

ISSN 1810-5033

# НОВОСТИ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

# NEWS OF BIOMEDICAL SCIENCES

Научно-практический и научно-теоретический журнал

*Издается с января 2001 года*  
*Published since January, 2001*

*Выходит четыре раза в год*  
*Published quartely*



**2024, Т. 24, № 4**

**МИНСК**

**РЕДАКЦИЯ**

*Главный редактор*

**Тапальский Дмитрий Викторович**, д.м.н., профессор,  
директор Института физиологии НАН Беларуси

*Заместитель главного редактора*

**Чумак Анатолий Георгиевич**, д.б.н., профессор,  
Белорусский государственный университет

*Ответственный секретарь*

**Филипович Татьяна Александровна**, к.б.н., Институт  
физиологии НАН Беларуси

*Секретарь*

**Ерофеева Анна-Мария Вадимовна**, Институт  
физиологии НАН Беларуси

**EDITORIAL**

*Editor-in-Chief*

**Tapalsky Dmitry Viktorovich**, MD, Professor, Director of  
the Institute of Physiology of the National Academy of  
Sciences of Belarus

*Associate Editor-in-Chief*

**Chumak Anatoly Georgievich**, Dr.Sci.Biol., Professor,  
Belarusian State University

*Responsible Secretary*

**Filipovich Tatyana Alexandrovna**, Cand. Sc. (Biology),  
Institute of Physiology of the National Academy of  
Sciences of Belarus

*Secretary*

**Yerofeyeva Anna-Maria Vadimovna**, Institute of  
Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ (EDITORIAL BOARD):**

**В. Г. Богдан**, д.м.н., профессор, Национальная академия наук Беларуси, **Ф. И. Висмонт**, д.м.н., профессор, член корреспондент НАН Беларуси, Белорусский государственный медицинский университет, **С. В. Губкин**, д.м.н., профессор, член корреспондент НАН Беларуси, Институт физиологии НАН Беларуси, **В. В. Зинчук**, д.м.н., профессор, Гродненский государственный медицинский университет, **И. А. Ильясевич**, д.б.н., доцент, Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, **О. Е. Кузнецов**, к.б.н., доцент, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, **П. М. Морозик**, к.б.н., доцент, Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, **В. А. Мельник**, д.б.н., профессор, Гомельский государственный медицинский университет, **В. Н. Никандров**, д.б.н., профессор, Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка, **В. А. Переверзев**, д.м.н., профессор, Белорусский государственный медицинский университет, **Ю. Я. Родионов**, д.м.н., профессор, Витебский государственный медицинский университет, **Е. И. Слобожанина**, д.б.н., профессор, член корреспондент НАН Беларуси, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, **В. В. Солтанов**, д.б.н., профессор, член корреспондент НАН Беларуси, Институт физиологии НАН Беларуси, **Н. Ф. Сорока**, д.м.н., профессор, Белорусский государственный медицинский университет, **Н. А. Трушель**, д.м.н., профессор, Белорусский государственный медицинский университет, **Т. А. Хрусталева**, к.б.н., доцент, Институт физиологии НАН Беларуси, **Д. Г. Щербин**, д.б.н., доцент, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

**Адрес  
редакции:**

*Институт физиологии НАН Беларуси*  
к. 203, ул. Академическая 28,  
220072, Минск, Республика Беларусь  
Тел./Факс: +375 17 379-17-82;  
Электронная почта: journal@fizio.bas-net.by

**Address  
of the Editorial Office:**

*Institute of Physiology, NAS of Belarus*  
room 203, Akademicheskaya str. 28,  
220072, Minsk, Republic of Belarus  
Phone/Fax: +375 17 379-17-82;  
E-mail: journal@fizio.bas-net.by

# СОДЕРЖАНИЕ/CONTENTS

<b>ФИЗИОЛОГИЯ</b>		<b>PHYSIOLOGY</b>
<i>С. О. ГАВРИЛОВА-МАКСИМЧИК</i>	<b>5</b>	<i>S.O. GAVRILOVA-MAKSIMCHIK</i>
<b>РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ВЫСОКОГО УРОВНЯ СПЕЦИАЛЬНОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ У ГРЕБЦОВ-АКАДЕМИСТОВ</b>		<b>THE ROLE OF HORMONAL REGULATION IN THE FORMATION OF A HIGH LEVEL OF SPECIAL PERFORMANCE IN ACADEMIC ROWERS</b>
<i>А. А. МАЛЬЦЕВА, Е. Д. ПОСЛЕДОВИЧ, С. А. РУТКЕВИЧ, А. Г. ЧУМАК</i>	<b>11</b>	<i>A. A. MALTSEVA, E. D. POSLEDOVICH, S. A. RUTKEVICH, A. G. CHUMAK</i>
<b>ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА У МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ С ПРИЗНАКАМИ ПОВЫШЕННОЙ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ И МОТОРНОЙ ВОЗБУДИМОСТИ</b>		<b>FEATURES OF AUTONOMIC REGULATION OF HEART RATE VARIABILITY IN YOUNG PEOPLE WITH SYMPTOMS OF INCREASED EMOTIONAL AND MOTOR EXCITABILITY</b>
<b>МОРФОЛОГИЯ</b>		<b>MORPHOLOGY</b>
<i>А. В. ЗАЕРКО, Е. М. ФЕДИНА, С. М. ЗИМАТКИН</i>	<b>23</b>	<i>A.V. ZAERKO, E.M. PHEDINA, S.M. ZIMATKIN</i>
<b>НАРУШЕНИЯ РАЗВИТИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА У ПОТОМСТВА КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ АЛКОГОЛЬ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ</b>		<b>DISORDERS IN THE ENERGY APPARATUS DEVELOPMENT OF THE BRAIN HISTAMINERGIC NEURONS IN THE OFFSPRING OF RATS THAT CONSUMED ALCOHOL DURING PREGNANCY</b>
<i>А. О. МАРКОВИЧ, Л. В. БАТУРЕВИЧ, Д. М. НИТКИН</i>	<b>29</b>	<i>A. O. MARKOVICH, L. V. BATUREVICH, D. M. NITKIN</i>
<b>ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЧЕЛОВЕКА В МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ, ОКРАШЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ</b>		<b>ASSESSMENT OF HUMAN SPERM MORPHOLOGY IN MICROSCOPIC SAMPLES STAINED BY VARIOUS METHODS</b>
<b>БИОХИМИЯ</b>		<b>BIOCHEMISTRY</b>
<i>В. М. ШЕЙБАК, И. В. НИКОЛАЕВА, В. Ю. СМІРНОВ, О. Б. ОСТРОВСКАЯ, Р. И. КРАВЧУК, С. А. АСТРОВЦОВА</i>	<b>39</b>	<i>V. M. SHEIBAK, I. V. NIKOLAYEVA, V. Y. SMIRNOV, A. B. ASTROWSKAJA, R. I. KRAVCHUK, S. A. ASTRUTSOVA</i>
<b>ВКЛАД ТОНКОГО И ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА В АМИНОКИСЛОТНЫЙ ДИСБАЛАНС ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ</b>		<b>CONTRIBUTION OF THE SMALL AND LARGE INTESTINES TO AMINO ACID IMBALANCE IN LIVER DURING ACUTE ALCOHOL INTOXICATION</b>
<b>МИКРОБИОЛОГИЯ</b>		<b>MICROBIOLOGY</b>
<i>Н. А. МАТЕЛЬСКИЙ</i>	<b>47</b>	<i>N. A. MATSELSKI</i>
<b>ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И ИХ КОМБИНАЦИЯМ ШТАММОВ <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> У ПАЦИЕНТОВ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА С СЕПСИСОМ</b>		<b>SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS AND THEIR COMBINATIONS OF <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> STRAINS IN PATIENTS OF ONCOHEMATOLOGY HOSPITAL WITH SEPSIS</b>
<i>Д. В. ТАПАЛЬСКИЙ, Е. В. КАРПОВА, Н. Э. КОЛЧАНОВА, В. В. БУТКЕВИЧ, Ж. В. ИГНАТОВИЧ, Ю. В. МАТВЕЕНКО, А. А. РОГАЧЕВ</i>	<b>59</b>	<i>D. V. TAPALSKY, E. V. KARPOVA, N. E. KOLCHANOVA, V. V. BUTKEVICH, ZH. V. IGNATOVICH, YU. V. MATVEENKO, A. A. ROGACHEV</i>
<b>ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ОКТЕНИДИНА ДИГИДРОХЛОРИДУ И ДРУГИМ АНТИСЕПТИКАМ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ</b>		<b>SUSCEPTIBILITY OF ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM HOSPITALIZED PATIENTS TO OCTENIDINE DIHYDROCHLORIDE AND OTHER ANTISEPTICS</b>
<b>БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ</b>		<b>BIOMEDICAL TECHNOLOGY</b>
<i>Д. В. ТАПАЛЬСКИЙ, Н. Э. КОЛЧАНОВА</i>	<b>66</b>	<i>D. V. TAPALSKYI, N. E. KOLCHANOVA</i>
<b>АВТОМАТИЧЕСКИЙ ПРОТОЧНЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПОЛОСТИ РТА <i>IN VITRO</i></b>		<b>AUTOMATIC FLOW BIOREACTOR FOR REPRODUCTION OF PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF THE ORAL CAVITY <i>IN VITRO</i></b>

## КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

*И. В. КАНДЫБО, О. И. ШАЛАТОНИНА, Л. А. ПАШКЕВИЧ,  
М. Т. МОХАММАДИ*

**ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ  
СТАТОДИНАМИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПОСЛЕ  
РЕВИЗИОННОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО  
СУСТАВА**

## ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

*П. Г. БЕДИН, О. Е. КУЗНЕЦОВ, О. А. МАРКЕВИЧ,  
А. Н. ЯРОШЕНКО*

**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ХРОНИЧЕСКИМИ  
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ В УСЛОВИЯХ  
ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИМАТИЧЕСКИХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ КЛИМАТА ГРОДНЕНСКОГО  
РЕГИОНА**

*Л. А. БЕЛАЯ, В. А. МЕЛЬНИК, С. Н. МЕЛЬНИК, А. А.  
КОЗЛОВСКИЙ*

**АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
БИОИМПЕДАНСНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И  
СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА**

## ОТ РЕДАКЦИИ

**ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ**

## CLINICAL MEDICINE

**73** *I. V. KANDYBO, O. I. SHALATONINA, L. A. PASHKEVICH,  
M. T. MOHAMMADI*

**STUDY OF FUNCTIONAL RESERVES OF  
STATODYNAMIC FUNCTIONAL AFTER REVISION  
KNEE ARTHROPLASTY**

## REVIEW AND PROBLEM ARTICLES

**80** *P. BEDIN, A. KUZNIATSOV, O. MARKIEVICH,  
A. YARASHENKA*

**FEATURES OF CLIMATE, ECOLOGY AND INCIDENCE  
OF THE MOST IMPORTANT CHRONIC RESPIRATORY  
DISEASES IN THE GRODNO**

**87** *L. A. BELAYA, V. A. MELNIK, S. N. MELNIK,  
A. A. KOZLOVSKY*

**ANALYTICAL REVIEW OF THE USE OF  
BIOIMPEDANCE ANALYSIS TO ASSESS THE  
INDICATORS OF PHYSICAL DEVELOPMENT AND  
HUMAN HEALTH**

