the autograft that has three main characteristics: osteogenicity, osteoinductive and osteoconductive. The autograft has limitations due to the limited amount of bone tissue and the soreness of the donor site. A viable alternative to autologous bone is an allograft. The most widely used allograft is demineralized freeze — dried bone allograft (FDBA). The freeze — drying process promotes damage to osteoblasts, which limits its osteoinductive potential, but it is a profitable alternative in terms of convenience, abundance of choice and absence of pain due to the absence of additional surgical intervention. The main component of xenogeneic materials is collagen, which has the ability to resorb in tissues and stimulate regenerative processes. The material has osteoconductive properties and is capable of bone ingrowth, with the formation of a new bone directly from the xenomaterial bed with the deposition of bone cells on its surface. Subsequently, the xenomaterial undergoes resorption with complete replacement with new bone tissue. Alloplastic materials are fully synthetic materials synthesized from inorganic sources. Alloplastic materials have the property of osteoconduction, and when various growth factors are added to

© Salekh K.M., Dymnikov A.B., Mukhametshin R.F., Ivashkevich S.G., 2023



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

their composition, the property of osteoinduction is added to osteoconductive. The clinical use of bone substitutes is limited by their fragility as well as their unpredictable rate of resorption, which render these materials generally less favorable in clinical outcomes. *Conclusion*. Until now, a scientific search for various materials capable of replacing an autogenous transplant is being carried out. At the moment, none of the currently available materials has all the desired characteristics and the choice of materials directly depends on the specific clinical situation in the oral cavity.

Key words: bone tissue, bone regeneration, osteoplastic materials, osteoinduction, osteoconduction

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contribution: Salekh K.M. — literature review, text writing; Dymnikov A.B., Mukhametshin R.F., Ivashkevich S.G. — preparing and editing the manuscript. All authors made a significant contribution to the development of the concept and manuscript writing, read and approved the final version before publication.

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

Acknowledgements — not applicable.

Ethics approval — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 17.05.2023. Accepted 06.07.2023.

For citation: Salekh KM, Dymnikov AB, Mukhametshin RF, Ivashkevich SG. Modern osteoplastic materials. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):368—378. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-368-378

Introduction

Bone tissue is one of the few body tissues capable of restitution, to complete regeneration with the restoration of the original structure [1]. Bone remodeling entails a genetically determined process in which bone ages or is then lost, replaced by osteoclasts, and replaced by new bone formed by osteoblasts. There is a close relationship between bone formation and resorption to ensure that bones are resistant to changes in bone mass or quality after each remodeling [2].

The problem of bone tissue regeneration and the development of methods for directed influence on the processes of bone healing are one of the most urgent problems of modern medicine [3,4]. Defects of the jaw bones are widespread and can be caused by trauma resulting from the growth of odontogenic cysts, benign tumors, the consequence of osteomyelitis processes, congenital malformations, infections and surgical interventions. Even though bone has a great capacity for self — healing, some defects or

fractures are too large to regenerate. To initiate bone regeneration, bone growth must be induced by a range of bioactive implantable materials, cell types, and intracellular and extracellular molecular signaling pathways. Because mesenchymal stem cells (MSC) and their differentiation during remodeling processes play an important role in bone regeneration, understanding the involved molecular signaling pathways is believed to be critical for the development of bone replacement materials and cell — based scaffolds for bone regeneration [5–7].

The need to create new osteoplastic materials for maxillofacial surgery and surgical dentistry is due to the fact that about 4 million operations are performed annually in the world [8]. Based on this, the choice of osteoplastic materials that satisfy the basic properties of bone tissue becomes relevant.

The modern range of osteoplastic materials for surgical dentistry and maxillofacial surgery is divided into several groups presented by figure1.



Fig.1. Osteoplastic materials used in dentistry

Autogenous materials

An ideal bone graft has three characteristics: osteoinduction — the ability to provide a scaffold for bone regeneration, osteoconduction — the content of growth and regulation factors that produce bone formation, and osteogenic — have cells that promote bone formation [9,10].

Autologous bone or autograft with its inherent osteogenic, osteoinductive and osteoconductive properties is still considered clinically the “gold standard” in bone regeneration, in comparison with other groups of osteoplastic materials. Only autologous bone contains viable osteoblasts and stem cells. Autogenous bone does not contain antigens, which leads to the absence of an immune response. The use of an autograft at the defect site promotes the creation of a bone matrix with the differentiation of local stem cells into bone tissue cells — all this demonstrates the manifestation of a combination of osteoinductive and osteoconductive properties [11–14].

The site of autograft sampling can be both from intraoral sites — maxillary tubercle, retromolar area, oblique branch of the lower jaw, and extraoral sites — rib and iliac crest [15].

However, the limited amount of bone and tenderness of the donor site are the most important dis-

advantages of autotransplantation. In view of these shortcomings, improved biomaterials are needed to match the characteristics of the autograft, as it continues to outperform other groups of bone materials [16, 17].

Allogeneic materials

Advances in allografts over the past decades have contributed to the creation of viable alternatives that allow them to be equated with autografts. The most widely used allograft is the demineralized freeze — dried bone allograft (FDBA), which is freeze — dried during manufacture to reduce its antigenicity. Lyophilization is a stabilizing process in which the substance is first frozen and then the amount of solvent is reduced first by sublimation (primary drying) and then by desorption (secondary drying) [18].

However, osteoblasts are damaged during this process, which limits its osteoinductive capacity and participation in the process of osteogenesis. Due to the inevitable immune response associated with FDBA, the period of integration with surrounding tissues is longer than that of autologous bone material [19].

Bone allograft is a beneficial alternative to autograft in terms of convenience, abundance, and absence of pain in patients associated with additional surgery at the donor site. Variants of allografts include structural shape, particle shape, and demineralized bone matrix. Commonly used allografts include synthetic calcium sulfate/phosphate materials — these grafts provide their osteoconductive properties. In addition, various growth factors, including bone morphogenetic proteins released during the demineralization process, can accelerate the healing process of bone defects [20–23].

Xenogeneic materials

Another area of research is the search for xenogeneic materials that satisfy the basic properties of bone tissue. As previously described, autografts and allografts have inherent limitations despite their excellent success rates in bone grafting practice. Therefore, natural bone substitutes have been developed to stimulate the improvement of osteogenic, osteoconductive

and osteoinductive potentials by creating a favorable microenvironment for bone growth. Xenografts are materials obtained from a genetically unrelated species, in particular, deproteinized bovine bone is a common source of materials for xenografts in dentistry [24].

One of the groups of xenogeneic materials is the materials whose main basis is collagen. Collagen is synthesized by fibroplastic cells. Of all the types of collagens, it is type 1 collagen that is used to interact with the bone. Collagen materials have the ability to be resorbed in tissues and stimulate regeneration processes.

Materials based on collagen have been successfully used in medical practice since the second half of the 20th century [25].

Collagen materials have the ability to be resorbed in tissues and stimulate regenerative processes, including bone. In the process of deep cleaning of the matrix, natural collagen is preserved, which is a supporting protein that provides physiological bone regeneration. However, the negative property of collagen materials is their immunogenicity, which, as already emphasized earlier, increases the period of integration with surrounding tissues.

Another group of xenogeneic osteoplastic materials is deproteinized materials, which are the mineral component of the bone, completely purified from all organic elements. Most often, xenogeneic materials from bovine bone are used, which have undergone special processing, as a result of which there is a decrease in immunogenicity and the likelihood of rejection of the material in the body. The material has osteoconductive properties and is capable of bone ingrowth, with the formation of a new bone directly from the xenomaterial bed with the deposition of bone cells on its surface. Subsequently, the xenomaterial undergoes resorption with complete replacement by new bone tissue [26–30].

Alloplastic materials

Alloplastic materials belong to the group of fully synthetic materials synthesized from inorganic sources. Materials that include calcium or phosphate, or a combination of them, are the main synthetic materials,

because they are the chemical constituents of natural bone and are known to promote bone regeneration, although they do not necessarily resemble its natural structure. Alloplastic materials are osteoconductors and differ in the degree of dissociation.

Since the regenerative abilities of alloplastic materials are weak, they are often used with vascular endothelial growth factors that have the ability to induce human endothelial cells and neoangiogenesis, as well as with ions of micro — and macroelements that affect the regenerative potential, as a result of which an osteoinductive property is added to the property of osteoconductive [31–34].

Synthetic alloplastic materials have varying degrees of dissociation and resorption, which are inextricably linked with the formation of interstitial fluid and osteoclast activity. Materials having low dissociation and resorption include some preparations of synthetic hydroxyapatite. Highly dissociated materials include TCP and sulfates; studies indicate a high degree of metabolic activity of these substances [35].

The general advantages of alloplastic bone materials are the standardized quality of the product, the absence of the risk of infectious diseases compared to allogeneic and xenogeneic bone grafts. Also, the advantages of alloplastic materials lie in their biological stability and volume maintenance, which ensures bone remodeling. Synthetic alloplastic materials based on calcium sulfate, calcium phosphate, bioactive glass, and combinations thereof are the most common synthetic bone substitutes currently available. They are of particular interest because they are similar in composition to native bone. The use of calcium phosphate — based materials has received little attention for bone applications due to its biocompatibility, biodegradability, and similarity in structure to the inorganic composition of bone minerals. Materials based on hydroxyapatite, beta — tricalcium phosphate and their combinations have demonstrated the ability to partially integrate into natural bone tissue. Based on the fact that hydroxyapatite is the main mineral of bone tissue, it exhibits osteoconductive ability when implanted into a bone defect, stimulates osteoblast differentiation, osteoblast growth, and inorganic matrix deposition.

However, the clinical use of bone substitutes is limited by their fragility compared to bone, as well as their unpredictable rate of absorption and the inability to maintain defect volume, making these materials generally less favorable clinical outcomes. Thus, new bone tissue cannot withstand the mechanical load compared to natural bone, and such biomaterials are mainly used and used to fill bone cavities with low load [36–38].

Combined materials with growth factors and morphogens

Among the bone graft materials that are not part of the general classification, numerous studies have developed combined materials with the addition of growth factors and various substances that enhance osteoinductive properties. Due to the fact that autograft remains the gold standard and other materials have their own advantages and disadvantages, and mostly possess osteoconductive properties, the search for the most effective bone graft material remains a relevant problem.

One direction in bone engineering is the creation of various carriers for placing factors that promote bone tissue induction. In particular, the use of VEGF and BMPs is a promising direction.

VEGF — vascular endothelial growth factor regenerates bone tissue by influencing osteogenesis processes, stimulating angiogenesis. BMPs — bone morphogenetic proteins regulate the growth and differentiation of cells, particularly osteoblasts. So, let's examine each of the factors in more detail.

BMPs are extracellular multifunctional signaling cytokines and members of the TGF- β superfamily, which are powerful growth factors that influence bone formation. These pleiotropic growth factors play a crucial role in bone formation and remodeling. The use of BMPs has become clinically accessible for enhanced bone regeneration and predictable results in complex cases. They are one of the potential growth factors inducing osteogenic differentiation and bone formation. Based on studies of osteogenic mechanisms in fracture models, it has been proven

that growth factors and cytokines interact with BMPs to participate in its recovery. All of this serves as the basis for incorporating BMPs into synthetic bone graft materials, which serve as a delivery platform for BMPs to the site of bone defects, ensuring prolonged release of target molecules throughout the remodeling period [39, 40].

VEGF plays a key role in the early stages of osteogenesis and a significant role in the mechanisms underlying skeletal growth and recovery. The pro-angiogenic activity of VEGF affects endothelial cells, promoting increased vessel permeability and cell migration. The interaction of VEGF with BMPs initiates the mechanism of bone tissue repair by stimulating osteogenic processes, increasing cell migration, and inducing angiogenesis [41–44].

In a study by Senatov F. et al. (2022), scaffolds were recreated with the inclusion of recombinant BMP-2 and erythropoietin, followed by studying their properties *in vivo* on a model of critical-sized cranial defects in mice. The study demonstrated that the introduction of BMP-2 leads to the induction of new bone formation. The introduction of erythropoietin leads to enhanced angiogenesis in the implantation area of the scaffold. Thus, scaffolds with recombinant proteins can be used as bone implants for the reconstruction of bone defects [45].

In another study by Vasyliiev A.M. et al. (2019), the biocompatibility and osteoinductive properties of a hydrogel based on highly purified collagen and fibronectin, impregnated with BMP-2, were demonstrated. *In vitro* cultures of human mesenchymal stem cells (MSC) using PCR and *in vivo* ectopic osteogenesis models in male Wistar rats showed that the minimum effective dose of BMP-2 is 10 $\mu\text{g/ml}$. Analysis of cytotoxicity on MSC cell cultures showed high cytocompatibility of the material *in vitro*. The absence of inflammation on subcutaneous injection of the material to rats also indicated high biocompatible properties of the material *in vivo*. The collagen-fibronectin hydrogel containing BMP-2 showed pronounced osteogenic properties and by the end of 28 days was replaced by newly formed bone tissue by $8 \pm 4\%$ of its volume when subcutaneously implanted in the area of the

withers, by 17 ± 10 % when intramuscularly implanted in the triceps muscle of the thigh, and by 26 ± 11 % when intracortically implanted in the area of critical defects of the temporal bones. The optimal combination of biocompatibility and osteogenic properties of the collagen-fibronectin hydrogel impregnated with BMP-2 allows considering this material as a promising basis for creating new generation bone graft materials in dentistry [46].

Regarding VEGF, Zha Y. et al. (2021) developed a cell-free tissue engineering system using functional exosomes. Gene-activated engineered exosomes were used to encapsulate the VEGF gene. The results of this study showed that the constructed exosomes play a dual role as an osteogenic matrix inducing osteogenic differentiation of MSC and as a gene vector for controlled release of the VEGF gene for remodeling the vascular system. Under natural conditions, evaluation also confirmed that constructed bone scaffolds mediated by exosomes can effectively induce a large part of vascularized bone regeneration. The authors demonstrated a new bone restoration technology using exosomes that provide vascularized bone restoration for segmental bone defects [47].

Equally promising is the development of materials based on various biocomposites for creating advanced bone graft materials. Creating biocomposite bone graft materials in dentistry is one of the most promising areas in the development of modern medicine. Biocomposites have high biocompatibility, which helps to avoid the risk of allergic reactions and other complications.

In an article by Profeta A.C. et al. (2016), the use of bioactive glass in maxillofacial surgery is discussed. The potential benefits of using bioactive glass in bone regeneration, wound healing, and implant coatings are emphasized. The authors suggest that bioactive glass could become a valuable alternative to traditional materials in this field [48].

In another article, Apanasevich V. et al. (2020) investigated the potential of a synthetic biocomposite CaSiO₃/HAp, made from calcium silicate and hydroxyapatite powder, for bone regeneration. The authors conducted a study to assess the morphological characteristics of the biocomposite and its ability to

support osteoplastic activity. The results showed that the biocomposite has a porous structure, which is favorable for bone regeneration as it provides cellular infiltration and vascularization. Additionally, the biocomposite demonstrated good osteoconductivity, meaning it supports the growth of new bone tissue.

The authors concluded that the synthetic powder biocomposite CaSiO₃/HAp has potential for use in maxillofacial surgery, especially in cases where traditional materials may not be suitable [49].

In another study by Dunaev M.V. et al. (2014), a comparative analysis and clinical experience of using osteoplastic materials based on non-demineralized bone collagen and artificial hydroxyapatite for closing bone defects was described.

The study revealed that the use of both types of materials allows for effective closure of bone defects. However, the use of materials based on non-demineralized bone collagen showed higher effectiveness in bone tissue regeneration. It was also noted that the use of osteoplastic materials based on non-demineralized bone collagen does not cause negative reactions from the body, making it more preferable for surgical interventions.

Thus, the use of osteoplastic materials based on non-demineralized bone collagen is an effective method for bone tissue regeneration when closing bone defects [50].

The saturation of bone grafting materials with VEGF in combination with BMPs, as well as the creation of composite bone grafting biocomposite materials, can significantly modulate the processes of reparative bone tissue regeneration, allowing for the development of tissue engineering in recreating and using combined bone grafting materials.

Conclusion

Tissue engineering of bone continues to develop steadily. A vast number of materials have shown excellent results in the restoration of bone defects, but each material group has its own advantages and disadvantages, as presented in Table.

Comparative characteristics of osteoplastic materials

Material	Definition	Advantages	Disadvantages	Examples	References
Autogenous bone	Patient's own bone	Excellent biocompatibility, contains live osteoblasts and bone stem cells. There are no antigenic proteins	An additional operation is required, causing pain in the postoperative period. There may be complications	Cortical or cancellous bone	[12, 13, 17]
Allogeneic bone	A transplant taken from a genetically different member of the same species	Presence of growth factors, including bone morphogenetic proteins. No additional operation	Immune response. Long period of integration with surrounding tissues	Cortical or spongy bone of a corpse. FDBA	[19, 20, 22]
Xenogeneic bone	Transplants derived from animals (particularly cattle)	Large volume of material, bone conduction	High antigenicity	Bio – Oss	[24, 27, 29]
Alloplastic (synthetic) bone	Synthetic materials from inorganic sources	Wide choice, similar in composition to native bone. biological stability	Brittleness, unpredictable absorption rate	Calcium sulfate, calcium phosphate, TCP, synthetic hydroxyapatite, etc.	[32, 33, 36]

Currently, there is an active direction in the recreation of completely new bone graft materials that include growth factors and morphogens in their composition, which promote bone tissue induction. Additionally, the creation of biocomposite materials is also a promising direction in bone engineering. At present, there is no perfect option for bone graft material, and its selection depends directly on specific conditions, factors, and clinical situations in the oral cavity.

References / Библиографический список

- Klinovskaya AS, Bazikyan EA, Ivanova AO. Vitamin D a factor influencing the processes of bone tissue restitution of the maxillofacial area. *Russian Dentistry*. 2022;15(1):51–53. doi: 10.17116/rossomat20221501125. (In Russian). [Клиновская А.С., Базикян Э.А., Иванова А.О. Витамин D — фактор, влияющий на процессы реституции костной ткани челюстно-лицевой области // Российская стоматология. 2022. Т. 15. № 1. С. 51–53.]
- El Sayed SA, Nezwak TA, Varacallo M. Physiology Bone. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. 2021. p. 45–64.
- Kishchuk V, Bondarchuk O, Dmitrenko I, Bartsihovskyiy A, Lobko K, Grytsun Y, Isniuk A. Morphological dynamics of bone tissue reparative regeneration during the implantation of biocomposite “syntekost” into the cavity of the traumatic defect of the iliac crest of a rabbit in the experiment. *Wiad Lek*. 2018;71(7):1281–1288.
- Baig MA, Bacha D. Histology, Bone. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. 2022.
- Vasilyuk VP, Straube GI, Chetvernykh VA. Conceptual approach to eliminating jaw bone defects. *Institute of Dentistry*. 2020;1(86):107–109. (In Russian). [Васильюк В.П., Штраубе Г.И., Четверных В.А. Концептуальный подход устранения костных

дефектов челюстей. // Институт стоматологии. 2020. № 1 (86). С. 107–109.]

6. Majidinia M, Sadeghpour A, Yousefi B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. *J Cell Physiol*. 2018;233(4):2937–2948. doi: 10.1002/jcp.26042.

7. Rowe P, Koller A, Sharma S. Physiology, Bone Remodeling. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. 2022.

8. Muraev AA, Ivanov SY, Ivashkevich SG, Gorshenev VN, Teleshev AT, Kibardin AV, Kobets KK, Dubrovin VK. Organotypic bone grafts—a prospect for the development of modern osteoplastic materials. *Dentistry*. 2017;96(3):36–37. doi: 10.17116/stomat201796336-39. (In Russian). [Мураев А.А., Иванов С.Ю., Ивашкевич С.Г., Горшечев В.Н., Телешев А.Т., Кубардин А.В., Кобец К.К., Дубровин В.К. Органотипичные костные трансплантаты — перспектива развития современных остеопластических материалов // Стоматология. 2017. Т. 96. № 3. С. 36–37.]

9. Dimitriou R, Mataliotakis GI, Angoules AG, Kanakaris NK, Giannoudis PV. Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: a systematic review. *Injury*. 2011;42(2S):3–15. doi: 10.1016/j.injury.2011.06.015.

10. Brydone AS, Meek D, Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H*. 2010;224(12):1329–43. doi: 10.1243/09544119JEIM770.

11. Kolk A, Handschel J, Drescher W, Rothamel D, Kloss F, Blessmann M, Heiland M, Wolff KD, Smeets R. Current trends and future perspectives of bone substitute materials — from space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012;40(8):706–18. doi: 10.1016/j.jcms.2012.01.002.

12. Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg*. 2005;13(1):77–86.

13. Zhang S, Li X, Qi Y, Ma X, Qiao S, Cai H, Zhao BC, Jiang HB, Lee ES. Comparison of Autogenous Tooth Materials and Other Bone Grafts. *Tissue Eng Regen Med*. 2021;18(3):327–341. doi: 10.1007/s13770-021-00333-4.

14. Shahnasari S, Sheikhi M, Hashemibeni B, Mousavi SA, Soltani P. Comparison of autogenous bone graft and tissue-engineered bone graft in alveolar cleft defects in canine animal models using digital radiography. *Indian J Dent Res*. 2020;31(1):118–123. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_156_18.
15. Mudraya VN, Stepanenko IG, Shapavalov AS. The use of osteoplastic materials in modern dentistry. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. 2010;5(1):52–57. (In Russian). [Мудрая В.Н., Степаненко И.Г., Шапавалов А.С. Применение костнопластических материалов в современной стоматологии // Украинский журнал клинической и лабораторной медицины. 2010. Т. 5. № 1. С. 52–57.]
16. Martin WB, Sicard R, Namin SM, Ganey T. Methods of Cryoprotectant Preservation: Allogeneic Cellular Bone Grafts and Potential Effects. *Biomed Res Int*. 2019;2019:5025398. doi: 10.1155/2019/5025398.
17. Starch-Jensen T, Deluiz D, Bruun NH, Tinoco EMB. Maxillary Sinus Floor Augmentation with Autogenous Bone Graft Alone Compared with Alternate Grafting Materials: A Systematic Review and Meta-Analysis Focusing on Histomorphometric Outcome. *J Oral Maxillofac Res*. 2020;11(3): e2. doi: 10.5037/jomr.2020.11302.
18. Alekseev KV, Blynskaya EV, Tishkov S.V. Theoretical and practical foundations of lyophilization of drugs. *Printing house "Mittel press"*. 2019. p. 219. (In Russian). [Алексеев К.В., Блынская Е.В., Тишков С.В. Теоретические и практические основы лиофилизации лекарственных препаратов. Москва: Типография "Миттель пресс", 2019. 219 стр.]
19. Cao GD, Pei YQ, Liu J, Li P, Liu P, Li XS. Research progress on bone defect repair materials. *Zhongguo Gu Shang*. 2021;34(4):382–8. doi: 10.12200/j.issn.1003-0034.2021.04.018.
20. Baldwin P, Li DJ, Auston DA, Mir HS, Yoon RS, Koval KJ. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. *J Orthop Trauma*. 2019;33(4):203–213. doi: 10.1097/BOT.0000000000001420.
21. Tournier P, Guicheux J, Paré A, Maltezeanu A, Blondy T, Veziers J, Vignes C, André M, Lesoeur J, Barbeito A, Bardonnat R, Blanquart C, Corre P, Geoffroy V, Weiss P, Gaudin A. A partially demineralized allogeneic bone graft: *in vitro* osteogenic potential and preclinical evaluation in two different intramembranous bone healing models. *Sci Rep*. 2021;11(1):4907. doi: 10.1038/s41598-021-84039-6.
22. Kasper JC, Hedtrich S, Friess W. Lyophilization of Synthetic Gene Carriers. *Methods Mol Biol*. 2019;1943:211–225. doi: 10.1007/978-1-4939-9092-4_14.
23. Bikmullina RR, Yarullin RS, Sakhabiev AM, Mikhailov EM. Osteotropic materials for the restoration of defects after tissue. *Problems of scientific thought*. 2022;2(4):23–26. (In Russian). [Бикмуллина Р.Р., Яруллин Р.С., Сахабиева А.М., Михайлов Е.М. Остеотропные материалы для восстановления дефектов после ткани. // Проблемы научной мысли. 2022. Т. 2. № 4. С. 23–26.]
24. Zhao R, Yang R, Cooper PR, Khurshid Z, Shavandi A, Ratnayake J. Bone Grafts and Substitutes in Dentistry: A Review of Current Trends and Developments. *Molecules*. 2021;18;26(10):3007. doi: 10.3390/molecules26103007.
25. Martirosyan RV, Bostanjyan TM, Sarkisyan MA, Voronin AV. Preservation of the hole after removal of the maxillary premolar using Geistlich Mucograft® Seal and Geistlich Bio — Oss®. *Stomatology for everyone*. 2016;3:22–24. (In Russian). [Мартиросян Р.В., Бостанджян Т.М., Саркисян М.А., Воронин А.В. Консервация лунки после удаления премоляра верхней челюсти при помощи Geistlich Mucograft® Seal и Geistlich Bio — Oss® // Стоматология для всех. 2016. № 3. С. 22–24.]
26. Kolk A, Handschel J, Drescher W, Rothamel D, Kloss F, Blessmann M, Heiland M, Wolff KD, Smeets R. Current trends and future perspectives of bone substitute materials—from space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012;40(8):706–18. doi: 10.1016/j.jcms.2012.01.002.
27. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(3):369–72. doi: 10.1034/j.1600-0501.2003.140316.x.
28. Bikbulatova IR, Musinova AS, Serdyuk SV. Bone plastic material in dentistry. *Natural and medical sciences. Student scientific forum. Electronic collection of articles based on the materials of the XVI student international scientific and practical conference*. 2019;5(16):40–46. (In Russian). [Бикбулатова И.Р., Мусинова А.С., Сердюк С.В. Костнопластический материал в стоматологии. Естественные и медицинские науки. Студенческий научный форум. Электронный сборник статей по материалам XVI студенческой международной научно-практической конференции. Москва: "МЦНО". 2019. Т. 16. № 5. С. 40–46.]
29. Zhuang G, Mao J, Yang G, Wang H. Influence of different incision designs on bone increment of guided bone regeneration (Bio-Gide collagen membrane + Bio-OSS bone powder) during the same period of maxillary anterior tooth implantation. *Bioengineered*. 2021;12(1):2155–2163. doi: 10.1080/21655979.2021.1932209.
30. Kobozev MI, Balandina MA, Muraev AA, Ryabova VM, Ivanov SY. Preservation of alveolar ridge volume: an analysis of the results of cone beam computed tomography. *The Journal of scientific articles Health and Education Millennium*. 2016;18(1):84–91. (In Russian). [Кобозев М.И., Баландина М.А., Мураев А.А., Рябова В.М., Иванов С.Ю. Сохранение объема альвеолярного гребня: анализ результатов по данным конусно-лучевой компьютерной томографии. // The Journal of scientific articles "Health and Education Millennium". 2016. Т. 18. № 1. С. 84–91.]
31. Kao ST, Scott DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007;19(4):513–21. doi: 10.1016/j.coms.2007.06.002.
32. Fukuba S, Okada M, Nohara K, Iwata T. Alloplastic Bone Substitutes for Periodontal and Bone Regeneration in Dentistry: Current Status and Prospects. *Materials (Basel)*. 2021;14(5):1096. doi: 10.3390/ma14051096.
33. Gazhva YV, Bonartsev AP, Mukhametshin RF, Zharkova II, Andreeva NV, Makhina TK, Myshkina VL, Bespalova AE, Zernov AL, Ryabova VM, Ivanova EV, Bonartseva GA, Mironov AA, Shaitan KV, Volkov AV, Muraev AA, Ivanov SY. Development and study of *in vivo* and *in vitro* osteoplastic material based on the composition of hydroxyapatite, poly-3-hydroxybutyrate and sodium alginate. *СТМ*. 2014;6(1):6–13. (In Russian). [Гажва Ю.В., Бонартцев А.П., Мухаметшин Р.Ф., Жаркова И.И., Андреева Н.В., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Беспалова А.Е., Зернов А.Л., Рябова В.М., Иванова Э.В., Бонартцева Г.А., Миронов А.А., Шайтан К.В., Волков А.В., Мураев А.А., Иванов С.Ю. Разработка и исследование *in vivo*

и *in vitro* костно-пластического материала на основе композиции гидроксипатита, поли-3-оксибутирата и альгината натрия // СТМ. 2014. Т. 6. № 1. С. 6–13.]

34. Muraev AA, Ivanov SY, Ryabova VM, Artifeksova FF, Volodina EV, Polyakova IN. Toxicity and biological activity of a new bone substitute material based on non-demineralized collagen containing vascular endothelial growth factor. *Modern technologies in medicine*. 2012;(3):19–25. (In Russian). [Мураев А.А., Иванов С.Ю., Рябова В.М., Артифексова Ф.Ф., Володина Е.В., Полякова И.Н. Токсичность и биологическая активность нового костезамещающего материала на основе недеминерализованного коллагена, содержащего фактор роста эндотелия сосудов. // Современные технологии в медицине. 2012. № 3. С. 19–25.]

35. Ivanov SY, Mukhametshin RF, Muraev AA, Bonartsev AP, Ryabova VM. Synthetic materials used in dentistry to replace bone defects. *Modern problems of science and education*. 2013;60. (In Russian). [Иванов С.Ю., Мухаметшин Р.Ф., Мураев А.А., Бонартцев А.П., Рябова В.М. Синтетические материалы, используемые в стоматологии для замещения дефектов костной ткани. // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 1. С. 60.]

36. Haugen HJ, Lyngstadaas SP, Rossi F, Perale G. Bone grafts: which is the ideal biomaterial? *J Clin Periodontol*. 2019;46(21):92–102. doi: 10.1111/jcpe.13058.

37. Mukhametov UF, Lyulin SV, Borzunov DY. Alloplastic and implant materials for bone grafting: literature review. *Creative Surgery and Oncology*. 2021;11(4):343–353. doi: 10.24060/2076-3093-2021-11-4-343-353. (In Russian). [Мухаметов У.Ф., Люлин С.В., Борзун Д.Ю. Аллопластические и имплантационные материалы для костной пластики: обзор литературы // Креативная хирургия и онкология. 2021. Т. 11. № 4. С. 343–353.]

38. Ku JK, Hong I, Lee BK, Yun PY, Lee JK. Dental alloplastic bone substitutes currently available in Korea. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2019;45(2):51–67. doi: 10.5125/jkaoms.2019.45.2.51.

39. Park SY, Kim KH, Kim S, Lee YM, Seol YJ. BMP-2 Gene Delivery-Based Bone Regeneration in Dentistry. *Pharmaceutics*. 2019;11(8):393. doi: 10.3390/pharmaceutics11080393.

40. da Silva Madaleno C, Jatzlau J, Knaus P. BMP signalling in a mechanical context—Implications for bone biology. *Bone*. 2020;137:115416. doi: 10.1016/j.bone.2020.115416.

41. Muraev AA, Ivanov SY, Artifeksova AA, Ryabova VM, Volodina EV, Polyakova IN. Study of the biological properties of a new osteoplastic material based on non-demineralized collagen containing vascular endothelial growth factor in the replacement of bone defects. *Modern technologies in medicine*. 2012;21–26. (In Russian). [Мураев А.А., Иванов С.Ю., Артифексова А.А., Рябова В.М., Володина Е.В., Полякова И.Н. Изучение биологических свойств нового остеопластического материала на основе недеминерализованного коллагена, содержащего фактор роста эндотелия сосудов при замещении костных дефектов // Современные технологии в медицине. 2012. № 1. С. 21–26.]

42. Geng Y, Duan H, Xu L, Witman N, Yan B, Yu Z, Wang H, Tan Y, Lin L, Li D, Bai S, Fritsche-Danielson R, Yuan J, Chien K, Wei M, Fu W. BMP-2 and VEGF-A modRNAs in collagen scaffold synergistically

drive bone repair through osteogenic and angiogenic pathways. *Commun Biol*. 2021;4(1):82. doi: 10.1038/s42003-020-01606-9.

43. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, Marginean M, Mişu C, Istrate M, Moldovan IM, Roman AL, Mişu CM. Vascular endothelial growth factor (VEGF) — key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol*. 2018;59(2):455–467.

44. Bai J, Li L, Kou N, Bai Y, Zhang Y, Lu Y, Gao L, Wang F. Low level laser therapy promotes bone regeneration by coupling angiogenesis and osteogenesis. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):432. doi: 10.1186/s13287-021-02493-5.

45. Senatov F, Zimina A, Chubrik A, Kolesnikov E, Permyakova E, Voronin A, Poponova M, Orlova P, Grunina T, Nikitin K, Krivozubov M, Strukova N, Generalova M, Ryazanova A, Mansikh V, Lunin V, Gromov A, Karyagina A. Effect of recombinant BMP-2 and erythropoietin on osteogenic properties of biomimetic PLA/PCL/HA and PHB/HA scaffolds in critical-size cranial defects model. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2022;135:112680. doi: 10.1016/j.msec.2022.112680.

46. Vasilyev AV, Kuznetsova VS, Galitsyna EV, Bukharova TB, Osidak EO, Fatkhudinova NL, Leonov GE, Babichenko II, Domogatsky SP, Goldstein DV, Kulakov AA. Biocompatibility and osteoinductive properties of collagen and fibronectin hydrogel impregnated with rhBMP-2. *Stomatologiya (Mosk)*. 2019;98(6.2):5–11. doi: 10.17116/stomat2019980625. (In Russian) [Васильев А.В., Кузнецова В.С., Галицына Е.В., Бухарова Т.Б., Осидак Е.О., Фатхудинова Н.Л., Леонов Г.Е., Бабиченко И.И., Домогатский С.П., Гольдштейн Д.В., Кулаков А.А. Биосовместимость и остеогенные свойства коллаген-фибронектинового гидрогеля, импрегнированного BMP-2. // Стоматология. 2019. Т. 98. № 6. С. 5–11.]

47. Zha Y, Li Y, Lin T, Chen J, Zhang S, Wang J. Progenitor cell-derived exosomes endowed with VEGF plasmids enhance osteogenic induction and vascular remodeling in large segmental bone defects. *Theranostics*. 2021;11(1):397–409. doi: 10.7150/thno.50741.

48. Profeta AC, Huppa C. Bioactive-glass in Oral and Maxillofacial Surgery. *Cranio-maxillofac Trauma Reconstr*. 2016;9(1):1–14. doi: 10.1055/s-0035-1551543.


49. Apanasevich V, Papynov E, Plehova N, Zinoviev S, Kotciurbii E, Stepanyugina A, Korshunova O, Afonin I, Evdokimov I, Shichalin O, Bardin A, Nevozhai V, Polezhaev A. Morphological Characteristics of the Osteoplastic Potential of Synthetic CaSiO₃/HA Powder Biocomposite. *J Funct Biomater*. 2020;11(4):68. doi: 10.3390/jfb11040068.

50. Dunaev MV, Kitaev VA, Matavkina MV, Druzhinin AE, Bubnov AS. Comparative analysis and clinical experience with osteoplastic materials based on non-demineralized bone collagen and artificial hydroxylapatite at the close of bone defects in ambulatory surgical dentistry. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2014;69(7–8):112–120. doi: 10.15690/vramn.v69i7-8.1117. (In Russian) [Дунаев М.В., Китаев В.А., Матавкина М.В., Дружинин А.Е., Бубнов А.С. Сравнительный анализ и клинический опыт использования остеопластических материалов на основе недеминерализованного костного коллагена и искусственного гидроксипатита при закрытии костных дефектов в амбулаторной хирургической стоматологии // Вестник Российской академии медицинских наук. 2014. Т. 69. № 7–8. С. 112–120.]