## EDITORIAL NOTES

**99** **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

С. О. ГАВРИЛОВА-МАКСИМЧИК<sup>1,2</sup>

## РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ВЫСОКОГО УРОВНЯ СПЕЦИАЛЬНОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ У ГРЕБЦОВ-АКАДЕМИСТОВ

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр спорта», г. Минск, Республика Беларусь

В рамках исследования, в котором приняли участие спортсмены-мужчины высокого уровня специальной работоспособности, занимающиеся академической греблей, была проанализирована информативная значимость гормональных показателей в специально-подготовительный период годичной подготовки. В качестве исследуемых гормонов выбраны кортизол, тестостерон, прогестерон, лютеинизирующий гормон (ЛГ), дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭА-С) и адренкортикотропный гормон (АКТГ). Гормональная активность АКТГ и прогестерона не показала значимых корреляций с уровнями достижения аэробного и анаэробного порогов в период учебно-тренировочного сбора. Отмечено наличие положительных корреляционных связей средней (кортизол, тестостерон) и высокой (ДГЭА-С, ЛГ) силы с исследуемыми параметрами специальной работоспособности. Установлено, что гормональный фон вносит существенный вклад в достижение высоких уровней спортивной подготовки гребцов-академистов. Результаты предполагают использование мероприятий по оптимизации или стабилизации уровня целевых гормонов для улучшения спортивных показателей и специальной физической выносливости.

*Ключевые слова:* специальная работоспособность, гребцы-академисты, аэробный порог, анаэробный порог, кортизол; тестостерон, прогестерон, адренкортикотропный гормон, лютеинизирующий гормон, дегидроэпиандростерон-сульфат.

**Введение.** Специальная работоспособность в циклических видах спорта формируется под влиянием множества факторов. К ним относят генетические характеристики, наследуемые особенности сердечно-сосудистой системы и типы мышечных волокон, общее состояние здоровья, режим питания, уровень тренировочных нагрузок, активность во время соревнований и прочие аспекты [1]. Среди эргометрических показателей, влияющих на успех в циклических спортивных дисциплинах, наибольшее значение имеют мощность на аэробном (АП) и анаэробном порогах (АнП), а также максимальная мощность, соответствующая пиковому потреблению кислорода [2]. Поскольку академическая гребля – циклический вид спорта, требующий значительного уровня развития специальной выносливости и скоростно-силовых навыков, то тренировочные нагрузки на выносливость проводят на уровне, не ниже порога анаэробного метаболизма [3]. Уровень мощности во время тестирования со ступенчато-нарастающей нагрузкой отражает АнП, при этом среднее популяционное значение лактата в крови обычно составляет – 4 ммоль/л. Индивидуальные особенности могут иметь значимые отличия от среднего показателя. Только в условиях преимущественного использования анаэробных путей метаболизма для получения энергии, становится возможным достижение пика физической выносливости и мощности [4]. В связи с этим для достижения более точного прогноза результатов соревновательной деятельности необходим учет уровня анаэробных возможностей атлетов [5]. Обнаружение прямых корреляционных связей между уровнями АнП и победой в гребле указывает на практическую значимость поиска маркеров успешной соревновательной реализации [6].

Применение гребного эргометра для тестирования гребцов-академистов не позволяет учитывать инерционное перемещение тела, особенности поддержания равновесия на воде и т.п. [7]. Функциональная активность статокINETической системы обеспечивает интеграцию двигательных, висцеральных и поведенческих реакций организма. Подтверждением служат установленные факты изменения уровня экспрессии рецепторов к значительному количеству гормонов в зависимости от функционального состояния организма [8].

Несмотря на то, что убедительных данных о зависимости уровня регуляции катехоламинов от интенсивности и продолжительности физических нагрузок накоплено достаточно, факты об особенностях изменения уровня стероидов, таких как кортизол, дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭА-С) и тестостерон, до сих пор противоречивы, не систематизированы, и не были использованы для объективного суждения о взаимосвязи с какими-либо из этапов тренировочного процесса. Особенно это касается ДГЭА-С, количество которого в периферической крови превышает концентрацию всех остальных гормонов, поскольку он является субстратом для их биосинтеза. Интерес к потенциалу ДГЭА-С как средства для улучшения спортивных результатов и качества жизни лиц зрелого возраста в настоящее время возрос. Повышение уровня ДГЭА-С ассоциируют с улучшением концентрации внимания, когнитивных способностей и снижением напряженности эмоционального состояния, поэтому полагают потенциально положительное влияние на исход состязаний в игровых видах спорта [9–10]. Увеличение уровня кортизола и снижение уровня ДГЭА-С свидетельствуют о повышении показателя аллостатической нагрузки – индикатора общего физиологического стресса в процессе адаптации к различным воздействиям на протяжении тренировочного процесса [11].

На основании вышеизложенного предположили, что уровни кортизола и ДГЭА-С, измеренные перед соревнованиями, имеют основание стать биомаркерами, указывающими на высокую вероятность достижения успеха в спортивной деятельности.

Во время аэробной активности, когда возрастает уровень кортизола, реализуется его тормозящее влияние на продукцию тестостерона [12]. Синтез тестостерона регулируется процессами выработки лютеинизирующего гормона (ЛГ) – участника нейроэндокринной регуляции в оси гипоталамус-гипофиз-гонады. Его высвобождение стимулируется гонадотропин-рилизинг-гормоном [13]. После интенсивной физической нагрузки и во время тренировок у бегунов на длинные дистанции уровень ЛГ обычно снижается [14]. При синдроме перетренированности также наблюдают снижение выработки гормонов гипофиза (адренокортикотропного гормона (АКТГ), гормона роста, ЛГ и фолликулостимулирующего гормона) в ответ на стрессовые стимулы [15].

Таким образом, предположили, что как у спортсменов, адаптирующихся к воздействию интенсивных физических нагрузок, так и у лиц с признаками перетренированности, ведущим признаком снижения спортивной эффективности станет изменение координирующих функций гипоталамус-гипофизарной системы. Поскольку единичные научные исследования выполнены либо в экспериментах на биомоделях [16], либо с участием спортсменов из числа добровольцев игровых видов спорта и бегунов [12, 14], то для практического использования в тренировочном процессе изучение роли гормональной регуляции в формировании высокого уровня специальной работоспособности у гребцов-академистов является актуальной задачей.

Цель исследования – изучить информативную значимость уровней ДГЭА-С, АКТГ, ЛГ, кортизола, тестостерона и прогестерона периферической крови гребцов-академистов мужского пола высокого уровня специальной работоспособности.

**Материалы и методы исследования.** В эксперименте участвовали 26 спортсменов-мужчин добровольцев сборной команды Республики Беларуси по академической гребле среди молодёжи, обладающих квалификациями кандидата в мастера спорта или мастера спорта. Всем участникам заранее объяснили условия проведения эксперимента, и они

оформили информированное согласие. Исследования проводили с соблюдением требуемых этических норм.

В специально-подготовительный период годичной подготовки проводили забор капиллярной крови для определения концентрации гормонов, в одно и тоже время утром непосредственно перед началом тестирования.

В ходе учебно-тренировочного сбора для определения уровня специальной работоспособности спортсменов в разных зонах энергообеспечения анализировали уровни АП и АП на тренажерах «Concept II». Применяли ступенчатый тест с увеличивающейся нагрузкой, который состоял из шести ступеней по четыре минуты с одноступенчатым отдыхом между этапами. На каждой последующей ступени нагрузку увеличивали на 30 Вт.

Были определены уровни следующих гормонов:

- кортизол (ДС-ИФА-Стероид-Кортизол №ЕН-151, «Диагностические системы», РФ);
- тестостерон («Тестостерон-ИФА» № К209, «ХЕМА», РФ);
- прогестерон («Прогестерон-ИФА» № К207, «ХЕМА», РФ);
- АКТГ («АКТГ человека» № ЕН1067, FineTest, Китай);
- ЛГ («ЛГ-ИФА» № К202, «ХЕМА», РФ);
- ДГЭА-С («ДГЭА-С-ИФА» № К215, «ХЕМА», РФ).

Определение уровней гормонов в периферической крови осуществляли в лаборатории биохимии ГУ «РНПЦ спорта» на микропланшетном фотометре HiPo MPP 96 (Латвия). Для сопоставления со средне-популяционными значениями использовали диапазон норм, указанных в диагностических наборах.

Статистическую обработку и анализ данных выполнили в Statistica 10.0. Для изучения силы связей провели корреляционный анализ по Спирмену, в котором коэффициенты корреляции меньше 0,25 указывали на слабую, от 0,25 до 0,74 – на умеренную, а 0,75 и выше – на сильную связи. В данном исследовании критический уровень значимости для проверки статистических гипотез установили на уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В ходе проведения исследования была проведена оценка специальной работоспособности гребцов-академистов высокой спортивной квалификации на основании анализа взаимосвязи между мощностью нагрузки (Вт) на уровне АП и АП и сопоставлена с содержанием исследуемых гормонов в сыворотке периферической крови спортсменов.

В специально-подготовительном периоде интенсивный тренировочный процесс направлен на адаптацию к последующему этапу годичного цикла тренировок – учебно-тренировочный сбор. Во время сбора проводится отбор кандидатов для участия в соревнованиях. В наших исследованиях обратили внимание только на спортсменов высокой спортивной квалификации, поскольку они имели не только опыт участия, но и побед в соревнованиях. У этих спортсменов до проведения анализа специальной работоспособности изучали уровни гормонов. За 60 минут до тестирования на велотренажере у представителей сформированной нами группы из 26 участников забирали капиллярную кровь. В таблице 1 приведены средние значения определяемых показателей, поскольку полученные данные имели нормальное распределение, то они представлены в виде  $M \pm SD$ .

Интервалы уровней прогестерона, ЛГ, ДГЭА-С и АКТГ не выходили за пределы референсного диапазона нормативов используемых тест-наборов (таблица 1).

**Таблица 1.** Уровни гормонов в периферической крови (определяемые параметры) гребцов-академистов мужского пола высокой спортивной квалификации

Определяемые показатели	M ± SD	Диапазон значений у спортсменов в исследовании	Диапазон средне-популяционных норм
Кортизол, нмоль/л	560,6 ± 115,2	387,7–796,3	138,0–690,0
Тестостерон, нмоль/л	27,4 ± 10,1	5,4–42,6	1,36–38,0
ДГЭА-С, мкмоль/л	10,9 ± 2,2	8,5–14,5	3,25–16,9
Прогестерон, нмоль/л	1,6 ± 0,2	1,2–1,8	0,3–4,0
ЛГ, МЕд/л	4,3 ± 0,9	3,1–5,8	1,5–9,0
АКТГ, пг/мл	70,9 ± 46,8	9,0–148,9	12,5–800,0

Согласно данным представленным в таблице 1, показатели концентрации кортизола и тестостерона превышали границы нормальных референсных значений среднепопуляционной нормы.

В таблице 2 отражены результаты специальной работоспособности, которые подтверждают высокий уровень подготовки спортсменов [17]. Как правило, при максимальной нагрузке на гребном эргометре значительных изменений в уровнях гормонов у высококвалифицированных спортсменов гребных видов спорта не происходит [17].

**Таблица 2.** Мощность работы (Вт) на уровнях аэробного (АП) и анаэробного (АнП) порогов во время тестирования на тренажерах «Concept II» в специально-подготовительном периоде

Мощность, Вт	M ± SD	Min - Max
АП, Вт	246 ± 36	180-330
АнП, Вт	300 ± 32	240-380

Однако, в работах Кочерова Н.В. (1987) при семиминутном тесте в ответ на увеличение мощности работы значения уровня кортизола и соматотропного гормона возрастали. В результате было установлено, что «соматотропная и глюкокортикоидная функции являются доминирующими звеньями в процессе адаптации гормональной системы организма к напряженной физической деятельности в академической гребле» [18].

В таблице 3 представлены результаты анализа корреляционных связей между уровнем гормонов в сыворотке крови и мощностью работы на уровнях АП и АнП.

**Таблица 3.** Коэффициенты корреляции Спирмена (ρ) при сравнении мощности работы на АП и АнП (Вт) с уровнем гормонов периферической крови гребцов-академистов мужского пола.

Гормональные маркеры	Аэробный порог, Вт	Анаэробный порог, Вт
Кортизол, нмоль/л	0,33	0,36*
Тестостерон, нмоль/л	0,45*	0,41*
ДГЭА-С, мкмоль/л	0,79*	0,81*
Прогестерон, нмоль/л	0,22	0,19
ЛГ, МЕд/л	0,69*	0,77*
АКТГ, пг/мл	-0,50	-0,54

Примечание: \* –  $p < 0,05$

Как следует из данных, представленных в таблице 3, достижение высокого уровня АП осуществляется под влиянием тестостерона, ЛГ и ДГЭА-С, при этом корреляционные связи с ЛГ и ДГЭА-С выше, чем с тестостероном. Кроме того, исходные уровни ЛГ и ДГЭА-С у участников исследования, продемонстрировавших высокие результаты по показателям АП, также были выше на 29,79 % и 34,33 %, соответственно ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что участие тестостерона, несмотря на умеренную корреляционную связь, не может быть недооценено, поскольку в обеспечение высокого уровня аэробных возможностей вносят вклад множество факторов, включая исследуемые гормоны.

Это позволяет сделать выводы о том, что способность организма гребцов-академистов к повышению синтеза ДГЭА-С и ЛГ обеспечивает повышение уровня их аэробных возможностей.

Исследование взаимосвязи гормонального фона со значениями АП показало наличие следующих положительных корреляционных связей: кортизол и тестостерон продемонстрировали умеренную корреляционную связь, а значения ДГЭА-С и ЛГ имели сильную корреляционную связь с высоким уровнем достижения порога анаэробного обмена – предиктора успешной соревновательной реализации.

Уровни прогестерона и АКТГ не проявили значимых корреляций с уровнями АП и АП. Эти данные подчеркивают избирательность в обеспечении уровней нейроэндокринной регуляции при формировании высокой спортивной специализации гребцов-академистов.

**Заключение.** В доступной научной литературе отсутствуют сведения о роли гормональной регуляции в формировании высокого уровня специальной работоспособности у гребцов-академистов. Результаты исследования продемонстрировали, что если у спортсменов в специально-подготовительном периоде годичной подготовки уровни тестостерона находятся в диапазоне от 10,36 до 42,67 нмоль/л, кортизола – от 387,65 до 796,3 нмоль/л и ДГЭА-С – от 9,8 до 14,5 мкмоль/л, то они показывают более высокие результаты в тестах на определение уровня специальной работоспособности (АП, АП) во время учебно-тренировочных сборов.

Поскольку оценка гормонального профиля спортсменов проводится на регулярной основе, не требует значительных финансовых вложений и является важным инструментом в разработке индивидуализированных тренировочных программ, направленных на оптимизацию физиологических показателей и достижение максимальных спортивных результатов, выявленные корреляции позволят тренерам и спортивным врачам более точно определить ключевые точки максимальной готовности спортсменов, своевременно корректировать тренировочные планы и более эффективно управлять процессом восстановления, что в конечном итоге приведет к повышению конкурентоспособности экипажей на международной арене. Алгоритмы, разработанные на основе этих и ранее полученных данных, будут апробированы в реальных условиях спортивных состязаний международного класса.

#### Литература:

- [1]. Ben-Zaken S., Eliakim A., Nemet D. et al. Genetic characteristics of competitive swimmers: a review // *Biol Sport*. 2022. Vol. 39, № 1. P. 157–170.
- [2]. Медянцева Н.Б., Гаврилова С.О., Гилеп И.Л. Сравнительный анализ различных параметров работоспособности спортсменов в лыжных гонках, биатлоне, гребле академической, велоспорте // *Спортивная прикладная наука*. 2023. №2 (18). С. 69–74.
- [3]. Система подготовки спортсменов в олимпийском спорте. – Платонов В. Н. – М: Советский спорт, 2005. – 817 с.
- [4]. Rebis K., Klusiewicz A., Długolecka B. et al. Estimation of Lactate Thresholds, Aerobic Capacity and Recovery Rate from Muscle Oxygen Saturation in Highly Trained Speed Skaters and Healthy Untrained Individuals // *J Clin Med*. 2024. Vol. 13. P. 1–15.
- [5]. Петрова В.В., Федотова И.В., Богомолова М.М. и др. Оценка физической работоспособности спортсменов при проведении специфической нагрузочной пробы на углубленном медицинском обследовании // *Современные вопросы биомедицины*. 2023. № 7 (3). С. 1–8.

- [6]. *Starczewski M., Zmijewski P., Klusiewicz A.* Validity of Performance Assessment Methods in Elite Paracanoeists. *J Hum Kinet.* 2022. Vol. 81. P. 269–276.
- [7]. *Rudolph S., Badura A., Lutz S. et al.* Cognitive-Affective Functions of the Cerebellum // *J Neurosci.* 2023. Vol. 43, № 45. P. 7554–7564.
- [8]. *Li Z.H., Li B., Zhang X.Y. et al.* Neuropeptides and Their Roles in the Cerebellum // *Int J Mol Sci.* 2024. Vol. 25, № 4. P. 1–19.
- [9]. *Lennartsson A-K., Arvidson E., Börjesson M. et al.* DHEA-S production capacity in relation to perceived prolonged stress // *Stress.* 2022. Vol. 25, № 1. P. 105–112.
- [10]. *Brown D.J., Arnold R., Standage M. et al.* The prediction of thriving in elite sport: A prospective examination of the role of psychological need satisfaction, challenge appraisal, and salivary biomarkers // *J Sci Med Sport.* 2021. Vol. 24, № 4. P. 373–379.
- [11]. *McCrary C., McLoughlin S., Layte R. et al.* Towards a consensus definition of allostatic load: a multi-cohort, multi-system, multi-biomarker individual participant data (IPD) meta-analysis // *Psychoneuroendocrinology.* 2023. Vol. 153. P. 1–40.
- [12]. *Curzi D., Amatori S., Silvestri F. et al.* Professional football training and recovery: A longitudinal study on the effects of weekly conditioning session and workload variables // *PLoS One.* 2024. Vol. 19, № 9. P. 1–14.
- [13]. *Elzenaty R.N., Therina du Toit., Fluck C.E.* Basics of androgen synthesis and action // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2022. Vol. 36, № 4. P. 1–22.
- [14]. *Cupka M., Sedliak M.* Hungry runners – low energy availability in male endurance athletes and its impact on performance and testosterone: mini-review // *Eur J Transl Myol.* 2023. Vol. 33, № 2. P. 1–9.
- [15]. *Takahashi K., Shima T., Soya M. et al.* Exercise-induced adrenocorticotrophic hormone response is cooperatively regulated by hypothalamic arginine vasopressin and corticotrophin-releasing hormone // *Neuroendocrinology.* 2022. Vol. 112, № 9. P. 894–903.
- [16]. *Mityukova T.A., Basalai A.A., Poluliakh O.Y., Kuznetsova T.E.* Effects of high-calorie diet-induced visceral obesity on reproductive hormones and muscle tissues in male and female Wistar rats // *Global Translational Medicine.* 2024. Vol. 3, iss. 1. Art. 2321. P. 1–9.
- [17]. *Wang X., Zhao L.* Adaptive responses of cardiorespiratory system and hormonal parameters to individualized high-intensity interval training using anaerobic power reserve in well-trained rowers // *Front Physiol.* 2023. Vol. 14. P. 1–11.
- [18]. *Кочеров H.B.* Значение оценки индивидуальных особенностей реакций гормональной системы в отборе / *Воен.- мед. академ. им. С.М. Кирова.* – Л., 1987. – 24 с.

S.O. GAVRILOVA-MAKSIMCHIK<sup>1,2</sup>

## THE ROLE OF HORMONAL REGULATION IN THE FORMATION OF A HIGH LEVEL OF SPECIAL PERFORMANCE IN ACADEMIC ROWERS

<sup>1</sup> *State Scientific Institution “Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus”, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup> *State Institution “Republican Scientific and Practical Sports Center”, Minsk, Republic of Belarus*

### Summary

The informative significance of hormonal parameters in the special preparation period of one-year training was analyzed in a study involving male athletes of high level of special performance engaged in rowing. Cortisol, testosterone, progesterone, luteinizing hormone (LH), dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-C) and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) were selected as the hormones under study. The hormonal activities of ACTH and progesterone showed no significant correlations with the levels of achievement of aerobic and anaerobic thresholds during the training camp. The presence of positive correlations of medium (cortisol, testosterone) and high (DHEA-C, LH) strength with the studied parameters of special performance was noted. It was found that the hormonal background makes a significant contribution to the achievement of high levels of athletic training of rowing academics. The results suggest the use of measures to optimize or stabilize the level of target hormones to improve sports performance and special physical endurance.

*Keywords:* special performance, rowers, aerobic threshold, anaerobic threshold, cortisol, testosterone, progesterone, adrenocorticotrophic hormone, luteinizing hormone, dehydroepiandrosterone sulfate.

УДК 61.612.89

А. А. МАЛЬЦЕВА<sup>1</sup>, Е. Д. ПОСЛЕДОВИЧ<sup>2</sup>, С. А. РУТКЕВИЧ<sup>1</sup>, А. Г. ЧУМАК<sup>1</sup>

## ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА У МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ С ПРИЗНАКАМИ ПОВЫШЕННОЙ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ И МОТОРНОЙ ВОЗБУДИМОСТИ

<sup>1</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный университет», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Цель работы заключалась в выявлении особенностей вариабельности ритма сердца (ВРС) у молодых людей с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости. В исследованиях участвовали молодые люди 18–22 лет (53 девушки и 15 юношей), которые после опроса, выявляющего признаки повышенной эмоциональной и моторной возбудимости, были разделены на 2 группы: «высоко возбудимые» ( $n = 32$ ) и «умеренно возбудимые» ( $n = 36$ ). Регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) и анализ показателей ВРС проведен с использованием аппаратно-программного комплекса «НС-Психотест Эксперт» (Нейрософт, Россия).