Современные костнопластические материалы

К.М. Салех  , А.Б. Дымников , Р.Ф. Мухаметшин , С.Г. Ивашкевич 

Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

 ms.s.karina@mail.ru

Аннотация. Регенерация костной ткани и разработка методов направленного воздействия на процессы заживления костей являются актуальными проблемами современной медицины. Дефекты челюстных костей широко распространены, что, в свою очередь, обуславливает поиск современных костнозамещающих материалов, отвечающих основным характеристикам кости. Поиск информации проводили на основе баз данных PubMed и E-library по ключевым словам: «bone tissue» AND «bone regeneration» AND «osteoplastic materials» AND «osteoinduction» AND «osteoconduction». Анализ литературных данных показал, что аутологичная кость считается клинически золотым стандартом и наиболее эффективным методом костной регенерации. Именно аутоотрансплантату присущи три основных характеристики: остеогенность, остеоиндуктивность и остеокондуктивность. Аутоотрансплантат имеет недостатки в связи с ограниченным количеством костной ткани и болезненностью донорского участка. Жизнеспособной альтернативой аутологичной кости является аллотрансплантат. Наиболее широко используемым аллотрансплантатом является деминерализованный лиофилизированный костный аллотрансплантат (ДЛКА). Процесс лиофилизации способствует повреждению остеобластов, что ограничивает его остеоиндуктивный потенциал, однако именно он является выгодной альтернативой по удобству, обилию выбора и отсутствия болезненности после дополнительного оперативного вмешательства. Основной составляющей ксеногенных материалов является коллаген, обладающий способностью резорбироваться в тканях и стимулировать регенеративные процессы. Материал обладает остеокондуктивными свойствами, и способен к костному прорастанию, с образованием новой кости непосредственно от ложа ксеноматериала с отложением на его поверхности костных клеток. В дальнейшем ксеноматериал подвергается рассасыванию с полным замещением новой костной тканью. Аллопластические материалы полностью синтетические материалы, синтезируемые из неорганических источников. Аллопластические материалы обладают свойством остеокондукции, а при внесении в их состав различных факторов роста к остеокондуктивности присоединяется свойство остеиндукции. Клиническое применение костных заменителей ограничено их хрупкостью, а также их непредсказуемой скоростью резорбции, что наделяет эти материалы в целом менее благоприятными клиническими результатами. **Выводы.** До сих пор проводится научный поиск различных материалов, способных по своим характеристикам заменить аутогенный трансплантат. На данный момент ни один из доступных в настоящее время материалов не обладает всеми желательными характеристиками, и выбор материала напрямую зависит от конкретной клинической ситуации в полости рта.

Ключевые слова: костная ткань, костная регенерация, костнопластические материалы, остеиндукция, остеокондукция

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов: Салех К.М. — обзор литературы, написание текста; Дымников А.Б., Мухаметшин Р.Ф., Ивашкевич С.Г. — подготовка и редактирование рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 17.05.2023. Принята 06.07.2023.

Для цитирования: Marouf R., Ermolaev A.A., Podoprigora I.V., Senyagin A.N., Mbarga M.J.A. Modern osteoplastic materials // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. No 3. С. 368—378. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-368-378

Corresponding author: Salekh Karina Mustafaevna — PhD student of the Department of Oral and Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Institute of Medicine, RUDN University, 117198, Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russian Federation.

E-mail: ms.s.karina@mail.ru

Salekh K.M. ORCID 0000–0003–4415–766X

Дымников А.В. ORCID 0000–0001–8980–6235

Mukhametshin R.F. ORCID 0000–0001–6975–7018

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

Ответственный за переписку: Салех Карина Мустафаевна — аспирант кафедры Челюстно — лицевой хирургии и хирургической стоматологии, медицинский институт РУДН, Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо — Маклая, 10. E — mail: ms.s.karina@mail.ru

Салех К.М. SPIN 1798–1439; ORCID 0000–0003–4415–766X

Дымников А.В. SPIN 7254–4306; ORCID 0000–0001–8980–6235

Мухаметшин Р.Ф. SPIN 8369–0862; ORCID 0000–0001–6975–7018

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



MICROBIOLOGY МИКРОБИОЛОГИЯ

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-379-390
EDN: PZXLKU

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Antibacterial activity of Clove *Syzygium aromaticum* L. and synergism with antibiotics against multidrug-resistant uropathogenic *E. coli*

Razan Marouf  , Andrey A. Ermolaev , Irina V. Podoprigora ,
Alexander N. Senyagin , Manga J.A. Mbarga 

RUDN University, Moscow, Russian Federation
 razanma3rouf@gmail.com

Abstract. Relevance. Urinary tract infections pose a growing threat to humanity due to the rise of antibiotic resistance in uropathogens. Exploring natural sources for alternative treatments has become a prominent approach. *The aim* of the research was to investigate the antibacterial effects of clove (*Syzygium aromaticum* L.) against uropathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*). *Materials and Methods.* The research was performed on three clinical multidrug-resistant uropathogenic *E. coli* isolates and *E. coli* ATCC 25922. Clove hydroalcoholic extract was obtained by cold maceration technique. To evaluate the antibacterial activity of the extract, agar well diffusion method was performed. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of the extract were determined by microbroth dilution method. Light microscopy was used to investigate morphological changes in uropathogenic *E. coli* after exposure to clove extract. Checkerboard assay was used to assess synergism between clove extract and antibiotics. All obtained data were statistically processed. *Results and Discussion.* In well diffusion method, bacterial responses to clove extract were concentration-dependent with inhibition zone diameter of 7–10/10–15 mm for uropathogenic strains and *E. coli* ATCC 25922, respectively. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of clove extract against uropathogenic strains were 25 mg/mL. The extract showed a lower minimum inhibitory concentration against *E. coli* ATCC 25922 (6.25 mg/mL) with minimum bactericidal concentration being 25 mg/mL. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations

Marouf R., Ermolaev A.A., Podoprigora I.V., Senyagin A.N., Mbarga M.J.A., 2023



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

ratio showed that clove extract tends to be bactericidal agent. Synergy test revealed that the combination of clove extract and nitrofurantoin or ciprofloxacin resulted in no interaction. However, minimum inhibitory concentrations of all tested agents in combinations exhibited varying degrees of decrease. Incubation of uropathogenic strains with the extract transformed them to unstable spherical L-form in percentage of 96–99 %. **Conclusion.** This study highlights clove as a potential natural antibacterial agent against multidrug-resistant uropathogenic *E. coli*, warranting further investigations into its antibacterial properties.

Key words: clove, *Syzygium aromaticum*, urinary tract infections, uropathogenic *Escherichia coli*, phytochemicals, antibacterial agent, antibiotic resistance

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contributions. Marouf R. and Ermolaev A.V. conceptualized and designed the study. Marouf R., Senyagin A.N. and Joseph Arsene M.M. conducted the laboratory experiments. Marouf R. and Podoprighora I.V. edited, and revised the manuscript. All authors have made significant contributions to the development concepts, research, and manuscript writing, read and approved final version before publication.

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

Acknowledgements — not applicable.

Ethics approval — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 31.05.2023. Accepted 06.07.2023.

For citation: Marouf R, Ermolaev AA, Podoprighora IV, Senyagin AN, Mbarga MJA. Antibacterial activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) and synergism with antibiotics against multidrug-resistant uropathogenic *E. coli*. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):379—390. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-379-390

Introduction

Since ancient times, spices have represented an essential part of traditional medicine for their prominent therapeutic properties. Among spices, clove stands out as a highly effective medicinal plant that has advantages over others [1], especially in terms of the high content of polyphenols and antioxidant compounds [2]. The scientific name of clove is *Syzygium aromaticum* L. and it belongs to the family Mirtaceae [3]. Cloves grow as medium-sized evergreen trees that are native to eastern Indonesia [4]. The dried flower buds are the commercial part of clove trees and can be used mainly in three forms: ground spice, whole buds and essential oil. Particularly, clove essential oil is the most commonly used form with a wide range of documented therapeutic effects [5]. Clove is traditionally used in many health conditions, including toothache, dental infections, burns, wounds, nausea, vomiting, bloating, disorders of the stomach, intestines and liver, nerves

stimulation, food preservation and as an insecticide in agriculture [1, 3]. As per studies, several pharmacological activities of clove have already been validated, such as antibacterial, antifungal, antiprotozoal, antiviral, analgesic, antispasmodic, antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic, antidepressant, antiulcer, antithrombotic, antinociceptive, among others [3].

In microbiology, clove represents a substantial and promising antimicrobial agent as its efficacy against many pathogenic microorganisms has been intensively reported [6–11]. Moreover, in some countries clove is widely used to tackle malaria, scabies, tuberculosis, cholera, food-borne pathogens, worms, candida and viruses [12]. Many research have shown clove to be a highly effective antibacterial agent against many gram-negative and positive bacteria [3].

From the phytochemical point of view, clove contains a broad spectrum of active compounds to which its immense pharmacological activities are attributed. Clove is considered

one of the richest plant sources of phenolic compounds, such as flavonoids (e.g., kaempferol and quercetin), phenolic acids (e.g., gallic, hydroxybenzoic, hydroxycinnamic, ellagic, caffeic, ferulic, and salicylic acids) and tannins. Eugenol is the most abundant bioactive compound found in clove essential oil, other compounds in lower concentrations are eugenol acetate, carvacrol, thymol, cinnamaldehyde, α -humulene, β -cariofileno, β -pinene, limonene, benzaldehyde, farnesol and ethyl hexanoate [1, 3, 5].

Urinary tract infections (UTIs) are one of the most prevalent infections with significant mortality, morbidity and recurrence rate. The extensive use of antibiotics and the lack of clinical investigations have emerged in high resistance among uropathogens. Consequently, UTIs are a worrisome burden that significantly affects the quality of life, of individuals and societies alike. Among uropathogens, uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) are the most prevalent in hospitals and community with multidrug-resistance (MDR) being extensively reported [13]. The problem of antibiotic resistance is emerging alarmingly on a global level. Conventional antibiotics gradually lose their effectiveness and annually many patients die because of the exhaustion of antibiotic treatment options [14]. This issue is of keen interest to researchers and new approaches are being actively developed to treat resistant bacteria and to prevent the development of resistance [15]. Recently, medicinal plants are being intensively studied by researchers all over the world as they present promising natural alternatives to conventional antibiotics. Many plants have been validated to possess a potent antibacterial activity against a wide range of bacterial species, including MDR strains [16]. Searching two of major databases (Science Direct and Google scholar), we found few research on the antibacterial activity of clove against UPEC, thus this *in vitro* study aimed to investigate the antibacterial potential of clove extract against MDR-UPEC.

Materials and methods

Bacterial strains and inoculums preparation

The research was performed on three clinical MDR-UPEC isolates (UPEC 1, 2 and 3) and one reference strain *E. coli* ATCC 25922. Bacteria were provided

by the laboratory of the department of microbiology named after V.S. Kiktenko, RUDN University, Moscow. UPEC strains utilized in this study were obtained from urine samples collected from patients (children aged 9 months to 18 years old) diagnosed with symptomatic UTIs, which were confirmed through laboratory testing. Bacteria were isolated and identified at the laboratory of the Russian Children's Clinical Hospital. All UPEC strains were resistant to tetracyclines, ceftazidime/clavulanic acid, ceftazidime, ceftriaxone, trimethoprim and ampicillin. UPEC 3 were additionally resistant to ciprofloxacin and imipenem.

For inoculums preparation, bacteria were cultured overnight in BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (HIMEDIA®, Ref 173–500G) for 16–18 h at 37 °C, aerobically. Afterwards, the cultures were centrifuged (for 10 minutes at 3000 RPM in Eppendorf Centrifuge 5415 R), washed twice with phosphate buffer saline (PBS) and resuspended in NaCl (0.9 %). Finally, the turbidity of inoculums was adjusted photometrically to equal that of 0.5 McFarland standard.

Plant material and extraction

Dried clove buds (Russian Grocery Company “Indiana”, Shchelkovo, Russia) were obtained from a supermarket in Moscow. To prepare a hydroalcoholic clove extract, cold maceration technique [17] was carried out as follows. Clove buds were first grinded to fine particles using electric blender after which they were placed in a flask with the addition of 80 % ethanol in a sample/solvent ratio of 1/10 (w/v). The flask was tightly closed to prevent evaporation and incubated with shaking (300 RPM), at 22 °C for 24h. Afterwards, the extract was filtered thrice by vacuum filtration (using Whatman filter paper № 1), then the filtrate was evaporated in rotary evaporator (IKA Werke, Staufen, Germany) at 40 °C. The obtained crude extract was in form of dark brown semisolid mass. Extract was stored in darkness at 4 °C.

Agar well diffusion method

Agar well diffusion method was performed to investigate the antibacterial effect of clove extract, as previously described [18]. Briefly, Muller Hinton Agar (MHA) (HIMEDIA®, Ref 173–500G) plates were seeded with fresh

bacterial inoculums, then cork borer (4 mm) was used to made wells in agar. Afterwards, 45 μ L of clove extract were added into the wells in the following concentrations: 25, 50, 100 and 200 mg/mL in dimethyl sulfoxide (DMSO, VWR International LLC, USA) (10 % v/v in dH₂O). DMSO (10 %) was added alone as a negative control. Plates were let to stand for 30 minutes until fully distribution of the extracts, and then incubated for 24 h at 37 °C. Following respective incubation period, diameters of inhibition zones were measured in mm.

Quantitative antibacterial assay

Quantitative antibacterial assay of clove extract was performed by determining minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum bactericidal concentrations (MBCs) using previously described microdilution method [19]. Briefly, in a sterile U-bottom 96-well microplates serial twofold dilutions of clove extract were made in BHIB, followed by inoculation the wells with respective bacteria. Serial dilutions of 10 % DMSO served as negative control and all used solution except bacteria were included as sterility control. Plates were then incubated for 24 h at 37 °C. The lowest concentration that resulted in no visible bacterial growth was considered MIC. Further, all wells \geq MIC were subcultured on MHA plates and incubated for 24 h at 37 °C. The lowest concentration with no growth on agar plates were evaluated as MBC. To determine whether the antibacterial effect of clove extract is rather bactericidal or bacteriostatic, MBC/MIC ratio was calculated for each strain. Values \leq 4 indicate bactericidal effect whereas values $>$ 4 indicates bacteriostatic effect [20].

Morphology

Light microscopy was used to investigate any morphological changes in general shape of UPEC after exposure to clove extract. Standardized concentrations (OD₄₉₂ = 0.05) of overnight cultures were incubated with the extract at a final concentration of MIC/2 in BHIB for 24 hours at 37 °C, after which cultures were washed twice and resuspended in PBS. Finally, bacteria were simple stained with crystal violet 1 % and observed under a light microscope at 1,000 \times . In each sample, 100 random cells in random fields of view were observed. Control cultures consisted of bacteria incubated

with 10 % DMSO. To investigate whether the morphological changes will persist in the 1st generation in absence of the extract, a subculturing in BHIB was performed and bacteria were observed as previously described. Images were obtained by Levenhuk M300 Base Digital Camera and Levenhuk ToupView (3.7.6273) software.

Checkerboard assay

To assess synergism between clove extract and antibiotics, checkerboard assay was performed [21]. Nitrofurantoin and ciprofloxacin (Sigma-Aldrich) were the tested antibiotics, and their MICs were firstly determined as described for clove extract. UPEC isolates were subjected to the assay. Briefly, 77 combinations of the tested agents were prepared in 96-microplates and inoculated with bacterial inoculum. Final plate setting is shown in Figure 1. Control plates (background plates) contained the same solutions except bacteria. Plates then were incubated at 37 °C for 20 h. The next day, wells were mixed, and optical density (OD) was read in a microplate reader at 492 nm. The mean of three reads was obtained and the percentage of bacterial growth was calculated as follows:

$$\frac{OD_{drug\ combination\ well} - OD_{background}}{OD_{drug\ free\ well} - OD_{background}} \times 100$$

The lowest concentration that inhibited the bacterial growth by more than 80 % was considered as MIC. Data obtained from checkerboard method were further analyzed by Loewe additivity-based model [22]. This model is a nonparametric approach commonly used to define the theoretical additive effects based on the fractional inhibitory concentration index (FICI). First, Σ FIC for each MIC was calculated as follows: Σ FIC = FIC (antibiotic) + FIC (plant extract); FIC (antibiotic) = MIC of antibiotic in combination/ MIC of antibiotic alone, and so for FIC (plant extract). In each plate, the lowest Σ FIC (Σ FIC_{min}) when the highest Σ FIC (Σ FIC_{max}) is smaller than 4 was considered as FICI. As all obtained Σ FICs were lower than 4, Σ FIC_{min} always expressed FICI. Results were then interpreted in accordance with the following criteria: synergy (FICI \leq 0.5), no interaction (0.5 < FICI \leq 4) or antagonism (FICI > 4).