У студентов из группы «высоко возбудимых» выявлено статистически значимое снижение временных показателей RRmin, RRmax, SDNN, RMSSD, pNN50, а средние значения индекса напряжения (ИН) оказались в 2 раза выше ( $160 \pm 31$ ), по сравнению с группой «умеренно возбудимых» ( $79 \pm 38$ ;  $p < 0,01$ ). Повышенным оказался также вегетативный показатель ритма (ВПР) в группе «высоко возбудимых» ( $5,5 \pm 1,4$ ) против группы сравнения ( $3,9 \pm 0,9$ ;  $p < 0,05$ ). Среднее значение мощности HF у «умеренно возбудимых» значительно превышало показатель «высоко возбудимых» ( $1031 \pm 497$  мс<sup>2</sup> и  $602 \pm 289$  мс<sup>2</sup> соответственно,  $p < 0,05$ ), а отношение мощности LF/HF, было достоверно больше у испытуемых из группы «высоко возбудимых» ( $3,2 \pm 1,3$  и  $1,9 \pm 0,7$ ;  $p < 0,05$ ). Анализ временных и спектральных показателей ВРС в нашем исследовании выявил, что у «высоко возбудимых» молодых людей регуляция деятельности сердечно-сосудистой системы характеризуется снижением парасимпатических влияний и относительным преобладанием симпатического контроля, а также влияний высших нервных центров без признаков патологической гиперактивности.

*Ключевые слова:* моторная и эмоциональная возбудимость, вариабельность ритма сердца, вегетативная регуляция.

**Введение.** В имеющихся источниках литературы, характеризующих механизмы влияний автономной нервной системы на разнообразные процессы в организме, авторы зачастую продолжают придерживаться концепции У. Кеннона [21] о диффузном и единообразном их характере [2, 17].

Установленные в прежние годы [22, 23] факты о дифференциации в механизмах вегетативного обеспечения деятельности организма не нашли должного осмысления. Отчасти этому объективно способствует широко используемый и доступный метод регистрации вариабельности ритма сердца (ВРС), позволяющий выявить доминирующее звено вегетативного контроля по отношению к сердцу. Вклад вегетативных механизмов в реализацию когнитивных функций и моторных реакций организма, особенно у практически здоровых людей, недооценен.

Несмотря на существенный прогресс в понимании организации лимбической системы, остается нерешенным вопрос о взаимосвязи эмоциональных реакций и их вегетативного сопровождения. Представления школы академика И. А. Булыгина [4] о целостном характере

интероцептивных и соматических процессов организма и обязательном включении вегетативных звеньев в реализацию моторной и условно-рефлекторной деятельности не имеют должного освещения в монографической и обзорной научной литературе.

Одним из примеров состояния организма, при котором необходимо анализировать вклад всех звеньев в регуляцию функций, является повышенная возбудимость, особенно ярко выраженная у детей и подростков и вызывающая проблемы при обучении. Крайним проявлением такой особенности в регуляции функций может быть явление бруксизма. Как указано в обзорных статьях, бруксизм сегодня рассматривают не только как синдром, но скорее, как особую форму поведения, при которой потери зубов и гипермоторика жевательных мышц служат поводом для начала лечения. Появившаяся недавно статья с мета-анализом литературных сведений по теме взаимосвязи бруксизма и вегетативных его проявлений прямо указывает на то, что вопрос все еще недостаточно проработан [26]. Там же описаны сопутствующие процессы, такие как расстройства дыхания во сне, бессонница, головная боль, дисфункция височно-нижнечелюстного сустава или психические дисфункции, такие как повышенная тревожность/риск депрессии [25]. Основные выводы авторов указывают на связь между бруксизмом сна и повышенным симпатическим тонусом, имеющим следствие в виде увеличивая размахов колебаний артериального давления и ВРС. Поскольку бруксизм является крайней формой дисрегуляции, в том числе вегетативного обеспечения деятельности, его изучают в нескольких лабораториях очень успешно. Тем не менее, авторы обзора [26] указывают только несколько статей, в которых проведен более-менее полный анализ вариабельности в регуляции сердечного ритма у «бруксистов» [28]. Публикаций с анализом вегетативной регуляции ВРС у здоровых молодых людей, у которых имеются только признаки эмоциональной и моторной возбудимости, практически нет.

Уточнение характера вегетативной регуляции у молодых людей, обучающихся в ВУЗе, может способствовать лучшему пониманию их возможностей в освоении учебного материала и разработать индивидуальные методологические подходы, учитывающие возможности физиологической коррекции современного образовательного процесса.

Целью данной работы было выявление особенностей ВРС и вегетативной регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы у молодых людей с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости.

**Материалы и методы исследования.** В исследованиях участвовали студенты биологического факультета Белорусского государственного университета в возрасте 18–22 лет (68 человек: 53 девушки и 15 юношей), которые были информированы о целях и характере исследования, и добровольно согласились в нем участвовать. Обследование было выполнено только у испытуемых, не имевших с их слов заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной систем или других хронических заболеваний. К регистрации ВРС допускали молодых людей, у которых ночной сон составил не менее 7 часов, через 2–3 часа после приема пищи, не употреблявших содержащие кофеин напитки за 2 часа до исследования, не курящих, не употреблявших алкогольные напитки накануне исследования. Для формирования групп был использован опросник, составленный для выявления признаков повышенной эмоциональной и моторной возбудимости, гиперактивности и дефицита внимания. В опросник были включены вопросы, заимствованные из публикаций [8, 11, 14, 20]. Анализ количества положительных ответов на 35 вопросов анкеты, выявляющей признаки повышенной эмоциональной и моторной возбудимости, позволил определить 2 популяции среди опрошенных студентов: группа с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости (группа «высоко возбудимых» молодых людей,  $n = 32$ ), в которой испытуемые выбирали 8 или более положительных ответов на вопросы анкеты, группа без признаков повышенной эмоциональной и моторной возбудимости (группа «умеренно возбудимых» молодых людей»,  $n = 36$ ) – выбрали менее 8 положительных ответов на вопросы анкеты. Кроме того, один из вопросов предлагаемой анкеты был о наличии бруксизма ночью (со слов родственников) и склонности «сжимать зубы» в дневное время. В

группе «высоко возбудимых» молодых людей 11 из 32 участников выбирали положительный ответ на этот вопрос.

Регистрация ЭКГ в стандартных отведениях и анализ показателей ВРС проведен с использованием аппаратно-программного комплекса «НС-Психотест Эксперт» (Нейрософт, Россия) в соответствии с рекомендациями по проведению кардиоинтервалографии, имеющимися в отечественной и зарубежной литературе [5, 9, 24, 28]. Исследование выполняли в тихом помещении, в условиях температурного комфорта (20–25 °С), в первой половине дня после 10 минутного отдыха в положении лёжа. Длительность регистрации составляла 5 минут.

Анализировали следующие временные показатели ВРС: RRNN (мс, среднее арифметическое продолжительности NN-интервалов в эпохе анализа, величина, обратная ЧСС) и ЧСС (систол в минуту), SDNN (стандартное отклонение величин NN-интервалов, квадратный корень из разброса NN), RRmax (мс, максимальное значение интервала R-R), RRmin (мс, минимальное значение интервала R-R), RMSSD (мс, квадратный корень из среднего значения квадратов разностей величин последовательных пар интервалов NN), pNN50 (%), процент интервалов смежных NN, отличающихся более, чем на 50 мс), ИИ (индекс напряжения или стресс-индекс), ВПП (вегетативный показатель ритма) [3, 5, 15]. Указанные индексы, рассчитываемые в программе автоматически и описанные в статьях [3, 15], отражают степень преобладания активности высших центральных механизмов регуляции над влияниями автономной нервной системы (ИИ) и баланс влияний симпатического и парасимпатического отделов на сердечный ритм (ВПП). «NN» – «нормальные» RR интервалы, принятые к анализу после исключения артефактов, «RR» – обозначение кардиоинтервалов только для двух последовательных циклов, использующееся при расчете некоторых параметров. Среди показателей спектрального (частотного) анализа оценивали: общую мощность спектра ( $TP = HF + LF + VLF$ ,  $мс^2$ ), мощность высокочастотного (HF,  $мс^2$  и %), низкочастотного (LF,  $мс^2$  и %), очень низкочастотного (VLF,  $мс^2$  и %) компонентов спектра и отношение LF/HF.

Для анализа полученных данных использовали стандартные методы вариационной статистики, включающие вычисление средних арифметических и стандартных отклонений с использованием прикладных программ Excel 2016 и программного обеспечения для статистической обработки данных STATISTICA 8.0. Оценка достоверности различий средних значений осуществляли с использованием однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа. Различия при уровне значимости  $p < 0,05$  расценивали как статистически значимые.

**Результаты и их обсуждение.** В настоящем исследовании с целью установления профиля вегетативной регуляции функций сердца у молодых людей с признаками эмоциональной и моторной возбудимости был проведен анализ показателей ВРС пятиминутных фрагментов ЭКГ. Обнаружено, что частота сердечных сокращений (ЧСС) у испытуемых в покое статистически значимо не различалась и соответствовала табличным значениям. Однако, среднее значение ЧСС покоя было выше у лиц, отнесенных по опросу и регистрации моторных показателей [12, 13] к группе с повышенной эмоциональной и моторной возбудимостью ( $86 \pm 9$  систол/мин), по сравнению с данными группы с умеренной возбудимостью ( $78 \pm 8$  систол/мин). Показатели RRNN и TP также статистически значимо не различались (таблица 1). Суммарный разброс кардиоинтервалов SDNN у студентов группы «высоко возбудимых» был значительно ниже ( $p < 0,01$ ), чем в группе «умеренно возбудимых». В соответствии с критериями, приведенными в литературе, этот показатель в норме не выходит за рамки значений от 40 до 80 мс [24]. Его увеличение указывает на преобладание парасимпатических влияний, в то время как снижение отражает усиление симпатического контроля [3].

У студентов с повышенной моторной возбудимостью статистически значимо отличались от представителей группы «умеренно возбудимых» и другие временные

показатели, характеризующие влияние автономной нервной системы – минимальные (RRmin) и максимальные (RRmax) кардиоинтервалы, RMSSD, а также доля NN интервалов, отличающихся от предыдущего на 50 мс (pNN50) или более (таблица 1). Выявленные особенности формирования электрической активности сердца отражают относительное увеличение симпатических и снижение парасимпатических влияний в регуляции сердечного ритма в условиях спокойного бодрствования у молодых людей из группы «высоко возбудимых» (таблица 1).