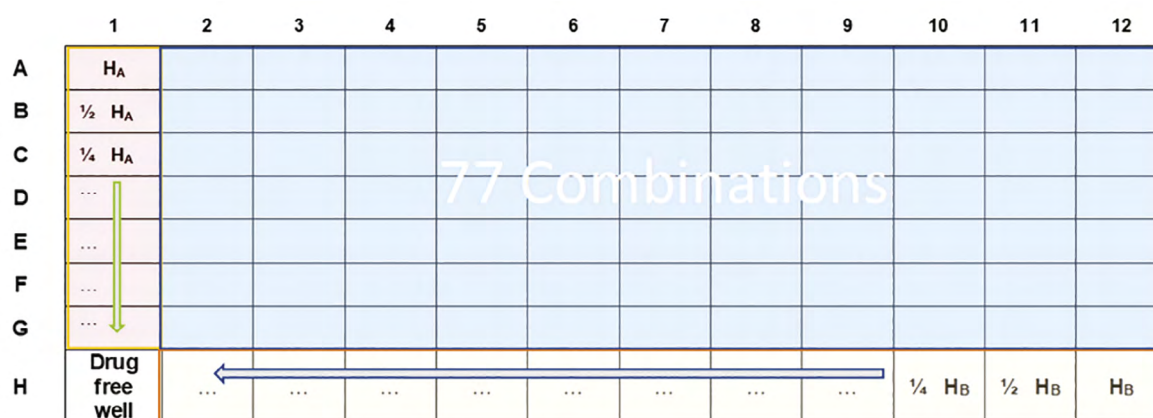


Fig. 1. Checkerboard final microplates setting [21]. H_A and H_B present the tested antibacterial agents

Statistical analysis

All trials were performed separately in triplicate. Three repeats for each tested case were included in each experiment. The obtained data were reported as the mean of all trials \pm standard deviation (SD). Synergy assay was modeled using the Loewe additivity-based approach. Excel 2019 and XLSTAT 2023 were used to analyze data, calculate means and SD.

Results and discussion

Well diffusion

Well diffusion method was used to investigate the antibacterial activity of clove extract against *E. coli* strains. Clove extract exhibited antibacterial activity against all tested strains in a concentration dependent manner (Table 1, Fig. 2). UPEC isolates were sensitive only to the 100 and 200 mg/mL concentrations with inhibition diameters of 7–10 mm, while the lower two concentrations (25 and 50 mg/mL) resulted in no inhibition zone. In contrast, the standard strain *E. coli* ATCC 25922 showed sensitivity to all extract concentrations with diameters of 10–15 mm, which is quietly predictable. The correlation between antimicrobial effect and the concentration of plant extract is reported in literature [23]. Generally, our findings support those reported for clove extracts and essential oil against many pathogens. For example, an inhibition diameter of 16–20 mm was reported for clove essential oil

(10 μ L/disc) against gram negative and positive bacteria, including *E. coli*, *Salmonella* spp, *P. aeruginosa*, *Streptococcus* group D and *S. aureus* [24]. In another study, clove ethanolic extract showed a significant antibacterial activity against high level gentamicin resistant enterococci, with a diameter of 25–26 mm, by well diffusion method [25]. Similarly, clove aqueous and ethanolic extract resulted in inhibition zones of 12.2–25.2 mm against many pathogens, such as *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* and *Candida albicans* [23]. Thus, here we confirm the potency of clove as antibacterial agent against MDR-UPEC.

In this study, we did not analyze the phytochemical composition of clove extract to identify possible active compounds, but we present a theoretical concept based on a similar work. In their phytochemical analyses, Rosarior et al. [26] revealed that the major constituents of clove ethanolic extract were phenolic compounds, mainly eugenol, kaempferol, gallic acid and catechin. As per studies, phenolic compounds are well known for their antibacterial activity against a wide range of bacterial pathogens [27–29]. Moreover, it is proposed that phenolic compounds, especially kaempferol, possess a synergistic effect with eugenol, which results in enhanced antibacterial activity of extracts containing this combination [26]. Hence, the antibacterial activity we observed for clove extract could be attributed mainly to the rich phenolic content of this plant.

Table 1

Diameters of inhibition zones (in mm) for clove extract against *E. coli* strains

Strains	Clove extract (mg/mL)			
	25	50	100	200
UPEC 1	0 ± 0.0	0 ± 0.0	7 ± 0.8	9 ± 0.0
UPEC 2	0 ± 0.0	0 ± 0.0	7 ± 0.0	8.5 ± 0.5
UPEC 3	0 ± 0.0	0 ± 0.0	7 ± 0.6	10 ± 0.0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10 ± 0.6	11 ± 0.8	12 ± 0.0	15 ± 0.3

Note: UPEC – uropathogenic *E. coli*.

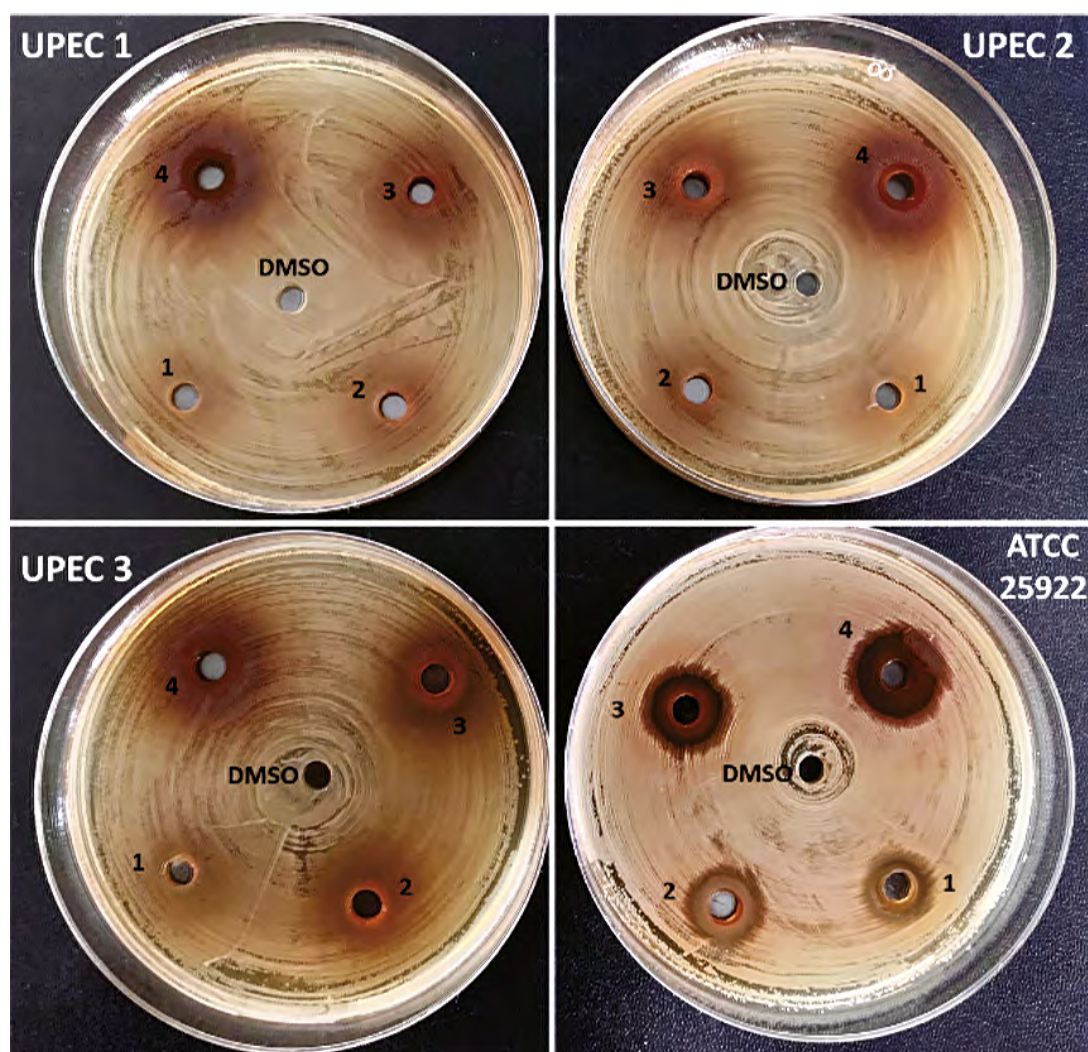


Fig. 2. Inhibition zones of clove extract against *E. coli* strains. Extract concentrations: 25 (1), 50 (2), 100 (3) and 200 mg/mL (4). DMSO 10 %: negative control. UPEC: uropathogenic *E. coli*

Quantitative antibacterial assay

Antibacterial activity of clove extract was assessed quantitatively by determining MICs and MBCs (Table 2). MIC of clove extract against UPECs was 25 mg/mL and the same concentration resulted in no growth on agar plates which indicates the MBC to be also 25 mg/mL. The extract showed a lower MIC against *E. coli* ATCC 25922 (6.25 mg/mL), while the MBC for this strain was 25 mg/mL. These results are in correlation with those of well diffusion method, as UPECs showed quite similar sensitivity to the extract, while the reference strain was the most sensitive to all tested concentrations. Similar MIC (25 mg/mL) was

reported for clove ethanolic extract against *E. coli*, while the aqueous extract had a MIC of 50 mg/mL [23]. However, it is well known that many factors affect the content of antibacterial compounds in plant extracts, this includes the extraction method and the type of solvent, which in turn results in such differences between various extracts of the same plant [30,31]. MBC/MIC ratio is a commonly used indicator of the antibacterial nature as it gives an idea whether the agent tends to be bacteriostatic or bactericidal [20]. Here, clove extract has been shown to be bactericidal agent against all tested strains, with a ratio of 1 for UPECs and 4 for the reference strain.

MICs and MBCs of clove extract against *E. coli* strains

Table 2

Strains	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)	MBC/MIC ratio
UPEC 1	25 ± 0.0	25 ± 0.0	1
UPEC 2	25 ± 0.0	25 ± 0.0	1
UPEC 3	25 ± 0.0	25 ± 0.0	1
<i>E. coli</i> ATCC 25922	6.25 ± 0.0	25 ± 0.0	4

Note: MIC – minimum inhibitory concentration, MBC – minimum bactericidal concentration, UPEC – uropathogenic *E. coli*.

Morphological changes in bacteria after exposure to clove

The capacity of clove extract to cause morphological changes in UPEC was investigated (Fig. 3). All tested UPEC isolates underwent morphological change to spherical L-form in percentages of 96–99 %. However, the 1st generations restored their walled rod-shaped state. For control samples with DMSO, no abnormalities were observed as they all contained normal rods. Phytochemicals have been shown to cause morphological changes in bacterial cells, such as shortness [32, 33] or filamentation [34], probably depending on tested bacteria and chemical nature of these compounds. The cell wall is an essential protective structure in a bacterial cell, giving it its shape and maintaining the integrity of the cell. Cell wall mainly consists of peptidoglycan (PG) which is synthesized via a well-conserved biochemical pathway that begins in the cytosol with the synthesis of the precursor lipid- II which is then transported out of

the cell membrane where cell wall is finally assembled by specialized proteins [35]. The cell wall is one of the most important targets of antibiotics such as β -lactams. Despite the great importance of the cell wall, some bacteria can transform into L-form; a wall-deficient cell that possesses spherical or pleomorphic shape [36]. This transformation is usually induced by cell wall-targeting antimicrobials or innate immune effectors such as lysozyme, thus considered as a resistance mechanism [37]. L-form bacteria can be stable or unstable, i. e., remain L-form or revert back to original shape after withdrawal of the inducing agent. By switching to L-form, bacteria can resist β -lactams, lytic bacteriophages and probably innate immune response [36, 37]. Precise molecular mechanism underlying L-form formation and its role in human infections remains undefined and controversial [36, 38]. However, using genome-wide transcriptome analysis of unstable L-form *E. coli*, Glover et al. [39] reported an up-regulation of

many genes with unknown function and stress pathways, which are also found in persister cells and biofilms, have been also over-expressed. In addition, it has been suggested that a rigid outer membrane is essential for L-form *E. coli* to survive [40].

Here, we showed that clove extract at MIC/2 was able to cause UPEC to convert to unstable L-form. This transformation is likely due to targeting the bacterial cell wall by certain substances in the extract. Thus, bacteria have turned into L-form as a defense mechanism to protect themselves from phytochemicals.

These observations highlight the importance of using the extract at concentration of MIC or higher to avoid creating resistant forms of bacteria that are difficult to target and destroy later, especially with antibiotics that act on the cell wall such as β -lactams. In addition, outer membrane inhibitors can be useful in this case if accompanied with the extract to prevent L-form cells from dividing and surviving. Thus, clove extract may represent a simple and affordable way to obtain L-form bacteria in laboratory for further characterization and studies.

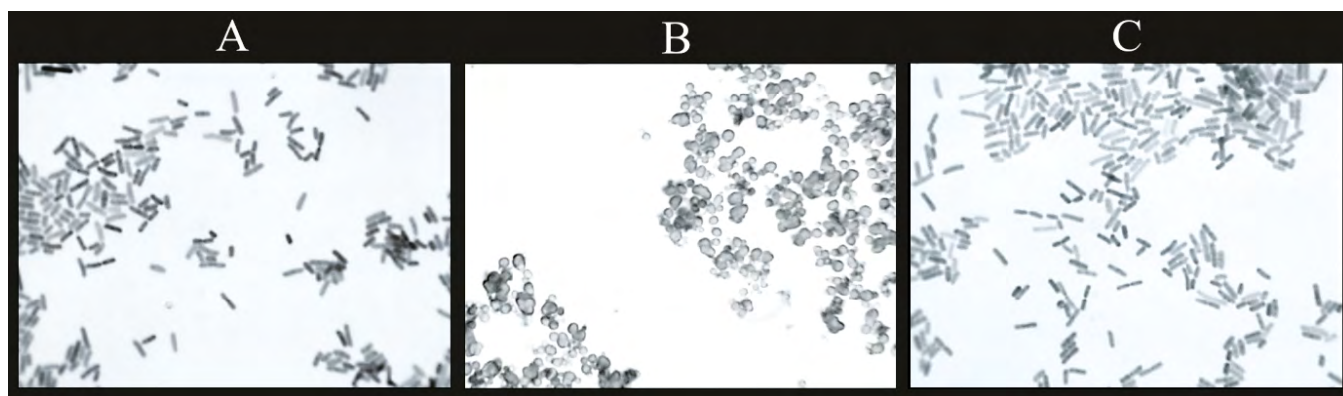


Fig. 3. Morphological changes in uropathogenic *E. coli* (UPEC) after exposure to clove extract. A: control (normal rods). B: with extract (L-form spherical cells). C: 1st generation after extract withdrawal (normal rods). Magnification $\times 1,000$

Synergy test

Besides the keen interest in developing plant-based antibacterial compounds, using medicinal plants as resistance modifying agents is another promising approach that emerges noticeably, as synergism between plant extracts and conventional antibiotics can enhance the antibiotherapy and, to some extent, restore the sensitivity or prevent the emergence of resistance. Moreover, this approach would bring back to use old and cheap antibiotics that are relatively no longer effective [16, 41]. Indeed, synergism between clove and antibiotics is already reported in literature. For instance, water and ethanolic clove extracts exhibited a synergistic effect with different antibiotics against *S. aureus* and *K. pneumoniae* [42]. Eugenol, which is the major constituent of clove essential oil, has been shown to work synergistically with antibiotics such as

vancomycin, ampicillin, and gentamicin [4]. Here we evaluated the synergistic effect between clove extract and two antibiotics from different classes of antimicrobial agents; nitrofurantoin and ciprofloxacin, which are commonly used to treat UTIs [43, 44]. Results are presented in Table 3. MICs of antibiotics alone were of 8, 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for nitrofurantoin and 0.5, 1024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for ciprofloxacin. Loewe additivity-based model revealed that the combination of the antibiotics and clove extract resulted in no interaction against all tested strains, with FICI of 0.63, 0.75 for clove and nitrofurantoin and 0.63, 0.75, 1 for clove and ciprofloxacin. Regardless of FICI interpretation, it was observed that all the MICs of antimicrobial agents in combinations decreased in different degrees i.e., MICs decreased by 2, 4, 8 folds for clove and ciprofloxacin and by 2 folds for nitrofurantoin. Thus, to some extent we can conclude that clove can

potentiate the efficacy of these antibiotics if used in combination. While analyzing the available literature on synergy effects between antimicrobials, we found an inconsistency in term of interpretation criteria of FICI values and the agreement in the interpretation of the FICI and other evaluation models. For example, some studies considered a FICI of 0,5–1 as additive effect [19, 45, 46] while others considered it as indifference [47,

48]. Moreover, high variability was observed between the interpretation of FICI and the response surface approach (Bliss model) [22]. In general, our results are an impetus to study the synergistic effect of clove with antibiotics against UPEC and more investigations with different models should be performed to assess the agreement in the interpretation of the FICI.

Table 3

MICs of clove extract (mg/mL) and antibiotics (µg/mL), alone (A) and in combination (B), and FICI values. (SD ± 0.0 for the three trials)

Strains	NIT+ Clove					CIP + Clove				
	NIT		Clove		FICI	CIP		Clove		FICI
	A	B	A	B		A	B	A	B	
UPEC 1	8	4	25	6.25	0.75	0.5	0.125	25	12.5	0.75
UPEC 2	8	4	25	6.25	0.75	1024	128	25	12.5	0.63
UPEC 3	64	32	25	3.125	0.63	1024	512	25	12.5	1

Note: MIC – minimum inhibitory concentration, FICI – fractional inhibitory concentration index, NIT – nitrofurantoin, CIP – ciprofloxacin, UPEC – uropathogenic *E. coli*

Conclusions

UTIs pose a significant health concern globally, with antibiotics resistance becoming a growing problem. As traditional antibiotics face increasing challenges in effectively treating UTIs, the exploration of alternative treatments has become crucial. Medicinal plants hold great promise as potential alternatives, with their diverse bioactive compounds and historical use in traditional medicine. Harnessing the therapeutic potential of medicinal plants may provide new avenues for combating UTIs while reducing the risk of antibiotic resistance. The results of this study highlight the promising applications of clove extract in combating MDR-UPEC. The significant antibacterial effects observed, as evidenced by concentration-dependent inhibition zone diameter and minimum inhibitory and bactericidal concentrations, indicate the effectiveness of clove extract in inhibiting the growth of these bacteria. Moreover, the combination of clove extract with commonly used antibiotics demonstrated a potential synergistic effect, as evidenced by a decrease in their minimum inhibitory concentrations. Additionally, the incubation with clove extract resulted in the transformation of uropathogenic strains into un-

stable spherical L-forms. Further research is needed to investigate the mechanism behind this transformation and evaluate the implications for potential therapeutic uses.