**Таблица 1.** Средние значения временных показателей ВРС у студентов с повышенной и умеренной возбудимостью (в таблице представлено среднее арифметическое значение  $\pm$  среднее отклонение)

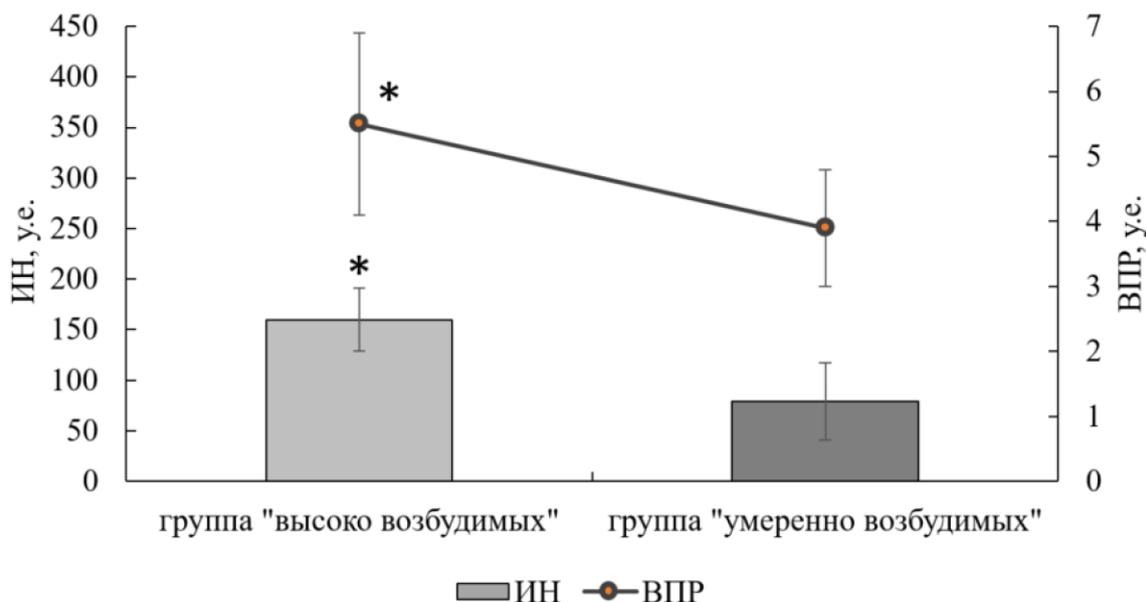
Показатели ВРС Группы	RRNN, мс	RR min, мс	RR max, мс	SDNN, мс	pNN50, %	RMSSD, мс	TP, мс <sup>2</sup>
Группа молодых людей «высоко возбудимых» (n = 32)	782 $\pm$ 93	562 $\pm$ 75*	849 $\pm$ 117*	47 $\pm$ 12*	11 $\pm$ 7*	23 $\pm$ 5*	3474 $\pm$ $\pm$ 1630
Группа молодых людей «умеренно возбудимых» (n = 36)	691 $\pm$ 67	619 $\pm$ 47	1005 $\pm$ 86	76 $\pm$ 13	19 $\pm$ 10	40 $\pm$ 17	3947 $\pm$ $\pm$ 1205

Примечание: \*- статистически значимое отличие показателя при  $p \leq 0,05$

Все показатели, рассчитанные компьютерным электрокардиографом, оказались соответствующими табличным значениям физиологической нормы.

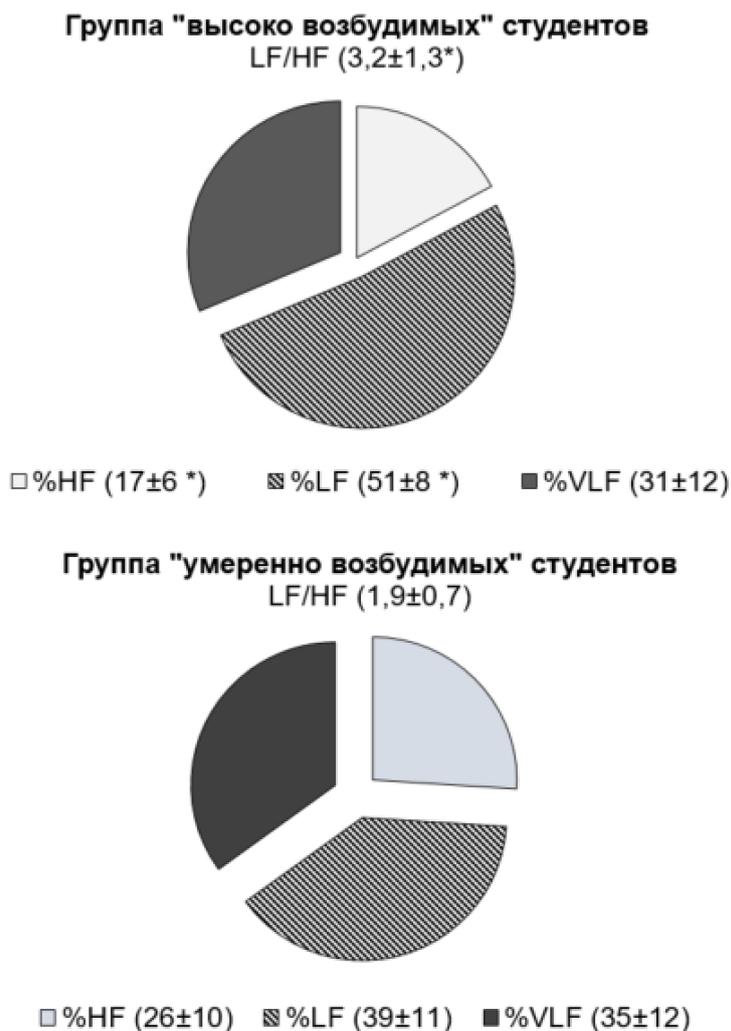
По данным литературы [9] слишком низкие значения pNN50 (меньше 0,11 %) могут свидетельствовать о симпатической гиперактивности. Более низкие значения SDNN, pNN50 и RMSSD в группе «высоко возбудимых» молодых людей (таблица 1) могут отражать снижение вагусных влияний и адаптационных резервов организма, по сравнению с группой «умеренно возбудимых» студентов.

ИН, в зарубежных публикациях обозначаемый как стресс-индекс, статистически значимо различался у испытуемых в двух группах (рисунок 1). В группе студентов с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости средние значения ИН оказались выше в 2 раза, по сравнению с группой «умеренно возбудимых» испытуемых (160  $\pm$  31 и 79  $\pm$  38 соответственно;  $p < 0,01$ ). Вегетативный показатель ритма также был значительно выше в группе «высоко возбудимых» (5,5  $\pm$  1,4 против 3,9  $\pm$  0,9;  $p < 0,05$ ). Приведенные данные указывают на повышенный «уровень стресса» и доминирование симпатических влияний, а также на преобладание высших центральных механизмов в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы у студентов из группы с признаками повышенной эмоциональной и моторной возбудимости.



**Рисунок 1.** Средние значения показателей индекса напряжения (ИН) и вегетативного показателя ритма (ВПР) у испытуемых с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости («высоко возбудимых») и в группе без признаков повышенной возбудимости («умеренно возбудимых»). \* – статистически значимое отличие показателя при  $p \leq 0,05$

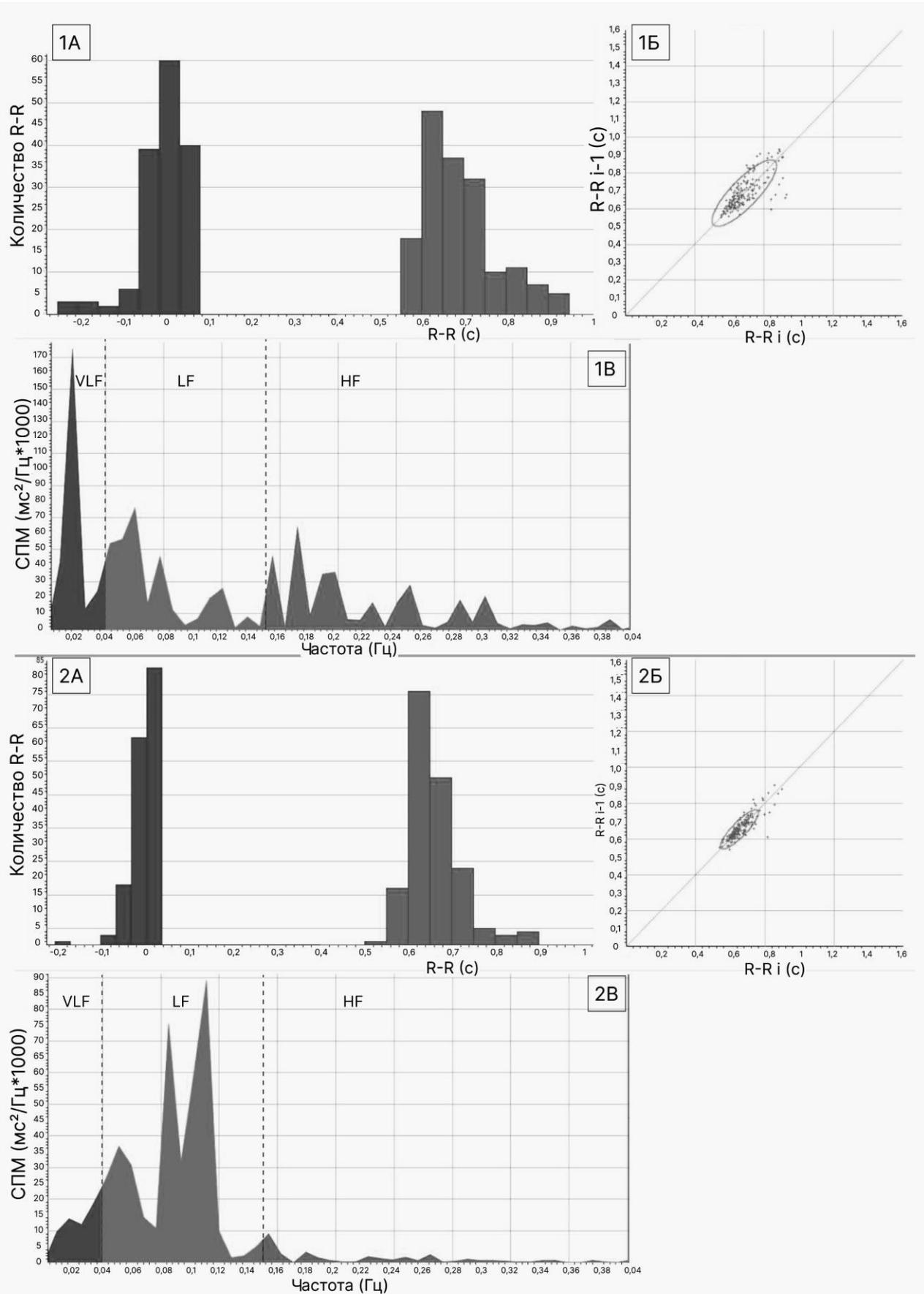
Диапазон физиологической нормы рассмотренных выше параметров ВРС, по данным большинства публикаций, допускает флуктуации в пределах следующих значений: для SDNN (13,31–41,4 мс); для RMSSD (5,78–42,3 мс); для pNN 50 % (0,1–28,1 %), ИН (30–90 у.е.). Как приводят авторы публикаций клинических исследований [3, 9], на крайнее проявление симпатической гиперактивности указывают снижение показателей SDNN < 13 мс; RMSSD < 5,78 мс; TP < 200 мс<sup>2</sup>; pNN50 % < 0,1 %; и увеличение ИН > 90 у.е. Полагают, что для констатации преобладания симпатической или парасимпатической активности необходимо зафиксировать отклонения от границ нормы 3-х из 5-и значений указанных параметров ВРС [9]. В нашем исследовании выявлено статистически значимое отличие 4-х из 5 приведенных показателей между группами (SDNN, pNN50, RMSSD и ИН), что в целом указывает на относительное умаление вагусных влияний и превалирование симпатической регуляции сердечного ритма в группе «высоко возбудимых» студентов, по сравнению с группой «умеренно возбудимых», чьи показатели ВРС отражают эутоничный баланс вегетативной регуляции.