In conclusion, this *in vitro* study serves as a foundation for more comprehensive research aimed at identifying the active antibacterial compounds present in clove and exploring its potential synergistic effects with other antibiotics, which in turn will offer valuable insights into the potential utilization of clove as a potent antibacterial agent in clinical practice.

Библиографический список/References

1. Cortés-Rojas DF, de Souza CRF, Oliveira WP. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(2):90–96. doi:10.1016/S2221-1691(14)60215-X.
2. Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: An application of the Phenol-Explorer database. *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(3):112–120. doi:10.1038/ejcn.2010.221.
3. El-Saber Batiha G, Alkazmi LM, Wasef LG, Beshbishy AM, Nadwa EH, Rashwan EK. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*. 2020;10(2):202. doi:10.3390/biom10020202.

4. Kamatou GP, Vermaak I, Viljoen AM. Eugenol — From the remote Maluku Islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*. 2012;17(6):6953–6981. doi:10.3390/molecules17066953.
5. Vicidomini C, Roviello V, Roviello GN. Molecular Basis of the Therapeutic Potential of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) and Clues to Its Anti-COVID-19 Utility. *Molecules*. 2021;26(7):1880. doi:10.3390/molecules26071880.
6. Han X, Parker TL. Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1619–1622. doi:10.1080/13880209.2017.1314513.
7. Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties — An overview. *Forsch Komplementarmed*. 2009;16(2):79–90. doi:10.1159/000207196.
8. Fu YJ, Zu YG, Chen LY, Shi XG, Wang Z, Sun S, Effert T. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy Research*. 2007;21(10):989–994. doi:10.1002/ptr.2179.
9. Santoro GF, Cardoso MG, Guimarães LGL, Mendonça LZ, Soares MJ. Trypanosoma cruzi: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp Parasitol*. 2007;116(3):283–290. doi:10.1016/j.exppara.2007.01.018.
10. Machado M, Dinis AM, Salgueiro L, Custódio JBA, Cavaleiro C, Sousa MC. Anti-Giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. *Exp Parasitol*. 2011;127(4):732–739. doi:10.1016/j.exppara.2011.01.011.
11. El-kady AM, Ahmad AA, Hassan TM, El-Deek HEM, Fouad SS, Althagfan SS. Eugenol, a potential schistosomicidal agent with anti-inflammatory and antifibrotic effects against *Schistosoma mansoni*, induced liver pathology. *Infect Drug Resist*. 2019;12:709–719. doi:10.2147/IDR.S196544.
12. Kumar K, Yadav A, Srivastava S, Paswan S. Recent Trends in Indian Traditional Herbs *Syzygium Aromaticum* and its Health Benefits. *J Pharmacogn Phytochem*. 2012;1:13–22.
13. Fazly Bazzaz BS, Darvishi Fork S, Ahmadi R, Khameneh B. Deep insights into urinary tract infections and effective natural remedies. *African Journal of Urology*. 2021;27(1):6. doi:10.1186/s12301-020-00111-z.
14. Abushaheen MA, Muzaheed, Fatani AJ, Alosaimi M, Mansy W, George M, Acharya S, Rathod S, Divakar DD, Jhugroo C, Vellappally S, Khan AA, Shaik J, Jhugroo P. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*. 2020;66(6):100971. doi:10.1016/j.disamonth.2020.100971.
15. Rai MK, Deshmukh SD, Ingle AP, Gade AK. Silver nanoparticles: The powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J Appl Microbiol*. 2012;112(5):841–852. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x.
16. Anand U, Jacobo-Herrera N, Altemimi A, Lakhssassi N. A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: Potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*. 2019;9(11):258. doi:10.3390/metabo9110258.
17. Najumudin K, Ayubu J, M. Elnazeer A. Antigiardial Activity of Some Plant Extracts Used in Traditional Medicine in Sudan in Comparison with Metronidazole. *Microbiology: Current Research*. 2018;02(04):75–82. doi:10.35841/2591-8036.18-1025.
18. Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 2016;6(2):71–79. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005.
19. Arsène MMJ, Podoprigrora I V., Davares AKL, Razan M, Das MS, Senyagin AN. Antibacterial activity of grapefruit peel extracts and green-synthesized silver nanoparticles. *Vet World*. 2021;14(5):1330–1341. doi:10.14202/vetworld.2021.1330-1341.
20. Mouafo HT, Tchuenchieu ADK, Nguedjo MW, Edoun FLE, Tchunte BRT, Medoua GN. In vitro antimicrobial activity of *Milletia laurentii* De Wild and *Lophira alata* Banks ex C.F. Gaertn on selected foodborne pathogens associated to gastroenteritis. *Heliyon*. 2021;7(4):e06830. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e06830
21. Bellio P, Fagnani L, Nazzicone L, Celenza G. New and simplified method for drug combination studies by checkerboard assay. *Methods X*. 2021;8:101543. doi:10.1016/J.MEX.2021.101543.
22. Celenza G, Segatore B, Setacci D, Bellio P, Brisdelli F, Piovano M, Garbarino JA, Nicoletti M, Perilli M, Amicosante G. In vitro antimicrobial activity of pannarin alone and in combination with antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Phytomedicine*. 2012;19(7):596–602. doi:10.1016/J.PHYMED.2012.02.010.
23. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, Xuan J, Charles F, Chen M, Hatab SR. Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Front Microbiol*. 2018;9:1639. doi:10.3389/fmicb.2018.01639.
24. Oulkheir S, Aghrouch M, El Mourabit F, Dalha F, Graich H, Amouch F, Ouzaid K, Moukale A, Chadli S, Chadli Antibacterial S. Antibacterial Activity of Essential Oils Extracts from Cinnamon, Thyme, Clove and Geranium Against a Gram Negative and Gram Positive Pathogenic Bacteria. *Journal of Diseases and Medicinal Plants Special Issue: New Vistas of Research in Ayurveda System of Medicine*. 2017;3(1):1–5. doi:10.11648/j.jdmp.s.2017030201.11.
25. Revati S, Bipin C, Chitra PB, Minakshi B. In vitro antibacterial activity of seven Indian spices against high level gentamicin resistant strains of enterococci. *Archives of Medical Science*. 2015;11(4):863–868. doi:10.5114/aoms.2015.53307
26. Rosarior VL, Lim PS, Wong WK, Yue CS, Yam HC, Tan SA. Antioxidant-rich Clove Extract, A Strong Antimicrobial Agent against Urinary Tract Infections-causing Bacteria in vitro. *Trop Life Sci Res*. 2021;32(2):45–63. doi:10.21315/tlsr2021.32.2.4.
27. SM M, RO D, OL F. Phenolic Compounds in Antimicrobial Therapy. *J Med Food*. 2017;20(10):1031–1038. doi:10.1089/JMF.2017.0017.
28. Mak KK, Kamal M, Ayuba S, Sakirolla R, Kang YB, Mohandas K, Balijepalli M, Ahmad S, Pichika M. A comprehensive review on eugenol's antimicrobial properties and industry applications: A transformation from ethnomedicine to industry. *Pharmacogn Rev*. 2019;13(25):1. doi:10.4103/phrev.phrev_46_18.
29. Bouarab-Chibane L, Forquet V, Lantéri P, Clément Y, Léonard-Akkari L, Oulahal N, Degraeve P, Bordes C. Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models. *Front Microbiol*. 2019;10(APR):829. doi:10.3389/FMICB.2019.00829
30. Kothari V, Gupta A, Naranawal M. Comparative study of various methods for extraction of antioxidant and antibacterial compounds from plant seeds. *Journal of Natural Remedies*. 2012;12/2:162–173. doi:10.18311/jnr/2012/271.
31. Pham H, Nguyen V, Vuong Q, Bowyer M, Scarlett C. Effect of Extraction Solvents and Drying Methods on the Physicochemical and Antioxidant Properties of *Helicteres hirsuta* Lour. Leaves. *Technologies (Basel)*. 2015;3(4):285–301. doi:10.3390/technologies3040285.
32. Szakiel A, Ruskowski D, Grudniak A, Kurek A, Wolska KI, Doligalska M, Janiszowska W. Antibacterial and antiparasitic activity of oleanolic acid and its glycosides isolated from marigold

(*Calendula officinalis*). *Planta Med*. 2008;74(14):1709–1715. doi:10.1055/s-0028-1088315.

33. Kurek A, Grudniak AM, Szwed M, Klicka A, Samluk L, Wolska KI, Janiszowska W, Popowska M. Oleanolic acid and ursolic acid affect peptidoglycan metabolism in *Listeria monocytogenes*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. 2010;97(1):61–68. doi:10.1007/s10482-009-9388-6.

34. Dorota W, Marta K, Dorota TG. Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells. *Folia Microbiol (Praha)*. 2013;58(3):245–252. doi:10.1007/s12223-012-0205-7.

35. Dörr T, Moynihan PJ, Mayer C. Bacterial Cell Wall Structure and Dynamics. *Front Microbiol*. 2019;10:2051. doi:10.3389/fmicb.2019.02051.

36. Sykes JE. Cell wall-deficient bacterial infections. In: *Canine and Feline Infectious Diseases*. W.B. Saunders; 2013:380–381. doi:10.1016/B978-1-4377-0795-3.00039-9.

37. Fabijan A, Kamruzzaman M, Martinez-Martin D, Venturini C, Mickiewicz K, Flores-Rodriguez N, Errington J, Iredell JR. L-form switching confers antibiotic, phage and stress tolerance in pathogenic *Escherichia coli*. *bioRxiv*. 2021;(10):2021.06.21.449206. doi:10.1101/2021.06.21.449206.

38. Kawai Y, Mickiewicz K, Errington J. Lysozyme Counteracts β -Lactam Antibiotics by Promoting the Emergence of L-Form Bacteria. *Cell*. 2018;172(5):1038–1049.e10. doi:10.1016/J.CELL.2018.01.021.

39. Glover WA, Yang Y, Zhang Y. Insights into the Molecular Basis of L-Form Formation and Survival in *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2009;4(10):7316. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0007316.

40. Chikada T, Kanai T, Hayashi M, Kasai T, Oshima T, Shiomi D. Direct Observation of Conversion From Walled Cells to Wall-Deficient L-Form and Vice Versa in *Escherichia coli* Indicates the Essentiality of the Outer Membrane for Proliferation of L-Form Cells. *Front Microbiol*. 2021;12:537. doi:10.3389/FMICB.2021.645965/BIBTEX.

41. Sibanda T, Okoh A. The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *Afr J Biotechnol*. 2010;6(25):2886–2896. doi:10.4314/ajb.v6i25.58241.

42. Atteia HG, Hussein E. In vitro antibacterial and synergistic effects of some plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobials*. 2014;129:338–346.

43. Chu CM, Lowder JL. Diagnosis and treatment of urinary tract infections across age groups. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;219(1):40–51. doi:10.1016/J.AJOG.2017.12.231.

44. Uppala A, King EA, Patel D. Cefazolin versus fluoroquinolones for the treatment of community-acquired urinary tract infections in hospitalized patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2019;38(8):1533–1538. doi:10.1007/S10096-019-03582-3.

45. Faleiro ML, Miguel MG. Use of Essential Oils and Their Components against Multidrug-Resistant Bacteria. *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and their Components*. 2013:65–94. doi:10.1016/B978-0-12-398539-2.00006-9.

46. Scorzoni L, Sangalli-Leite F, de Lacorte Singulani J, de Paula e Silva ACA, Costa-Orlandi CB, Fusco-Almeida AM, Mendes-Giannini MJS. Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. *J Microbiol Methods*. 2016;123:68–78. doi:10.1016/J.MIMET.2016.02.005.


47. Segatore B, Bellio P, Setacci D, Brisdelli F, Piovano M, Garbarino JA, Nicoletti M, Amicosante G, Perilli M, Celenza G. In vitro interaction of usnic acid in combination with antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates determined by FICI and ΔE model methods. *Phytomedicine*. 2012;19(3–4):341–347. doi:10.1016/J.PHYMED.2011.10.012.

48. Xu X, Xu L, Yuan G, Wang Y, Qu Y, Zhou M. Synergistic combination of two antimicrobial agents closing each other's mutant selection windows to prevent antimicrobial resistance. *Sci Rep*. 2018;8(1):7237. doi:10.1038/s41598-018-25714-z.

Антибактериальная активность экстракта гвоздики *Syzygium aromaticum* L. и синергизм его действия с антибиотиками по отношению к уропатогенным кишечным палочкам с множественной лекарственной устойчивостью

Р. Маруф  , А.В. Ермолаев , И.В. Подопригора , А.Н. Сенягин , М.Д.А. Мбарга 

Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

 razanma3rouf@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Инфекции мочевыводящих путей представляют растущую угрозу человечеству из-за роста устойчивости уропатогенов к антибиотикам. Изучение природных источников для альтернативных методов лечения стало важным подходом. *Цель* исследования заключалась в изучении антибактериального действия гвоздики (*Syzygium aromaticum* L.) по отношению к уропатогенным *E. coli*. *Материалы и методы.* Исследование проведено на трех клинических изолятах уропатогенных *E. coli* с множественной лекарственной устойчивостью и *E. coli* ATCC 25922. Водно-спиртовой экстракт гвоздики получен методом холодной мацерации. Для оценки антибактериального действия экстракта применяли диффузионный метод в агаровых лунках. Минимальную ингибирующую и минимальную бакте-

рицидную концентрации экстракта определяли методом микроразбавления бульона. С помощью световой микроскопии исследовали морфологические изменения уропатогенных *E. coli* после воздействия экстракта гвоздики. Для оценки синергизма между экстрактом гвоздики и антибиотиками использовали метод шахматной доски. Все полученные данные были статистически обработаны. **Результаты и обсуждение.** При использовании диффузионного метода в агаровых лунках действие экстракта на бактерии зависело от его концентрации при диаметре зоны задержки роста 7–10/10–15 мм для уропатогенных штаммов и *E. coli* ATCC 25922, соответственно. Минимальную ингибирующую и минимальную бактерицидную концентрации экстракта гвоздики по отношению к уропатогенным штаммам составляла 25 мг/мл. Экстракт показал более низкую минимальную ингибирующую концентрацию на *E. coli* ATCC 25922 (6.25 мг/мл) при минимальной бактерицидной концентрации, составляющей 25 мг/мл. Соотношение минимальной ингибирующей и минимальной бактерицидной концентраций показало, что экстракт гвоздики обладает бактерицидным действием. Тест на синергизм показал, что комбинация экстракта гвоздики и нитрофурантоина или ципрофлоксацина не приводила к взаимодействию. Однако минимальные ингибирующие концентрации всех протестированных агентов в комбинациях снижались в разной степени. Инкубирование уропатогенных штаммов с экстрактом трансформировало их в нестабильную сферическую L-форму в процентном соотношении 96–99 %. **Выводы.** Это исследование подчеркивает гвоздику как потенциальное природное антибактериальное средство по отношению к уропатогенным *E. coli* с множественной лекарственной устойчивостью, что требует дальнейшего изучения ее антибактериальных свойств.

Ключевые слова: гвоздика, *Syzygium aromaticum*, инфекции мочевыводящих путей, уропатогенные кишечные палочки, фитохимические вещества, антибактериальное средство, устойчивость к антибиотикам

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов: Маруф Р. и Ермолаев А.В. разработали концепцию и дизайн исследования. Маруф Р.С., Сенягин А.Н. и М.Д.А. Мбарга провели лабораторные эксперименты. Маруф Р. и Подопригора И.В. написали, отредактировали и переработали рукопись. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследования и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 31.05.2023. Принята 06.07.2023.

Для цитирования: Marouf R., Ermolaev A.A., Podoprigora I.V., Senyagin A.N., Mbarga M.J.A. Antibacterial activity of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) and synergism with antibiotics against multidrug-resistant uropathogenic *E. coli* // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. № 3. С. 379–390. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-379-390


Corresponding author: Razan Marouf — assistant in the Department of microbiology named after V.S. Kiktenko, Institute of Medicine, RUDN University, 117198, Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russian Federation. E-mail: razanma3rouf@gmail.com
Marouf R. ORCID 0000–0001–9581–5381
Ermolaev A.V. ORCID 0000–0001–6472–3644
Podoprigora I.V. ORCID 0000–0003–4099–2967
Senyagin A.N. ORCID 0000–0002–4981–0149
Mbarga M.J.A. ORCID 0000–0001–9626–9247

Ответственный за переписку: Разан Маруф — ассистент кафедры микробиологии им. В.С. Киктенко медицинский институт РУДН, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. E-mail: E-mail: razanma3rouf@gmail.com

Маруф Р. SPIN 5385–0884; ORCID 0000–0001–9581–5381
Ермолаев А.В. SPIN 9681–6395; ORCID 0000–0001–6472–3644
Подопригора И.В. SPIN 7255–4454; ORCID 0000–0003–4099–2967
Сенягин А.Н. SPIN 2658–3063; ORCID 0000–0002–4981–0149
Мбарга М.Д.А. ORCID 0000–0001–9626–9247

DOI: 10.22363/2313-0245-2023-27-3-391-402
EDN: PYFVNBОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Long exposure impact of antibiotics subinhibitory doses and silver nanoparticles on uropathogenic bacteria

Manga J.A. Mbarga  , Razan Marouf , Irina V. Podoprigora ,
Kitio L.D. Anyutoulou , Yuri V. Chapurin , Irina N. Sharova RUDN University, Moscow, Russian Federation
 josepharsenembarga@yahoo.fr

Abstract. Relevance. Although the primary purpose of using antibiotics is to treat infectious diseases, their misuse gradually leads to loss of their effectiveness. *The aim* of the current investigation was to explore the changes that occur in uropathogenic bacteria after long exposure to antimicrobials. *Materials and Methods.* We compared the effects of long-term exposure to ampicillin, cefazoline, kanamycin and silver nanoparticles (AgNPs) on susceptibility, biofilm formation and planktonic bacteria in 4 clinical uropathogenic strains namely *Escherichia coli* (UPEC), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) and *Streptococcus agalactiae* (*St. agalactiae*). The minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined using the microplate microdilution method and bacteria were exposed to increasing concentrations of each antimicrobial (from MIC/2 to MIC) prepared in the brain heart infusion broth for 8 days. The susceptibility of bacteria to antibiotics was assessed using the Kirby Bauer disc diffusion method and the biofilm formation was assessed using crystal violet bacterial attachment assay. *Results and Discussion.* The data in this investigation highlight that long-term exposure to antimicrobials may induce changes in susceptibility to other antibiotics and biofilm formation in Uropathogenic strains. Indeed, exposure to ampicillin made *E. faecalis* resistant to ceftazidime and *St. agalactiae* resistant to tetracycline, ceftazidime/clavulanate and ceftazidime. Following exposure to cefazolin, a significant decrease in susceptibility was observed in *E. coli* to ceftazidime/clavulanate and ceftazidime while *S. aureus* became resistant to ceftazidime/clavulanate, ceftazidime and to ceftriaxone. Similar variations were observed on *St. agalactiae* and *E. faecalis*, which in addition to the 3 antibiotics above-mentioned, have become resistant to tetracycline. The most significant variations in susceptibility to antibiotics were observed following exposure to kanamycin: *E. coli* developed resistance to ceftazidime and a decrease in sensitivity was noted on ceftazidime/clavulanate while *S. aureus*, *E. faecalis* and *St. agalactiae* all 3 became resistant to ceftazidime/clavulanate and ceftazidime. In addition, except for *E. coli* all the bacteria in this investigation which had undergone successive passages in AgNPs developed resistance to ceftazidime/clavulanate and ceftazidime. Bacteria exposed to ampicillin and cefazolin produced more biofilms than their respective controls. *Conclusion.* Long term exposure of uropathogens to antibiotics and AgNPs induces significant changes in susceptibility to other antibiotics and biofilm formation and antibiotics should therefore only be used when necessary.

Key words: long exposure, antibiotics, silver nanoparticles, biofilm, adaptation

Mbarga M.J.A., Marouf R., Podoprigora I.V., Anyutoulou K.L.D., Chapurin Y.V., Sharova I.N., 2023

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

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contributions. Mbarga M.J.A — concept and design of research, literature review, data processing collection and processing of materials; Podoprighora I.V. — design of research, writing text; Anyutoulou K.L.D and Marouf R. — concept of research, data processing collection and processing of materials; Chapurin Y.V. and Sharova I.N. — statistical data processing, writing text. All authors have made significant contributions to the development concepts, research, and manuscript writing, read and approved final version before publication.

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

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — this study has been supported by the RUDN University strategic Academic Leadership Program.

Consent for publication — not applicable.

Received 17.11.2022. Accepted 15.02.2023.

For citation: Mbarga MJA, Marouf R, Podoprighora IV, Anyutoulou KLD, Chapurin YV, Sharova IN. Long exposure impact of antibiotics subinhibitory doses and silver nanoparticles on uropathogenic bacteria. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(3):391—402. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-391-402

Introduction

The use of antibiotics is essential in the treatment of infectious diseases of bacterial origin [1,2] including urinary tract infections (UTIs). UTIs are caused by so-called uropathogenic microorganisms, most often commensal bacteria or fungi, which under certain conditions can become pathogenic [3]. 80 to 90 % of UTIs are caused by so-called Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) while other species such as *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus* and *Enterococcus* are less rarely involved [3, 4].

UTIs are usually treated by antibiotics such as trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX), nitrofurantoin or Fosfomycin for acute uncomplicated urinary tract infections [5]. Since resistance to TMP-SMX and ciprofloxacin preclude their use as empiric treatment for UTIs in patients who were previously exposed to them or who are at risk to be infected with extended-spectrum β -lactamases (ES-BLs)-producing bacteria [6], other antibiotics are sometimes used in second line and generally include oral cephalosporins (fluoroquinolones, cefixime) and β -lactams (amoxicillin-clavulanate) [6]. Notwithstanding this multitude of choices in terms of antibiotics, due to attitudes of self-medication,

taking antibiotics without prior antibiogram and all negligent behavior related to the misuse of antibiotics, the resistance of bacteria to antibiotics has grown meteorically worldwide [7, 8]. Although this problem is progressively leading to the general mobilization for the research of new antimicrobial compounds and alternative ways of fighting bacterial infections, the mechanisms of this resistance are better and better elucidated but the direct implication of the consumption of antibiotic has not yet been totally established.

While previous investigations have focused on the consequences of long-term exposure to commonly used biocides such as polyhexamethylene biguanide (PHMB), triclosan, benzalkonium chloride (BAC) on the antimicrobial susceptibility of many clinical isolates including uropathogens [9–11], there are currently not enough investigations into the multiple phenotypic consequences that can occur due to long-term exposure to antibiotics and silver nanoparticles. Therefore, the present study aimed to assess the effects of long-term exposure to ampicillin, kanamycin, cefazoline and AgNPs in four Uropathogenic clinical isolates namely *E. coli* (UPEC), *S. aureus*, *E. faecalis* and *St. agalactiae*. The variations induced on the susceptibility to other antibiotics was evaluated as well as the biofilm formation and planktonic bacteria.

Materials and methods

Bacterial strains and culture conditions

This investigation included 4 previously isolated Uropathogenic strains namely *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis* and *St. agalactiae*, all provided by the laboratory of microbiology and virology of the RUDN University. Bacteria were cultured on BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (HIMEDIA®, Ref 173–500G) and Muller Hinton Agar (MHA) (HIMEDIA®, Ref 173–500G) and incubated aerobically at 37 °C for 18–24h.

Stocks solution of antibiotics and AgNPs

Stock solutions of each antimicrobial were prepared at a concentration of 1024 µg/ml and dilutions were made as needed. Ampicillin, cefazolin, and kanamycin were prepared in physiological water (NaCl 0,9 %) and 2 nm silver nanoparticles (Nanoserebro Argitos, OONPP Sintek Nano, Russia) were prepared in distilled water. All the solutions were sterilized by microfiltration (0.45 µm) prior to use.

Susceptibility of bacteria to antibiotics

The modified Kirby-Bauer's disc method described in our previous study [12] was used to assess the susceptibility to antibiotics of uropathogenic strains used. Briefly, after bringing the bacteria to room temperature, they were cultured at 37 °C for 24 hours in sterile BHIB. 1.5 ml of each overnight culture was centrifuged (Eppendorf Centrifuge 5415 R) for 10 minutes at 3000 RCF and the centrifugate was collected, washed 3 times with Phosphate buffer saline (PBS) and resuspended in 5ml of physiological water to obtain a concentration equivalent to 0.5 McFarland. 100µL of the culture was plated on Muller Hinton Agar (MHA) (HIMEDIA®, Ref 173–500G) and the antibiotic discs were placed aseptically using a dispenser. After 18–24 hours of incubation, the inhibition diameters were measured and interpreted referred to the Clinical & Laboratory Standards Institute [13]. The petri dishes were again incubated for 48 hours at 37 °C and the bacteria of the second growth in the inhibition zones were isolated and subjected to a second antibiogram as described above. The 8 antibiotics used were: tetracyclin (TE), 30 µg/disc, cefazolin/ clavulanic acid (CAC), 30/10 per disc;

ceftazidime (CAZ), 30 µg/disc; ceftriaxone (CTR), 30 µg/disc; ciprofloxacin (CIP), 30 µg/disc; imipenem (IMP), 10 µg/disc; nitrofurantoin (NIT), 200 µg/disc and trimethoprim (TR), 30 µg/disc.

Determination of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC)

MICs of antibiotics and AgNPs on the 4 bacteria tested were determined by microbroth dilution method as previously described [14]. Briefly, all the stock solutions above-mentioned were submitted to serial twofold dilutions in BHI broth sterile U-bottom 96-well microplates. 100 µL of broth were added in all the wells of the plates and 100µL silver nanoparticles or antibiotics (1024mg/mL) were added in the first line. 100 µL of sterile distilled water was added in column 11 and 12. Then serial dilutions were performed by passing 100 µL of wells of the line A to the wells of line B and so forth. In each test hole 10 µL of the respective inoculum was added (with turbidity equivalent to a 0.5 McFarland scale). In the column 11, 10 µL of saline solution was added (0.9 %) and served as positive control while column 12, where 10µL of inoculum was added served as the negative control. Finally, plates were covered and incubated at 37 °C for 24 h. After incubation, MIC was considered as the lowest concentration that inhibited the visible growth of bacteria. Further, MBCs were determined by subculturing the wells without visible growth (with concentrations \geq MIC) on MHA plates. Inoculated agar plates were incubated at 37 °C for 24 h. MBC was considered as the lowest concentration that did not give any bacterial growth on agar.

Long-term exposure of bacteria to antibiotics and silver nanoparticles

Bacteria were exposed to increasing concentrations of ampicillin, cefazolin, kanamycin and AgNPs using U-bottom 96-well microplates. 8 concentrations of each antimicrobial were prepared in sterile BHIB then the mixture was sterilized by microfiltration prior to use. The concentrations varied from MIC/2 to MIC with an increment of MIC/16. For each antimicrobial, 200 µL of the preparation of MIC/2

concentration was introduced into line 1 of the microplate, then MIC/2 + 2MIC/16 in line 2, MIC/2 + 3MIC/16 in line 3 ... and MIC in line 8. 15 µL of overnight culture of each bacterium prepared at a concentration equivalent to 0.5 of McFarland was inoculated in the first line and after 24H of incubation at 37 °C, the wells of line 1 were homogenized and 15 µL was transferred to line 2 of the corresponding columns and the same operation was repeated for the following lines until the 8th day. Bacteria passaged 8 times on antimicrobial-free medium were also included and were considered as the controls. During incubation, the microplates were placed in a container containing distilled water to limit water loss by evaporation. After successive passages, the bacteria were kept at –80 °C in cryovials (Cryoinstant; Deltalab, Spain) for subsequent testing. The antibiotic sensitivity of the bacteria obtained was evaluated exactly as described above.

Evaluation of biofilm formation by crystal violet bacterial attachment assay

The biofilm formation of original strains and exposed strains was assessed in sterile 96-well microtiter plate [15]. 200 µL of sterile BHIB was introduced in each well and was inoculated by the corresponding overnight culture (18 to 24 h at 37 °C and 100 rpm) centrifugated and resuspended in physiological water to obtain a turbidity equivalent to 0.5 of McFarland as described above. Sterile controls were also included. The plates were incubated statically for 48 h at 37 °C. 100 µL of the medium was transferred in the corresponding well in another microtiter plate for planktonic measurement. The remaining medium was removed from the wells and replaced with 200 µL of 1 % (w/v) crystal violet solution during 90 s. The wells were rinsed three times with distilled water prior to drying at 37 °C. The biofilm-bound crystal violet was solubilized in 200 µL of 100 % ethanol and the A450 was determined and compared with the negative controls. Each test was repeated 4 times and each repeat was read 3 times.

Planktonic measurement

Free bacteria were assessed simultaneously with the biofilm assay. The 100 µL of medium transferred to another microtiter plate during the biofilm formation

test were diluted with 100 µL of physiological water. Free bacteria were evaluated by determining A450 and compared with the negative controls [16].

Statistical analysis

All experiments were carried out at least in triplicate. The statistical significance was set at $p \leq 0,05$. T-test, principal component analysis (PCA) and Ascending Hierarchical Classification (AHC) were carried out using the statistical software XLSTAT 2020 (Addinsoft Inc., New York, USA). All the other graphs were plotted by Excel software or SigmaPlot 12.5 (Systat Software, San Jose, CA, USA)

Results and discussion

Bacteria resulting from the second growth in the inhibition zone after antibiogram are more resistant to certain antibiotics than the parent strains.

The antibiogram is a test to assess the susceptibility of bacteria to antibiotics and should always be done before any prescription for antibiotics [17]. It often happens that some bacteria, although sensitive to antibiotics, present a second growth zone, which could be explained on the one hand by the loss of the bacteriostatic effect of the antimicrobial considered and on the other hand, by the acquisition of resistance of the bacteria tested after long exposure to the antibiotic. During this investigation, we carried out an antibiogram of 4 uropathogenic strains and after 24 hours of incubation, the diameters of inhibition were measured then the petri dishes were again incubated for 48 hours and the colonies which grew inside the inhibition zones were recovered. These colonies were grown and a second antibiogram was performed. The results presented on Table 1 show the antibiotic sensitivity of the uropathogens used and their analogues and the variations rates of inhibition diameters relative to the parent strains. No colony was observed in the inhibition zone of *St agalactiae* whereas this was the case with *S. aureus*, *E. coli* and *E. faecalis*. Except for EC-CTR (*E. coli* isolated from the inhibition zone of Ceftriaxone), the greatest variations were observed in bacteria isolated from inhibition zone of ceftriaxone, ceftazidime and ceftazidime/clavulanate. The SA-CTR 1 strain became resistant to ceftriaxone, ceftazidime/clavulanate and even more resistant to ceftazidime (Table 1).

Similar variations were observed in SA-CAZ and EF-TR, but EF-TR did not become resistant to ceftriaxone. Numerous recent investigations have highlighted that changes in sensitivity such as those observed in this study were mainly due to the very strong adaptability of bacteria in stressful environments [18–23]. Alarming, the results of

this study and those of similar other recent investigations show that changes can be induced in bacteria over a very short period of exposure to antibiotics and highlight the importance of taking antibiotics only when necessary, under prescription and after an antibiogram.

Table 1

Sensitivity to antibiotics of uropathogens and their analogues isolated from the second growth in the inhibition zone

Strain	Parameter	TE	CAZ	CTR	CAC	TR	CIP	NIT	IMP	
<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	-	12 ^R	12 ^R	25 ^S	16 ^I	6 ^R	26 ^S	21 ^S	29 ^S
	SA-CAC 1	CAC	12 ^R	13 ^R	21 ^S	12 ^R	6 ^R	22 ^S	18 ^S	23 ^S
	SA-CAC 2	CAC	12 ^R	14 ^R	20 ^I	12 ^R	6 ^R	23 ^S	19 ^S	24 ^S
	SA-CTR 1	CTR	13 ^R	6 ^R	6 ^R	6 ^R	6 ^R	23 ^S	18 ^S	22 ^S
	SA-CTR 2	CTR	12 ^R	12 ^R	23 ^S	12 ^R	6 ^R	23 ^S	24 ^S	24 ^S
	SA-CAZ	CAZ	13 ^R	6 ^R	6 ^R	6 ^R	6 ^R	26 ^S	21 ^S	26 ^S
	SA-TE	TE	12 ^R	13 ^R	20 ^I	13 ^R	6 ^R	23 ^S	20 ^S	24 ^S
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	-	8 ^R	23 ^S	25 ^S	22 ^S	6 ^R	24 ^S	22 ^S	27 ^S
	EC-TR	TR	6 ^R	21 ^S	26 ^S	23 ^S	6 ^R	26 ^S	21 ^S	23 ^S
<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	-	15 ^I	17 ^I	22 ^S	17 ^I	29 ^S	32 ^S	23 ^S	31 ^S
	EF-CTR 1	CTR	12 ^R	13 ^R	19 ^I	17 ^I	6 ^R	21 ^S	19 ^S	23 ^S
	EF-CTR 2	CTR	13 ^R	6 ^R	6 ^R	6 ^R	33 ^S	27 ^S	22 ^S	28 ^S
	EF-TR	TR	12 ^R	8 ^R	22 ^S	8 ^R	6 ^R	29 ^S	20 ^S	29 ^S
	EF-CAC 1	CAC	11 ^R	11 ^R	20 ^I	12 ^R	30 ^S	26 ^S	19 ^S	26 ^S
	EF-CAC 2	CAC	12 ^R	6 ^R	18 ^I	6 ^R	29 ^S	26 ^S	21 ^S	26 ^S
	EF-CAZ	CAZ	13 ^R	13 ^R	21 ^S	12 ^R	26 ^S	25 ^S	21 ^S	26 ^S

Note: The results show the mean of 3 trials rounded to the unit. The standard deviation varied between 0.0 and 1.7. R = Resistant, I = Intermediate, S = sensible, TE = tetracycline, CAZ = ceftazidime, CTR = ceftriaxone, CAC = ceftazidime/clavulanate TR = trimethoprim, CIP = ciprofloxacin, NIT = nitrofurantoin and IMP = imipenem.

Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC)

The sensitivity of the tested strains to the antimicrobials they were subsequently exposed to was investigated to determine the exact proportions to which these bacteria could be subjected without however killing them. Thus, MICs and MBCs of ampicillin, kanamycin, cefazolin, and silver nanoparticles (AgNPs) were determined (Table 2). The results presented in this table suggest that cefazolin, considering the relatively low MIC and MBC (compared to other antimicrobials) for all the uropathogens used, can be an interesting remedy in the fight against antibiotic resistance. Indeed, broad-spectrum antimicrobials that have not lost their effectiveness despite the increase in the growth of antibiotic resistance can be used as the

last line to limit the damage this phenomenon has on the health of patients and particularly on the prolongation of hospitalizations, an increased medical expenses and mortality. Moreover, specifically for AgNPs, the low MIC (8µg/mL) and MBC (16µg/mL in *E. coli*) suggests that infections caused by this pathogen can easily be treated by AgNPs. These results are in accordance with those observed in previously reported studies [24, 25] but further investigation is needed to confirm such a hypothesis.

Each of the antimicrobials whose MIC and MBC are presented in Table 2 was prepared specifically for each strain at 8 different concentrations varying from MIC/2 to MIC with an increment of MIC/16 for recurrent exposure of Uropathogenic bacteria for 8 days.