**Рисунок 2.** Средние значения показателей спектрального анализа, выраженные в % и отношение мощности LF к мощности HF в двух группах испытуемых. \* – статистически значимое отличие показателя при  $p \leq 0,05$

Анализ спектральных показателей кардиоинтервалограммы также подтверждает сделанное выше заключение. Установлено, что в группе молодых людей без признаков повышенной моторной и эмоциональной возбудимости средние значения показателя HF ( $1031 \pm 497 \text{ мс}^2$ ) статистически значимо выше, чем в группе «высоко возбудимых» ( $602 \pm 289 \text{ мс}^2$ ,  $p < 0,05$ ). Этот же показатель спектрального анализа, выраженный в процентах, также статистически значимо различался у испытуемых в двух группах, что свидетельствует о снижении вклада парасимпатической нервной системы в регуляцию деятельности сердечно-сосудистой системы у испытуемых, отнесенных к группе «высоко возбудимых».

Статистически значимого различия для показателей LF ( $1782 \pm 977 \text{ мс}^2$  и  $1551 \pm 522 \text{ мс}^2$ ) и VLF ( $1095 \pm 656 \text{ мс}^2$  и  $1372 \pm 429 \text{ мс}^2$ ), не выявлено. Вместе с тем, показатель LF, выраженный в %, был статистически значимо больше у испытуемых из группы «высоко возбудимых» (рисунок 2). Приведенные результаты анализа спектральных показателей указывают на относительное снижение регуляторных влияний парасимпатического звена в группе испытуемых с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости. В качестве иллюстрации различий ВРС у испытуемых из двух групп исследования на рисунке 3 приведены примеры анализа кардиоинтервалограмм у двух студентов: из группы «умеренно возбудимых» и «высоко возбудимых».



**Рисунок 3.** Примеры анализа ВРС у испытуемого из группы «умеренно возбудимых» (1А, 1Б, 1В) и испытуемого из группы «высоко возбудимых» (2А, 2Б, 2В). 1А и 2А – гистограмма, 1Б и 2Б – скатерограмма, 1В и 2В – спектрограмма

Рисунок 3 отражает характер различия вегетативной регуляции у испытуемых из двух групп исследования, который выражается в уменьшении разброса длительности сердечных циклов, увеличении симпатического контроля и снижении вагусных влияний в группе «высоко возбудимых» студентов (2 А, Б, В).

В пользу этого заключения свидетельствует также отношение мощности низкочастотного компонента в высокочастотному (рисунок 2). LF/HF был значительно выше в группе «высоко возбудимых». Кроме того, по мнению Шлык Н. И. [24], если значения  $ИН > 100$  у.е.,  $VLF > 240$  мс<sup>2</sup>, то это свидетельствует об умеренном преобладании центральной регуляции, что выявлено в нашем исследовании для группы молодых людей с признаками повышенной эмоциональной и моторной возбудимости. Существует мнение, что гиперфункция симпатического отдела может быть обусловлена гиповаготонией [5], замедленным созреванием блуждающего нерва, а также внешними факторами, такими как стресс, психоэмоциональные и физические перегрузки, не исключается также наследственный фактор [10, 24].

Согласно исследованиям В. В. Парина и Р. М. Баевского [16], умеренное преобладание автономной регуляции характеризуется относительно большей пластичностью регуляторных эффектов автономной нервной системы и облегчает адаптацию к условиям среды. Если низшие уровни (сегментарные и стволовые) не вполне справляются со своими задачами, необходима центральная координация функционирования всех систем для сбалансированной деятельности организма в его взаимодействии с внешней средой. Многолетние исследования ВРС разными авторами подтверждают, что адаптация к стрессорным факторам тем успешнее, чем ниже уровень регуляции деятельности внутренних органов и, в частности, сердечно-сосудистой системы [15].

Одной из основных задач представленной работы явилось получение дополнительных объективных физиологических критериев для выявления у испытуемых признаков повышенной возбудимости. В литературе отсутствует единый подход, позволяющий уверенно классифицировать особенности организма испытуемых как маркеры повышенной возбудимости. В результате проведенных прежде исследований было установлено, что для отнесения испытуемых к группе с признаками повышенной возбудимости оказалось недостаточной оценка их ответов на вопросы анкеты. Потребовалось дополнительно выявить физиологические объективные особенности, указывающие на их высокую возбудимость. Другие студенты были отнесены к нормально возбудимым лицам.

Было установлено, что одним из существенных отличий тех студентов, которых по данным опроса относили к группе с излишней возбудимостью, может быть феномен избыточной совместной активации, или коактивации мотонейронов, регулирующих сократимость групп скелетных мышц в разных рефлекторных дугах. У этих лиц было выявлено, что в процессе произвольного напряжения мышц, обеспечивающих вдох, равно как и мышц предплечья происходила одновременная непровольная сопутствующая активация определенного подмножества двигательных единиц жевательной мышцы. Об этом свидетельствовало зарегистрированное возникновение в электромиограмме суммарных потенциалов действия, увеличение их амплитуды и частоты в статистически значимом количестве и их исчезновение после окончания пробы. Отсутствие или значительно меньшее проявление такого эффекта позволяло относить испытуемых к группе «умеренно возбудимых» [13].

Вторым признаком следует считать избыточную иррадиацию возбуждения в областях моторной коры, имеющих эффекторный выход к мышцам мигательного рефлекса. В исследовании, проведенном ранее, было установлено, что у лиц с «анкетными» признаками повышенной эмоциональной и моторной возбудимости амплитуда и длительность поздних компонентов мигательного рефлекса, реализуемого в результате активации ядер ствола головного мозга, была статистически значимо выше, а латентное время ниже, по сравнению с аналогичными показателями молодых людей с умеренной возбудимостью [12]. Эти данные

указывают на то, что у молодых людей с выявленными по результатам опроса признаками эмоциональной и моторной возбудимости и бруксизма, обнаружены электрофизиологические признаки повышения возбудимости и избыточной иррадиации возбуждения моторных нервных центров.

Анализ вегетативных реакций тех же испытуемых, рассмотренных в данном исследовании, позволил к перечисленным признакам добавить еще один. Это симпатическая повышенная возбудимость. Она, как оказалось, проявляется не только у выраженных «бруксистов», что обсуждается в статье [28], но и у студентов, демонстрирующих наряду с этим признаки коактивации в моторных нейронных сетях ствола и спинного мозга [13].

Действительно, с позиции теории функциональных систем П. К. Анохина процессы адаптации к условиям окружающей среды или изменению физиологических констант организма, сопровождаются перестройками функционирования многих нервных центров (отделов автономной нервной системы, стволовых структур, промежуточного мозга и высших центров, контролирующих поведение). При этом предъявление стрессорных воздействий, требующих развития эрготропных эффектов, как правило, сопровождаются повышением активности его симпатического отдела, а прекращению или отсутствию стрессорных факторов сопутствует активация парасимпатического отдела, регулирующего трофотропные эффекты. Авторы некоторых научных публикаций обсуждают вопрос о неодинаковых типах вегетативной регуляции функций не только у детей и подростков, но и у взрослого населения [19]. Согласно этим представлениям, у людей с разным вегетативным профилем эффективность адаптации к стрессу и когнитивным нагрузкам значительно отличается. По данным статьи [10] у детей с центральным типом регуляции снижены функциональные и адаптационные способности организма, присутствуют дисрегуляторные проявления, в то время как выраженное преобладание автономного контура сопровождается значительной вариабельностью сердечного ритма с преобладанием парасимпатических влияний на сердечный ритм, что влечет за собой несовершенство симпатической регуляции и также чревато вегетативными дисфункциями. В литературе существует обоснование генетической детерминированности типов регуляции сердечного ритма и прогнозирование риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы [3, 15]. Как чрезмерная централизация, так и гиперактивация парасимпатических влияний на регуляцию сердечно-сосудистой системы обуславливает снижение адаптации к учебной нагрузке, выражается в низкой успеваемости и ведет к возникновению дисрегуляторных эффектов (вегетососудистых симптомов, нарушения функции желудочно-кишечного тракта, восприимчивости к инфекциям, дерматитов, у девушек нарушений полового цикла) [11].

В последнее время появляется все больше публикаций с результатами психофизиологических исследований, авторы которых рассматривают вопрос о тенденции снижения внимания, памяти, усидчивости, способности сосредотачиваться на задании, контролировать эмоции у студентов ВУЗов, а также о наличии у многих молодых людей вегетативных дисфункций [10, 18]. Некоторые авторы считают, что эти симптомы связаны с синдромом дефицита внимания и гиперактивностью, от которых, по мнению разных источников, страдают от 5 до 8 % молодых людей в возрасте 18–25 лет [7, 19]. Существуют разные объяснения причин развития симптомов синдрома дефицита внимания и гиперактивности. Среди них: нарушение метаболизма нейромедиаторов в центральной нервной системе (дофамина, адреналина, серотонина и норадреналина), которые определяют баланс возбуждения и торможения в префронтальной коре, снижение активности стволовой ретикулярной формации и некоторых других базальных образований, которые активируются норадреналином, замедлением созревания парасимпатических центров, функциональной незрелостью мозга [7]. Согласно нашим исследованиям, у молодых людей с признаками повышенной эмоциональной и моторной лабильности превалирование симпатического и центрального контроля сердечно-сосудистой системы сопровождается иррадиацией

возбуждения как на уровне ствола головного мозга, так и в моторных центрах в процессе выполнения произвольных движений.