Table 2

**Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC)
of uropathogens to antibiotics and silver nanoparticles to which they have been further exposed**

Strain	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				MBC ($\mu\text{g/mL}$)			
	Ampicillin	Kanamycin	Cefazolin	AgNPs	Ampicillin	Kanamycin	Cefazolin	AgNPs
<i>E. coli</i>	1024	32	32	8	ND	128	64	16
<i>S. aureus</i>	64	8	32	256	128	16	128	512
<i>E. faecalis</i>	32	128	64	256	64	128	64	256
<i>St. agalactiae</i>	32	16	16	256	128	64	32	256

Bacteria long-exposed to antimicrobials do not present the same susceptibility to antibiotics as parent strains.

The use of antibiotics is almost unavoidable in medicine and in other sectors such as agriculture and animal husbandry. However, in recent years concerns have been raised that exposure to antimicrobials (here mainly antibiotics and nanoparticles) can induce cross resistance to other antibiotics [9,10]. In the present study, the changes in the susceptibility to antibiotics were assessed by inhibition diameters as well as the variation rate referring to the original strains and the results were classified as resistant (R), Intermediate (I) or sensitive (S) as defined by the Clinical & Laboratory Standards Institute [13]. As shown in Table 3, antibiotic sensitivity was determined for 4 Uropathogenic strains before and after exposure to ampicillin, kanamycin, cefazolin and silver nanoparticles (AgNPs). For all strains, long exposure to at least one antimicrobial induced acquisition of resistance with a high variation rate in inhibition diameter. Exposure to ampicillin made *E. faecalis* resistant to ceftazidime and *St agalactiae* resistant to tetracycline, ceftazidime/clavulanate and ceftazidime. In addition, following exposure to cefazolin, a significant decrease in susceptibility of *E. coli* to ceftazidime/clavulanate and ceftazidime was observed while *S. aureus* became resistant to ceftazidime/clavulanate, ceftazidime and to ceftriaxone. Similar variations were observed on *St agalactiae* and *E. faecalis*, which in addition to the 3 antibiotics above-mentioned, have become resistant to tetracycline. Moreover, the most significant variations in susceptibility to antibiotics were observed following exposure to kanamycin: On the one hand, *E. coli* developed resistance to ceftazidime and a decrease in sensitivity was noted on ceftazidime/clavulanate and on the other hand *S. aureus*, *E. faecalis* and *St agalactiae* all 3 became resistant to ceftazidime/clavulanate and ceftazidime. Finally, except

for *E. coli* all the bacteria in this investigation which had undergone successive passages in AgNPs developed resistance to ceftazidime/clavulanate and ceftazidime as observed with exposure to other antimicrobials. Surprisingly, the *E. coli* strain that was initially resistant to tetracycline has become sensitive. However, and more globally, the data in this research highlight that long-term exposure to antibiotics and silver nanoparticles may influence susceptibility to other antibiotics in Uropathogenic bacteria. These results are similar to those observed in other studies which consisted in prolonged passage of uropathogens in biocidal agents [9, 26, 27]. It is well known that the sensitivity of bacteria to antibiotics depends mainly on the mode of action of the antimicrobial, the conditions of use and the characteristics of the bacteria tested [28]. However, exposure to low doses of antibiotics can induce significant changes in bacteria which may be phenotypic and/or genotypic. Phenotypically, the potential causes of the changes in susceptibility observed in this study may be structural variations in the bacterial cell [9] which modify bacteria-antimicrobial interactions, inducing changes in membrane permeability and changes in the activity of efflux pumps that allow bacteria to expel antimicrobials out of the cell [29, 30]. Nevertheless, Henly et al. [9] suggested that the exact mechanisms governing a specific adaptation depend largely on the antimicrobial and the bacterium itself. In our study, the reversibility of the acquisition of resistance and the observed variations in susceptibility to antibiotics was not evaluated, but many previous studies on the issue provide contradictories findings. Indeed, while some authors have indicated that the observed changes result from a reversible phenotypic adaptation induced by the expression of variations in gene expression in responses to stress [11], others have noted that these changes after long exposure to antimicrobials are the result of the selection of antimicrobial-resistant mutants with a stable

phenotypic that cannot experience any reversibility [9, 31]. Notwithstanding this divergence of views, it is important to highlight that numerous investigations carried out in both humans and animals show an increase in resistance to antibiotics worldwide [12, 29, 32–34].

Therefore, in addition to further investigations to shed light on the exact mechanism of these changes, further efforts must be made to research new antimicrobials and reposition of existing drug to explore their potential antimicrobial properties.

Table 3

Antibiotic susceptibility of uropathogens before and after successive passages in antibiotics and AgNPs

Strain	Substance	Inhibition zone in mm (variation rate in %) ^{Sensitivity (R, I, S)}							
		CAC	CIP	TE	CTR	IPM	CAZ	NIT	TR
<i>E. coli</i>	Exposure								
	Initial	22 ^S	24 ^S	8 ^R	25 ^S	27	23 ^S	22 ^S	6 ^R
	Unexposed	22 (0) ^S	21 (-13) ^S	10 (25) ^R	22 (-12) ^S	27 (0) ^S	25 (9) ^S	21 (-5) ^S	6 (0) ^R
	Ampicillin	19 (-14) ^S	23 (-4) ^S	8 (0) ^R	25 (0) ^S	26 (-4) ^S	18 (-22) ^S	20 (-9) ^S	6 (0) ^R
	Cefazolin	16 (-27) ^I	21 (-13) ^S	9 (13) ^R	25 (0) ^S	24 (-11) ^S	16 (-30) ^I	20 (-9) ^S	6 (0) ^R
	Kanamycin	17 (-23) ^I	25 (4) ^S	9 (13) ^R	26 (4) ^S	26 (-4) ^S	12 (-48) ^R	21 (-5) ^S	6 (0) ^R
	AgNPs	20 (-9) ^S	23 (-4) ^S	24 (200) ^S	27 (8) ^S	25 (-7) ^S	19 (-17) ^S	19 (-14) ^S	6 (0) ^R
<i>S. aureus</i>	Initial	16 ^I	26 ^S	12 ^R	25 ^S	29 ^S	12 ^R	21 ^S	6 ^R
	Unexposed	17 (6) ^I	23 (-12) ^S	14 (17) ^R	21 (-16) ^S	26 (-10) ^S	14 (17) ^R	20 (-5) ^S	6 (0) ^R
	Ampicillin	16 (0) ^I	29 (12) ^S	18 (50) ^I	24 (-4) ^S	28 (-3) ^S	13 (8) ^R	23 (10) ^S	6 (0) ^R
	Cefazolin	6 (-63) ^R	25 (-4) ^S	15 (25) ^I	6 (-76) ^R	29 (0) ^S	6 (-50) ^R	22 (5) ^S	6 (0) ^R
	Kanamycin	11 (-31) ^R	16 (-38) ^I	11 (-8) ^S	19 (-24) ^I	24 (-17) ^S	12 (0) ^R	20 (-5) ^S	6 (0) ^R
	AgNPs	12 (-25) ^R	26 (0) ^S	23 (92) ^S	22 (-12) ^S	27 (-7) ^S	11 (-8) ^R	15 (-29) ^I	6 (0) ^R
	Initial	17 ^I	32 ^S	15 ^I	22 ^S	31 ^S	17 ^I	23 ^S	29 ^S
<i>E. faecalis</i>	Unexposed	13 (-24) ^R	27 (-16) ^S	15 (0) ^I	22 (0) ^S	29 (-6) ^S	15 (-12) ^I	21 (-9) ^S	26 (-10) ^S
	Ampicillin	12 (-29) ^R	27 (-16) ^S	15 (0) ^I	24 (9) ^S	28 (-10) ^S	13 (-24) ^R	21 (-9) ^S	27 (-7) ^S
	Cefazolin	6 (-65) ^R	26 (-19) ^S	16 (7) ^I	15 (-32) ^I	26 (-16) ^S	6 (-65) ^R	19 (-17) ^S	24 (-17) ^S
	Kanamycin	6 (-65) ^R	26 (-19) ^S	14 (-7) ^R	14 (-36) ^I	26 (-16) ^S	6 (-65) ^R	22 (-4) ^S	28 (-3) ^S
	AgNPs	12 (-29) ^R	25 (-22) ^S	16 (7) ^I	22 (0) ^S	25 (-19) ^S	12 (-29) ^R	16 (-30) ^I	21 (-28) ^S
	Initial	20 ^S	29 ^S	21 ^S	28 ^S	27 ^S	20 ^S	21 ^S	26 ^S
<i>St. agalactiae</i>	Unexposed	23 (15) ^S	28 (-3) ^S	17 (-19) ^I	22 (-21) ^S	27 (0) ^S	12 (-40) ^R	16 (-24) ^I	27 (4) ^S
	Ampicillin	11 (-45) ^R	25 (-14) ^S	14 (-33) ^R	20 (-29) ^I	26 (-4) ^S	10 (-50) ^R	20 (-5) ^S	28 (8) ^S
	Cefazolin	10 (-50) ^R	22 (-24) ^S	14 (-33) ^R	20 (-29) ^I	24 (-11) ^S	10 (-50) ^R	17 (-19) ^I	27 (4) ^S
	Kanamycin	10 (-50) ^R	27 (-7) ^S	24 (14) ^S	24 (-14) ^S	26 (-4) ^S	10 (-50) ^R	17 (-19) ^I	26 (0) ^S
	AgNPs	12 (-40) ^R	27 (-7) ^S	28 (33) ^S	24 (-14) ^S	30 (11) ^S	13 (-35) ^R	19 (-10) ^S	30 (15) ^S
	Initial	20 ^S	29 ^S	21 ^S	28 ^S	27 ^S	20 ^S	21 ^S	26 ^S

Note: The results show the mean of 3 trials rounded to the unit. The standard deviation varied between 0,3 and 2,1. In bracket () the variation rate calculated by referring to the initial strain. The global variation in each bacterium was significant for $P \leq 0,05$. R = Resistant, I = Intermediate, S = sensible, TE = tetracycline, CAZ = ceftazidime, CTR = ceftriaxone, CAC = ceftazidime/clavulanate, TR = trimethoprim, CIP = ciprofloxacin, NIT = nitrofurantoin and IMP = imipenem.

Some bacteria exposed to antibiotics and AgNPs produce more biofilm and planktonic bacteria than control strains.

Biofilms are multicellular communities of microorganisms held together by a self-produced extracellular matrix and are known as a virulence factor and for their involvement in certain pathologies such as catheter infection, cochlear implant infection, wound infection, cochlear implant infection, central nervous system shunt infection, chronic otitis media and pulmonary infection in cystic fibrosis patient [35]. (Gebreyohannes et al., 2019). It is well known that Bacteria that have adapted to the presence

of antimicrobials or biocides agents may exhibit several phenotypic alterations such as changes in growth rate and biofilm formation [9]. In the present study, biofilm formation was assessed by crystal violet bacterial attachment assay. Figures 1 and 2 respectively show the measurements of the formation of biofilms and planktonic bacteria in the 4 bacteria used in this investigation as well as their analogs having undergone passages in ampicillin, kanamycin, cefazolin and silver nanoparticles (AgNPs). Compared to the controls, the *E. coli* and *St agalactiae* strains exposed to ampicillin and cefazolin produced more biofilms while the *E. coli* passed in kanamycin and AgNPs produced

less biofilms. In *S. aureus*, except for the strain passed in ampicillin which produced more biofilms, no significant variation was noted in the formation of biofilms of other exposed strains and in their planktonic bacteria. In addition, the *E. faecalis* strains exposed to AgNPs, Kanamycin and ampicillin produced more biofilms and exhibited a greater quantity of planktonic bacteria. Moreover *E. coli* passed in kanamycin and *E. faecalis* and *St. agalactiae* passed in cefazolin showed relatively low amounts of planktonic bacteria compared to their respective controls. Referring to the results on the susceptibility of strains to antibiotics, contrary to the findings of some authors [1, 9, 36, 37], in this study the increase in biofilm production does not correlate with antibiotic resistance in *E. coli* and other uropathogens. However, it is important to emphasize that exposure to ampicillin induces a considerable increase in biofilm production in all strains tested and this antibiotic should be carefully monitored for its use to treat associated biofilm diseases.

Several bacteria are found in a cluster different from that of the parent strain after an ascending hierarchical

classification taking into account all the parameters studied in this investigation.

Fig. 3 shows the ascending hierarchical classification (AHC) of all strains having undergone exposure to antibiotics or nanoparticles. This HCA was obtained following a principal component analysis including all the parameters evaluated in this study, namely the inhibition diameter and their variation compared to the parent strain, the biofilms formation, and planktonic bacteria as well as their respective variations. As shown in Figure 3, two large clusters were formed. The first cluster (in blue) does not divide into several sub-clusters and groups together bacteria that do not show very significant variations. Thus, in the *E. coli* strain, except those having been exposed to AgNPs, significant variations were not identified. For most of the other bacteria, some were found in the sub-clusters of bacteria from a completely different species and far from their control strains, proof of the significant variations induced by this long exposure to the antimicrobials used.

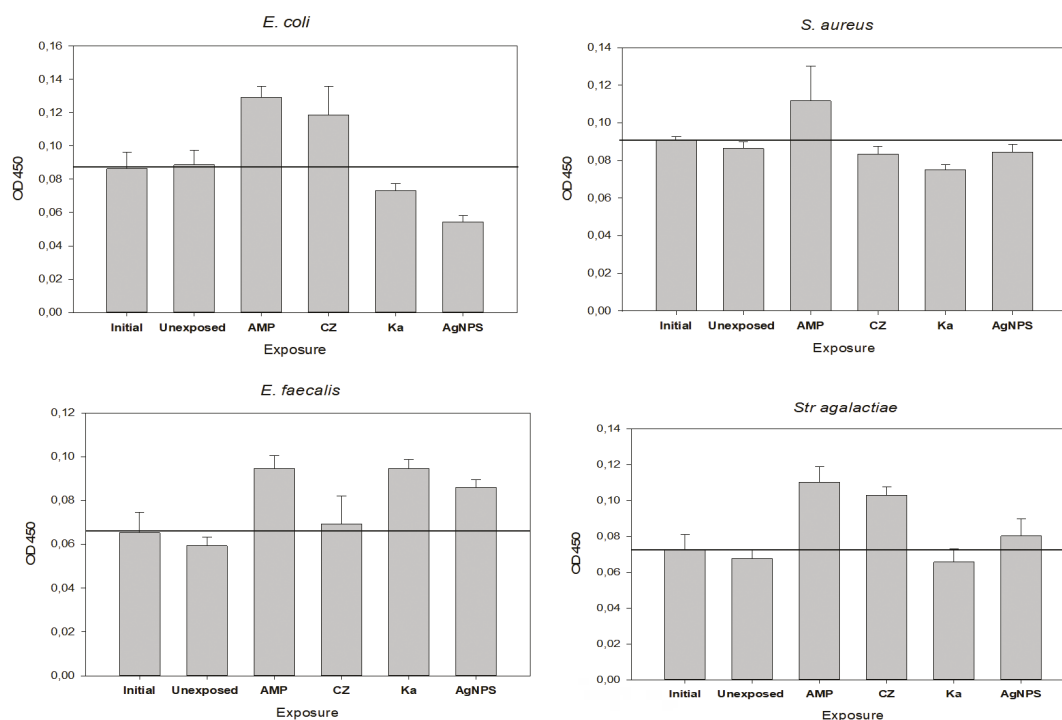


Fig. 1. Biofilm formation in Uropathogenic bacteria exposed or not to antibiotics and silver nanoparticles. The data show the mean absorbance (A₄₅₀) of 12 trials, representative of biofilm formation evaluated by Crystal violet assay for each bacterium after exposure or not to ampicillin (AMP), Cefazolin (CZ), Kanamycin (Ka) and Silver nanoparticles (AgNPs)

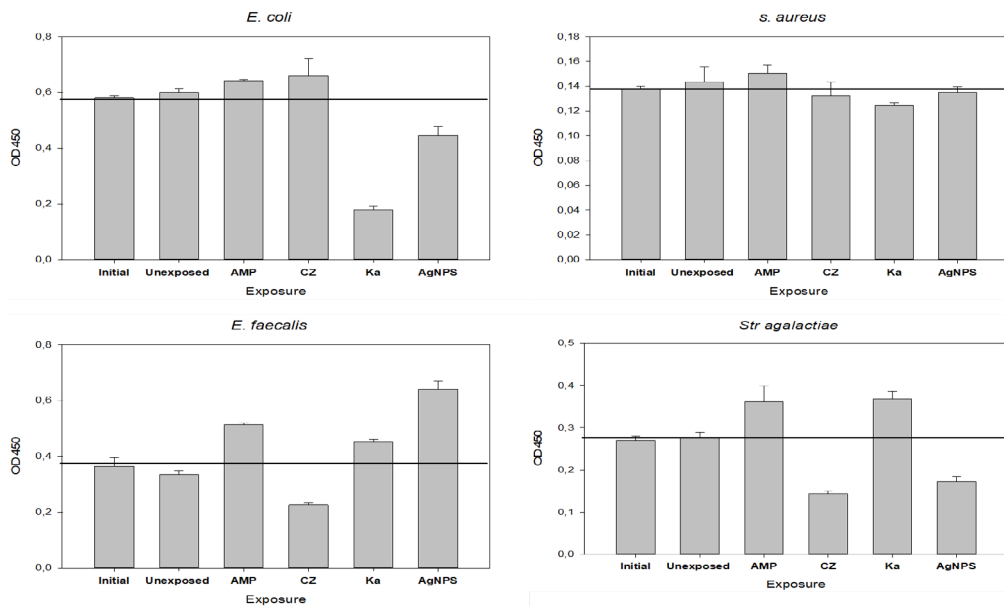


Fig. 2. Planktonic bacteria in Uropathogenic strains before and after successive exposure to antibiotics and silver nanoparticles. The data show the mean absorbance (A₄₅₀) of 12 trials, representative of planktonic bacteria evaluated simultaneously with biofilm assay for each bacterium after exposure or not to ampicillin (AMP), Cefazolin (CZ), Kanamycin (Ka) and Silver nanoparticles (AgNPs)

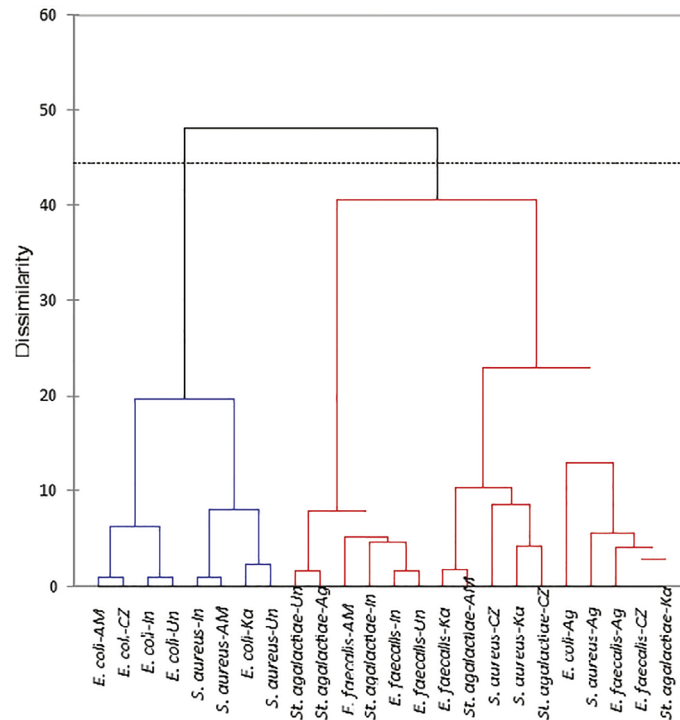


Fig. 3. Dissimilarity of uropathogens long exposed or not to antibiotics and nanoparticles. The dendrogram was obtained after a principal component analysis including the Spearman correlation test and considering the susceptibility to antibiotics, the biofilm formation, the planktonic bacteria and the variations of the 3 above-mentioned parameters compared to the initial strains

Conclusion







The growth of antibiotic resistance is a real danger worldwide. It mainly occurs due to the overuse and misuse of antibiotics. In this study we were able to highlight the possibility of the acquisition of antibiotic resistance in clinical isolates of uropathogens following prolonged exposure to other antibiotics and silver nanoparticles. In addition to the permanent monitoring of the growth of antimicrobial resistance in each zone in order to follow its evolution, permanent efforts must be made to search for new antimicrobials, to reposition the already existing molecules to exploit their antimicrobial properties and to study and better understand specific resistance mechanisms. Finally, to prevent this phenomenon from worsening, it is necessary that any antibiotic prescription be preceded by an antibiogram and that the antibiotics be used only when necessary.

Библиографический список/ References

1. Penesyan A, Paulsen IT, Gillings MR, Kjelleberg S, Manefield MJ. Secondary Effects of Antibiotics on Microbial Biofilms. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:2109. doi: 10.3389/fmicb.2020.02109.
2. Joseph AMM, Jorelle AB, Sarra S, Podoprigrora IV, Davares AK, Ingrid NK, Carime BZ. Short review on the potential alternatives to antibiotics in the era of antibiotic resistance. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2021;12(1):029–040. doi: 10.7324/JAPS.2021.120102.
3. Mbarga MJA, Podoprigrora IV, Davares AKL, Esther N, Senyagin AN. Urinary tract infections: Virulence factors, resistance to antibiotics, and management of uropathogenic bacteria with medicinal plants — A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2021;11(7):001–012. doi: 10.7324/JAPS.2021.110701.
4. Abraham SN, Miao Y. The nature of immune responses to urinary tract infections. *Nature Reviews Immunology*. 2015; 15(10): 655. DOI: 10.1038/nri3887.
5. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, Soper DE. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical infectious diseases*. 2011;52(5): e103–e120. doi: 10.1093/cid/ciq257.
6. Bader MS, Loeb M, Leto D, Brooks AA. Treatment of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance and new antimicrobial agents. *Postgraduate Medicine*. 2020;132(3):234–250. doi: 10.1080/00325481.2019.1680052.
7. Karam MRA, Habibi M, Bouzari S. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against Uropathogenic Escherichia coli. *Molecular immunology*. 2019;108:56–67. doi: 10.1016/j.molimm.2019.02.007.
8. Lee DS, Lee SJ, Choe HS. Community-acquired urinary tract infection by Escherichia coli in the era of antibiotic resistance. *BioMed research international*. 2018;7656752. doi: 10.1155/2018/7656752.
9. Henly EL, Dowling JAR, Maingay JB, Lacey MM, Smith TJ, Forbes S. Biocide exposure induces changes in susceptibility, pathogenicity, and biofilm formation in uropathogenic Escherichia coli. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2019;63(3): e01892–18. doi: 10.1128/AAC.01892-18.
10. Blanco P, Hjort K, Martínez JL, Andersson DI. Antimicrobial Peptide Exposure Selects for Resistant and Fit Stenotrophomonas maltophilia Mutants That Show Cross-Resistance to Antibiotics. *MSphere*. 2020;5(5): e00717–20. doi: 10.1128/mSphere.00717-20.
11. Allen MJ, White GF, Morby AP. The response of Escherichia coli to exposure to the biocide polyhexamethylene biguanide. *Microbiology*. 2006;152((Pt 4):989–1000. doi: 10.1099/mic.0.28643-0.
12. Mbarga MJA, Smolyakova LA, Podoprigrora IV, Evaluation of Apparent Microflora and Study of Antibiotic Resistance of Coliforms Isolated from the Shells of Poultry Eggs in Moscow-Russia. *Journal of Advances in Microbiology*. 2020;20(4):70–77. doi: 10.9734/jamb/2020/v20i430242.
13. NCCLS: Clinical & Laboratory Standards Institute. Control methods. Biological and micro-biological factors: Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Federal Center for Sanitary and Epidemiological Surveillance of Ministry of Health of Russia. 2019.
14. Veiga A, Maria da Graça TT, Rossa LS, Mengarda M., Stofella NC, Oliveira LJ, ... Murakami FS. Colorimetric microdilution assay: validation of a standard method for determination of MIC, IC50 %, and IC90 % of antimicrobial compounds. *Journal of microbiological methods*. 2019;162: 50–61. doi: 10.1016/j.mimet.2019.05.003.
15. Manga MJA, Podoprigrora IV, Volina EG, Ermolaev AV, Smolyakova LA. Evaluation of changes induced in the probiotic Escherichia coli M17 following recurrent exposure to antimicrobials. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2021;33(29B):158–167. doi: 10.9734/jpri/2021/v33i29B3160.
16. Arsene MM, Podoprigrora IV, Grigorievna VE, Davares AK, Sergeevna DM, Nikolaevna SI. Prolonged exposure to antimicrobials induces changes in susceptibility to antibiotics, biofilm formation and pathogenicity in staphylococcus aureus. *J. Pharm. Res. Int*. 2022;33(34B):140–151. doi: 10.9734/JPRI/2021/v33i34B31856.
17. Joshi S. Hospital antibiogram: a necessity. *Indian journal of medical microbiology*. 2010;28(4):277. doi: 10.4103/0255-0857.71802.
18. Arsene, M. M., Viktorovna, P. I., Alla, M.V., Mariya, M.A., Sergei, G.V., Cesar, E., ... & Olga, P.V. Optimization of Ethanolic Extraction of Enantia chloranta Bark, Phytochemical Composition, Green Synthesis of Silver Nanoparticles, and Antimicrobial Activity. *Fermentation*. 2022; 8(10): 530. doi: 10.3390/fermentation8100530.
19. Arsene, M. M., Viktorovna, P. I., Sergei, G.V., Hajjar, F., Vyacheslavovna, Y. N., Vladimirovna, Z.A., ... & Sachivkina, N. Phytochemical Analysis, Antibacterial and Antibiofilm Activities of Aloe vera Aqueous Extract against Selected Resistant Gram-Negative Bacteria Involved in Urinary Tract Infections. *Fermentation*. 2022;8(11): 626. doi: 10.3390/fermentation8110626.
20. Windels EM, Van den Bergh B, Michiels J. Bacteria under antibiotic attack: Different strategies for evolutionary adaptation. *PLoS pathogens*. 2020;16(5): e1008431. doi: 10.1371/journal.ppat.1008431.
21. Leonard A, Möhli K, Schlüter R, Taylor E, Lalk M, Methling K. Exploring metabolic adaptation of Streptococcus pneumoniae to antibiotics. *The Journal of antibiotics*. 2020;73(7):441–454. doi: 10.1038/s41429-020-0296-3.
22. Akhova AV, Tkachenko AG. Multifaceted role of polyamines in bacterial adaptation to antibiotic-mediated oxidative stress. *The Microbiological Society of Korea*. 2020;56(2):103–110. doi: 10.7845/kjm.2020.0013.

23. Paun VI, Lavin P, Chifiriuc MC, Purcarea C. First report on antibiotic resistance and antimicrobial activity of bacterial isolates from 13,000-year old cave ice core. *Scientific reports*. 2021;11(1):1–15. doi: 10.1038/s41598-020-79754-5.
24. Devanesan S, Ponmurugan K, AlSalhi MS, Al-Dhabi NA. Cytotoxic and antimicrobial efficacy of silver nanoparticles synthesized using a traditional phytoproduct, asafoetida gum. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:4351. doi: 10.2147/IJN.S258319.
25. Loo YY, Rukayadi Y, Nor-Khaizura MAR, Kuan CH, Chieng BW, Nishibuchi M, Radu S. In vitro antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles against selected gram-negative foodborne pathogens. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:1555. doi: 10.3389/fmicb.2018.01555.
26. Adamus-Białek W, Wawszczak M, Arabski M, Majchrzak M, Gulba M, Jarych D, Głuszek S. Ciprofloxacin, amoxicillin, and aminoglycosides stimulate genetic and phenotypic changes in uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Virulence*. 2019;10(1):260–276. doi: 10.1080/21505594.2019.1596507.
27. Garcia Rivera MA. *Antibiotic uptake in Pseudomonas aeruginosa and its consequences on the metabolome* (Doctoral dissertation, Hannover: Institutionelles Repositorium der Leibniz Universität Hannover); 2021. doi: 10.15488/10509.
28. Naveed M, Chaudhry Z, Bukhari SA, Meer B, Ashraf H. Antibiotics resistance mechanism. In: *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment*. Elsevier. 2020. p.292–312. doi: 10.1016/j.crmicr.2021.100027.
29. Papkou A, Hedge J, Kapel N, Young B, MacLean RC. Efflux pump activity potentiates the evolution of antibiotic resistance across *S. aureus* isolates. *Nature communications*. 2020;11(1):1–15. doi: 10.1038/s41467-020-17735-y.
30. Green AT, Moniruzzaman M, Cooper CJ, Walker JK, Smith JC, Parks JM, Zgurskaya HI. Discovery of multidrug efflux pump inhibitors with a novel chemical scaffold. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2020;1864(6):129546. doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129546.
31. Pokludová L, Prátová H. Wider Context of Antimicrobial Resistance, Including Molecular Biology Perspective and Implications for Clinical Practice. In: Pokludová L., editor. *Antimicrobials in Livestock 1: Regulation, Science, Practice*. Cham: Springer; 2020. p. 233–279. doi: 10.1007/978-3-030-46721-0_9.
32. WHO. New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis. <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>. 2019. Accessed 2021 January 28.
33. Banin E, Hughes D, Kuipers OP. Bacterial pathogens, antibiotics and antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*. 2017;41(3):450–452. doi: 10.1093/femsre/fux016.
34. Saracino IM., Fiorini G, Zullo A, Pavoni M, Saccomanno L, Vaira D. Trends in primary antibiotic resistance in *H. pylori* strains isolated in Italy between 2009 and 2019. *Antibiotics*. 2020;9(1):26. doi: 10.3390/antibiotics9010026.
35. Gebreyohannes G, Nyerere A, Bii C, Sbhatu DB. Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms. *Heliyon*. 2019;5(8): e02192. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02192.
36. Behzadi P, Urbán E, Gajdác M. Association between biofilm-production and antibiotic resistance in uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC): an in vitro study. *Diseases*. 2020;8(2):17. doi: 10.3390/diseases8020017.
37. Katongole P, Nalubega F, Florence NC, Asiimwe B, Andia I. Biofilm formation, antimicrobial susceptibility and virulence genes of Uropathogenic *Escherichia coli* isolated from clinical isolates in Uganda. *BMC Infectious Diseases*. 2020;20(1):1–6. doi: 10.1186/s13756-016-0109-4.

Влияние длительного воздействия субингибирующих доз антибиотиков и наночастиц серебра на уропатогенные бактерии

М.Д.А. Мбарга ✉, Р. Маруф , И.В. Подопригора , К.Л.Д. Аньютулу ,
Ю.В. Чапурин , И.Н. Шарова 

¹Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация
✉ josepharsenembarga@yahoo.fr

Аннотация. *Актуальность.* В последние годы все более нерациональное использование антибиотиков привело к потере их эффективности. *Цель исследования.* Настоящее исследование было направлено на изучение изменений, происходящих у уропатогенных бактерий после длительного воздействия противомикробных препаратов. *Материалы и методы.* Мы оценили влияние длительного воздействия ампициллина, цефазолина, канамицина и наночастиц серебра (AgNP) на чувствительность к другим антибиотикам, образование биопленок и планктонные бактерии у 4 клинических уропатогенных штаммов, а именно *Escherichia coli* (UPEC), *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* и *Streptococcus agalactiae*. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) определяли с использованием метода микроразведений на микропланшетах, и бактерии подвергали воздействию увеличивающихся концентраций каждого противомикробного препарата (от МИК/2 до МИК) в течение 8 дней. Чувствительность бактерий к антибиотикам оценивали с использованием метода дисковой диффузии Кирби-Бауэра, а образование биопленки оценивали с помощью

анализа прикрепления бактерий кристаллическим фиолетовым. *Результаты и обсуждение.* В результате воздействия ампициллина сделало *E. faecalis* устойчивым к цефтазидиму, а *St agalactiae* — к тетрациклину, цефтазидиму/клавуланату и цефтазидиму. После воздействия цефазолином наблюдалось значительное снижение чувствительности *E. coli* к цефтазидиму/клавуланату и цефтазидиму, в то время как *S. aureus* приобретала устойчивость к цефтазидиму/клавуланату, цефтазидиму и цефтриаксону. Аналогичные вариации наблюдались у *St. agalactiae* и *E. faecalis*, которые в дополнение к трем вышеупомянутым антибиотикам стали устойчивыми к тетрациклину. Наиболее значительные изменения в чувствительности к антибиотикам наблюдались после воздействия канамицина: у *E. coli* развилась устойчивость к цефтазидиму и снижение чувствительности было отмечено к цефтазидиму/клавуланату, в то время как *S. aureus*, *E. faecalis* и *St agalactiae* все 3 стали устойчивыми к цефтазидиму/клавуланату и цефтазидим. Кроме того, за исключением *E. coli*, все бактерии в этом исследовании, подвергшиеся последовательным пассажам в AgNP, выработали устойчивость к цефтазидиму/клавуланату и цефтазидиму. Бактерии, подвергшиеся воздействию ампициллина и цефазолина, продуцировали больше биопленок, чем их соответствующие контроли. *Выводы.* Длительное воздействие антибиотиков и AgNP на уропатогены вызывает значительные изменения в чувствительности к другим антибиотикам и образование биопленок.

Ключевые слова: длительное воздействие, антибиотики, наночастицы серебра, биопленка, адаптация

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов: Мбарга М.Д.А. — концепция и дизайн исследования, обзор литературы, обработка данных, сбор и обработка материалов; Подопригора И.В. — оформление исследования, написание текста; Аньютулу К.Л.Д. и Маруф Р. — концепция исследования, обработка данных, сбор и обработка материалов; Чапурин Ю.В. и Шарова И.Н. — статистическая обработка данных, написание текста. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследования и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

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

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства РУДН.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 17.11.2022. Принята 15.02.2023.

Для цитирования: Mbarga M.J.A., Marouf R., Podoprigora I.V., Anyutoulou K.L.D., Chapurin Y.V., Sharova I.N. Long exposure impact of antibiotics subinhibitory doses and silver nanoparticles on uropathogenic bacteria // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Т. 27. No 3. С. 391—402. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-2-391-402

Corresponding author: Mbarga Manga Joseph Arsene — PhD student, lecturer-assistant in the Department of microbiology named after V.S. Kiktenko, Institute of Medicine, RUDN University, 117198, Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russian Federation. E-mail: josepharsenembarga@yahoo.fr
Mbarga M.J.A. ORCID 0000-0001-9626-9247
Marouf R. ORCID 0000-0001-9581-5381
Podoprigora I.V. ORCID 0000-0003-4099-2967
Anyutoulou K.L.D. ORCID 0000-0001-6219-0004
Chapurin Y.V. ORCID 0000-0002-3871-9200
Sharova I.N. ORCID 0000-0002-0932-5376

Ответственный за переписку: Мбарга Манга Джозеф Арсен — аспирант и ассистент кафедры микробиологии им. В.С. Киктенко медицинский институт РУДН, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.
E-mail: josepharsenembarga@yahoo.fr
Мбарга М.Д.А. ORCID 0000-0001-9626-9247
Маруф Р. SPIN 5385-0884, ORCID 0000-0001-9581-5381
Подопригора И.В. SPIN 7255-4454, ORCID 0000-0003-4099-2967
Аньютулу К.Л.Д. ORCID 0000-0001-6219-0004
Чапурин Ю.В. ORCID 0000-0002-3871-9200
Шарова И.Н. ORCID 0000-0002-0932-5376