**Заключение.** Таким образом, анализ временных и спектральных показателей ВРС в нашем исследовании показал, что у молодых людей с признаками повышенной моторной и эмоциональной возбудимости регуляция деятельности сердечно-сосудистой системы характеризуется снижением парасимпатических влияний и относительным преобладанием симпатического контроля и влияний высших нервных центров без признаков патологической гиперактивности. Об этом свидетельствует статистически значимое отличие показателей SDNN, pNN50, RMSSD, HF, LF и LF/HF между группами исследования. На основании полученных данных можно заключить, что молодые люди с признаками повышенной эмоциональной и моторной возбудимости входят в группу риска развития вегетососудистых проявлений, связанных с пониженной способностью их организма к преодолению стресса и ограничением адаптационного резерва автономной регуляции сердечного ритма.

*Материалы получены в рамках выполнения темы НИР «Анализ функционального состояния мозга с помощью электроэнцефалографии у пациентов с бруксизмом» № госрегистрации 20211944.*

### Литература:

- [1]. *Алейникова Т.В.* Вариабельность сердечного ритма (обзор литературы) // Проблемы здоровья и экологии. 2012. № 1. С. 17–23.
- [2]. *Балабанова В.А., Киселев Д.А., Лайшева О.А., Губанов В.В.* Оценка эффективности применения метода функциональной регуляции движения с использованием математического анализа электроэнцефалограммы // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. Т. 7. № 1. С. 39–44.
- [3]. *Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Волковская И.В.* Вариабельность сердечного ритма: методы измерения, интерпретация, клиническое использование // Анналы аритмологии. 2009. № 4. С. 21–32.
- [4]. *Булыгин И.А.* Взаимосвязь явлений дивергенции и конвергенции как общий принцип деятельности нервной системы / Минск: Наука и техника. 1981. С. 29–30.
- [5]. *Воронова Н.В., Мейгал А.Ю., Елаева Л.Е., Кузьмина Г.И.* Влияние сезона года и фазы менструального цикла женщины на параметры кардиоинтервалограммы // Экология человека. 2015. № 2. С. 20–26.
- [6]. *Гаврилова Е.А.* Использование вариабельности ритма сердца в оценке успешности спортивной деятельности // Практическая медицина. 2015. Т. 1. № 3. С. 52–57.
- [7]. *Городничева А.В., Пономарев И.А., Сиденкова А.П.* Гиперкинетическое расстройство и синдром дефицита внимания и гиперактивности у взрослых // Уральский медицинский журнал. 2023. Т. 22. № 3. С. 108–117.
- [8]. *Ефимов И.О., Иванов А.С., Никитин И.А.* Разработка и внедрение программы комплексной немедикаментозной реабилитации детей с синдромом дефицита внимания и гиперактивности // Казанский мед. журнал. 2011. № 3. С. 379–382.
- [9]. *Киричков Ю.Ю., Петрова М.В., Муслимов Б.Г., Гриднев О.В.* Возможности мониторинга вариабельности ритма сердца для дозирования дексмететомидина у пациентов нейрореанимационного профиля // Общая реаниматология. 2021. Т. 17. № 1. С. 16–26.
- [10]. *Ковалева А.В., Панова Е.Н., Горбачева А.К.* Анализ вариабельности ритма сердца и возможности его применения в психологии и психофизиологии // Современная зарубежная психология. 2013. № 1. С. 35–50.
- [11]. *Кожневникова И.С., Джос Ю.С.* Когнитивные вызванные потенциалы P300 у детей с высоким уровнем тревожности // Экология человека. 2011. № 5. С. 49–54.
- [12]. *Мальцева А.А.* Модуляция паттерна мигательного рефлекса у здоровых молодых людей с разной моторной и эмоциональной возбудимостью в условиях дыхательной пробы // Новости медико-биологических наук. 2023. Т. 23. № 3. С. 168–174.
- [13]. *Мальцева А.А., Руткевич С.А.* Электрофизиологические признаки усиления иррадиации возбуждения в моторных центрах головного мозга у здоровых людей // Новости медико-биологических наук. 2022. Т. 22. № 4. С. 5–13.

- [14]. Нестеренко К.С., Шпингис Д.В. Исследование влияния качества сна на когнитивную деятельность студентов // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2020. № 2-1. С. 49–52.
- [15]. Новиков А.А., Смоленский А.В., Михайлова А.В. Подходы к оценке показателей вариабельности сердечного ритма (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. 2023. № 3. Публикация 3-3. – URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-3/3-3.pdf> (дата доступа 31.05.2023).
- [16]. Парин В.В., Баевский Р.М. Введение в медицинскую кибернетику / Минск : Медицина, 1966. – 150 с.
- [17]. Плотникова И.В., Афанасьев С.А., Перевозникова Ю.Е. и др. Вклад вегетативной нервной системы в формирование нарушений ритма сердца в детском возрасте (обзор литературы) // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. 2023. Т. 38. № 2. С.23– 29.
- [18]. Попова, О.В., Циркин В.И., Нуреев И. Т.И. др. Влияние милдроната на состояние центральной нервной системы у студентов с признаками синдрома дефицита внимания с гиперактивностью // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2010. № 6. С. 105– 112.
- [19]. Попова, О.В., Нуреев И.Т., Трухина С.И. и др. Особенности высших психических функций, электрической активности мозга и успешность обучения подростков и студентов с признаками СДВГ // Вятский медицинский вестник. 2009. № 2-4. С.77–81.
- [20]. Попова О.В., Циркин В.И., Нуреев И.Т. и др. Электрическая активность мозга и уровень развития высших психических функций у 13-14-летних школьников с СДВГ // Экология человека. 2010. № 11. С. 13–18.
- [21]. Реутов В.П., Черток В.М. Новые представления о роли вегетативной нервной системы и систем генерации оксида азота в сосудах мозга // Тихоокеанский медицинский журнал. 2016. № 2. С. 10–19.
- [22]. Солтанов В.В., Чумак А.Г. Симпатический нервный контроль двигательной активности тонкой кишки // Физиологический журнал СССР.1990. Т. 76. № 1.С.127–132.
- [23]. Чумак А.Г., Руткевич С.А., Каравай Т.В. Возбуждение и торможение интероцептивных рефлекторных реакций / Минск: БГУ, 2014. – 231 с.
- [24]. Шлык, Н.И., Зуфарова Э.И. Нормативы показателей вариабельности сердечного ритма у исследуемых 16-21 года с разными преобладающими типами вегетативной регуляции // Биология. Науки о земле. 2013. Вып. 4. С. 96–105.
- [25]. Mayer, P., Heinzer R., Lavigne G. Sleep bruxism in respiratory medicine practice // Chest. 2016. Vol. 149. № 1. P. 262–271.
- [26]. Michalek-Zrabkowska M., Martynowicz H., Wieckiewicz M. et al. Cardiovascular Implications of Sleep Bruxism – A Systematic Review with Narrative Summary and Future Perspectives // J. Clin Med. 2021. Vol. 10. N 11. P. 2245.
- [27]. Ali M.K., Chen J.D.Z. Roles of heart rate variability in assessing autonomic nervous system in functional gastrointestinal disorders: a systematic review // Diagnostics (Basel). 2023. Vol. 13. N 2. P. 293.
- [28]. Zhong Z., Xu M., Zou X. et al. Changes in heart rate related to rhythmic masticatory muscle activities and limb movements in patients with sleep bruxism // J. Oral Rehabil. 2020. Vol. 47. N 2. P. 170–179.

A. A. MALTSEVA<sup>1</sup>, E. D. POSLEDOVICH<sup>2</sup>, S. A. RUTKEVICH<sup>1</sup>, A. G. CHUMAK<sup>1</sup>

## FEATURES OF AUTONOMIC REGULATION OF HEART RATE VARIABILITY IN YOUNG PEOPLE WITH SYMPTOMS OF INCREASED EMOTIONAL AND MOTOR EXCITABILITY

<sup>1</sup> Educational Establishment “Belarusian State University”, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup> State Scientific Institution “Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus”, Minsk, Republic of Belarus

### Summary

The aim of the study was to identify the features of heart rate variability (HRV) in young people with signs of increased motor and emotional excitability. The studies involved young people aged 18–22 years (53 girls and 15 boys), who, after a survey revealing signs of increased emotional and motor excitability, were divided into 2 groups: "highly excitable" (n = 32) and "moderately excitable" (n = 36). Electrocardiogram

(ECG) recording and analysis of WMD indicators were carried out using the hardware and software complex "NS-Psychotest Expert" (Neurosoft, Russia).

Students from the "highly excitable" group showed a statistically significant decrease in the time indicators of RRmin, RRmax, SDNN, RMSSD, pNN50, and the average values of the voltage index (ST) were 2 times higher ( $160 \pm 31$ ) compared to the group of "moderately excitable" ( $79 \pm 38$ ;  $p < 0,01$ ). The autonomic rhythm index was also increased in the group of "highly excitable" ( $5,5 \pm 1,4$ ) versus the comparison group ( $3,9 \pm 0,9$ ;  $p < 0,05$ ). The average value of the HF power in the "moderately excitable" was significantly higher than the indicator of the "highly excitable" ( $1031 \pm 497 \text{ ms}^2$  and  $602 \pm 289 \text{ ms}^2$ , respectively,  $p < 0,05$ ), and the LF/HF power ratio was significantly higher in the subjects from the "highly excitable" group ( $3,2 \pm 1,3$  and  $1,9 \pm 0,7$ ;  $p < 0,05$ ). The analysis of the temporal and spectral parameters of HRV in our study revealed that in "highly excitable" young people, the regulation of the activity of the cardiovascular system is characterized by a decrease in parasympathetic influences and a relative predominance of sympathetic control, as well as the influence of higher nervous centers without signs of pathological hyperactivity.

*Keywords:* motor and emotional excitability, heart rate variability, autonomic regulation.

*А. В. ЗАЕРКО, Е. М. ФЕДИНА, С. М. ЗИМАТКИН*

## **НАРУШЕНИЯ РАЗВИТИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА У ПОТОМСТВА КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ АЛКОГОЛЬ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

*Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

Установлено, что потребление алкоголя самками крыс во время беременности приводит к значительным ультраструктурным изменениям энергетического аппарата гистаминергических нейронов гипоталамуса их потомства, которые на 5, 20 и 45-е сутки после рождения животных проявляются сниженным количеством митохондрий на единицу площади цитоплазмы клеток, на ранних этапах постнатального онтогенеза (5-е сутки) гипертрофией митохондрий, а в дальнейшем (20-е, 45-е сутки) уменьшением размеров этих органелл, что отражает деструктивные и адаптационные изменения изучаемых нейронов.

*Ключевые слова:* гистаминергические нейроны, головной мозг, митохондрии, пренатальная алкоголизация.

**Введение.** Гистаминергические нейроны головного мозга регулируют многие функции и системы организма. Гистамин обладает антигипнотическим действием – сокращает парадоксальную фазу сна и облегчает пробуждение; стимулирует общую двигательную и половую активность; оказывает анальгетическое действие; усиливает жажду, но подавляет аппетит; участвует в регуляции артериального давления (повышает его), температуры тела (снижает её), энергетического метаболизма мозга (стимулирует гидролиз гликогена). Известна роль центрального гистамина при некоторых нейродегенеративных заболеваниях, таких как рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера и энцефалопатия Вернике и др. [1]. У млекопитающих перикарионы гистаминергических нейронов головного мозга локализованы только в заднем отделе гипоталамуса, в туберомамиллярных ядрах, там они формируют пять ядер (E1 – E5). Гистаминергическое ядро E2 – самое крупное ядро, на него приходится более 50 % гистаминергических нейронов гипоталамуса [2].

Митохондрии – это органеллы, которые встречаются практически во всех эукариотических клетках. Большинство клеток содержат очень много митохондрий, причем наибольшее их количество приходится на клетки с самыми высокими энергетическими потребностями, например нейроны. Эти органеллы отвечают за клеточную энергию, которая образуется при окислительных процессах и запасается в виде макроэргических связей молекул АТФ. Митохондрии состоят из тысяч различных типов белков, подавляющее большинство которых закодировано в ядре, и которые выполняют очень широкий спектр метаболических функций. Дыхательная цепь митохондрий является основной структурой окислительного фосфорилирования и играет центральную роль в клеточном энергетическом метаболизме [3].

Считается, что митохондриальные заболевания могут быть причиной или фактором риска для многих других заболеваний, в частности, таких как болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера [4], в патогенезе которых принимают участие и гистаминергические нейроны [1]. В связи с этим, интересным и важным является оценить состояние энергетического аппарата в развивающихся гистаминергических нейронах головного мозга крыс, развивавшихся в условиях пренатальной алкоголизации.

Цель исследования – оценить состояние энергетического аппарата в развивающихся гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса у потомства крыс, потреблявших алкоголь во время беременности.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на потомстве беспородных белых крыс (12 крысят), в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей (Directive, 2010) [5]. На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 30.01.2018). Животные находились на стандартном рационе вивария. Декапитация крысят осуществлялась на 5, 20 и 45-е сутки после рождения (для лучшей оценки динамики развития брали по одному крысенку из каждого помета на каждый срок, всего по 4 крысенка). Быстро извлекали головной мозг, вырезали гипоталамус и помещали его в 1 % осмиевый фиксатор на буфере Миллонига (рН = 7,4) на 2 часа при температуре +4° С. Далее образцы промывали в смеси буфера Миллонига (20 мл) и сахарозы (900 мг), обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, смеси спирта и ацетона и ацетоне, проводили через смеси смолы и ацетона и заключали в заливочную смолу (аралдит М + аралдит Н + дибутилфталат + ДМР-30).

Полутонкие срезы (толщиной около 350 нм) изготавливали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica, Germany), окрашивали метиленовым синим для уточнения локализации изучаемой структуры – гистаминергического ядра E2. Ультратонкие срезы (толщиной около 35 нм) собирали на опорные сеточки, контрастировали ацетатом урана [6] и цитратом свинца [7].

Готовые препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония). Для фотографирования использовался комплекс из цифровой камеры Olympus Mega View III (Germany) и программы iTEM (Version 5.0 (Build 1224); Serial Number A3766900-7E852FAB). Ультраструктурную морфометрию проводили с помощью программы обработки изображения iTEM (Version 5.0; Build 1224; Serial Number A3766900-7E852FAB, Германия), обводя курсором на мониторе компьютера выбранные объекты и оценивая их количество и размеры.

Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Количественные результаты представляли в виде «Me (LQ; UQ)», где Me – медиана, LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – нижняя граница верхнего квартиля. Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ( $p < 0,05$ ) [8].

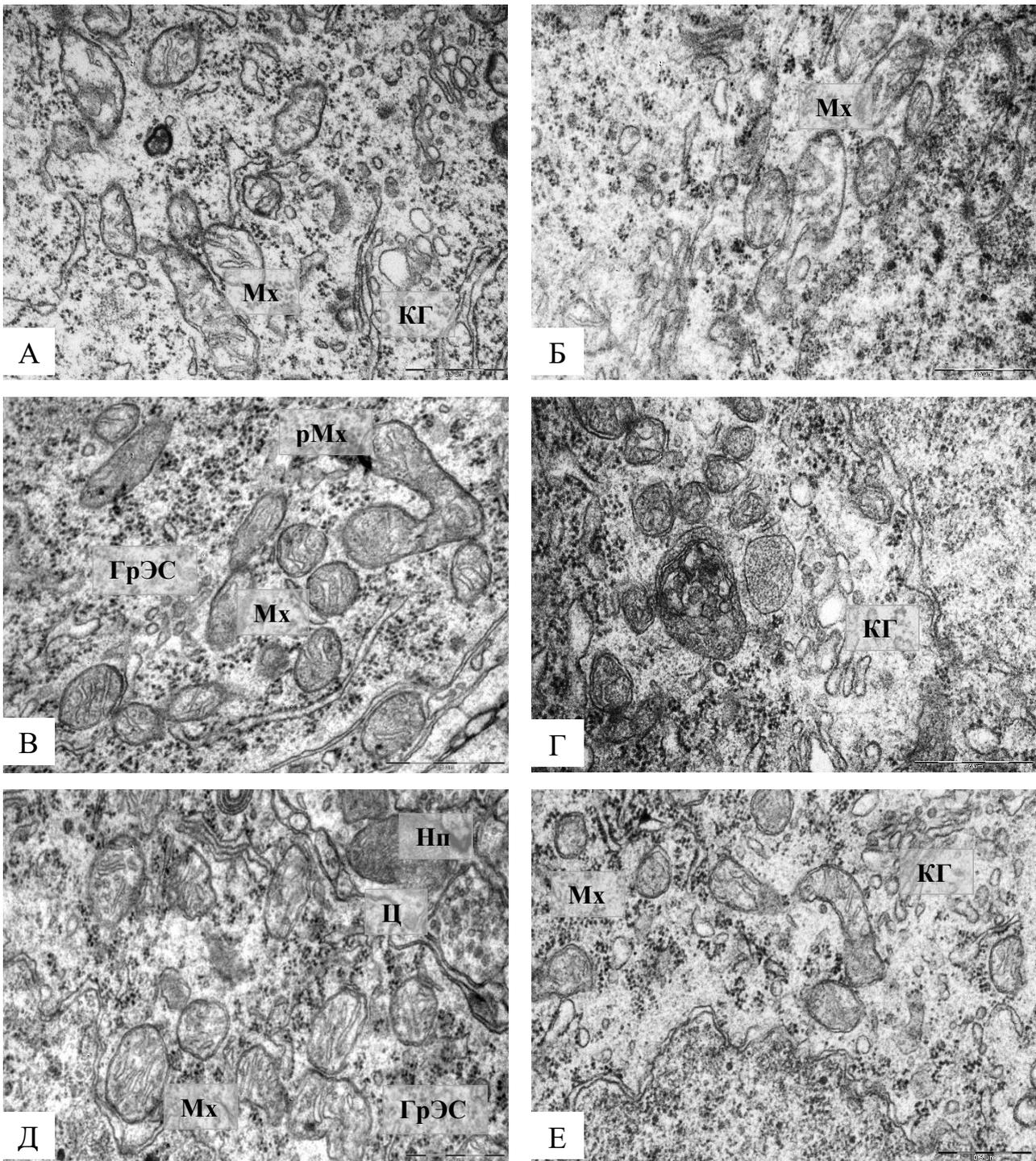
**Результаты и их обсуждение.** Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса у потомства крыс, потреблявших алкоголь во время беременности, с 5-х по 45-е сутки постнатального развития наблюдаются значительные и разнообразные ультраструктурные изменения их энергетического аппарата в сравнении с контрольной группой животных.

Так, количество митохондрий в гистаминергических нейронах головного мозга крыс, перенесших антенатальную алкоголизацию, на все исследованные сроки постнатального развития существенно снижено: на 5-е сутки – в 1,3 раза, на 20-е и 45-е сутки – в 1,2 раза (таблица 1, рисунок 1).

**Таблица 1.** Изменение показателей митохондрий гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса потомства крыс, потреблявших алкоголь во время беременности (Me (LQ; UQ))

Показатель	Контроль	Опыт
<b>5 сутки</b>		
Количество митохондрий шт/мкм <sup>2</sup> цитоплазмы	1,65 (1,16; 2,08)	1,23 (1,02; 1,45)*
Минимальный диаметр, мкм	0,16 (0,15; 0,18)	0,18 (0,17; 0,19)*
Максимальный диаметр, мкм	0,27 (0,23; 0,30)	0,29 (0,25; 0,31)*
Периметр, мкм	0,72 (0,66; 0,81)	0,76 (0,73; 0,88)*
Площадь митохондрий, мкм <sup>2</sup>	0,03 (0,03; 0,04)	0,05 (0,03; 0,07)*
Относительная площадь митохондрий, мкм <sup>2</sup> /мкм <sup>2</sup> цитоплазмы	0,07 (0,05; 0,09)	0,09 (0,07; 0,11)*
Форм-фактор	0,79 (0,75; 0,81)	0,82 (0,78; 0,98)*
Фактор элонгации	1,56 (1,44; 1,72)	1,53 (1,49; 1,73)
Длина крист митохондрии, мкм	0,12 (0,10; 0,16)	0,06 (0,04; 0,8)*
<b>20 сутки</b>		
Количество митохондрий шт/мкм <sup>2</sup> цитоплазмы	2,21 (1,67; 2,75)	1,82 (1,65; 2,15)*
Минимальный диаметр, мкм	0,15 (0,14; 0,17)	0,12 (0,11; 0,14)*
Максимальный диаметр, мкм	0,26 (0,22; 0,29)	0,23 (0,21; 0,25)*
Периметр, мкм	0,71 (0,62; 0,77)	0,68 (0,61; 0,73)*
Площадь митохондрий, мкм <sup>2</sup>	0,03 (0,02; 0,03)	0,02 (0,01; 0,03)*
Относительная площадь митохондрий, мкм <sup>2</sup> /мкм <sup>2</sup> цитоплазмы	0,08 (0,06; 0,10)	0,07 (0,05; 0,09)*
Форм-фактор	0,78 (0,76; 0,81)	0,78 (0,73; 0,80)
Фактор элонгации	1,66 (1,56; 1,78)	1,63 (1,58; 1,69)*
Длина крист митохондрии, мкм	0,14 (0,11; 0,18)	0,10 (0,08; 0,12)*
<b>45 сутки</b>		
Количество митохондрий шт/мкм <sup>2</sup> цитоплазмы	2,85 (2,22; 3,60)	2,35 (2,15; 2,65)*
Минимальный диаметр, мкм	0,16 (0,14; 0,17)	0,16 (0,13; 0,18)
Максимальный диаметр, мкм	0,26 (0,22; 0,29)	0,25 (0,22; 0,27)*
Периметр, мкм	0,71 (0,62; 0,82)	0,69 (0,63; 0,75)*
Площадь митохондрий, мкм <sup>2</sup>	0,03 (0,02; 0,04)	0,03 (0,02; 0,04)
Относительная площадь митохондрий, мкм <sup>2</sup> /мкм <sup>2</sup> цитоплазмы	0,11 (0,09; 0,13)	0,10 (0,08; 0,12)*
Форм-фактор	0,78 (0,74; 0,80)	0,78 (0,75; 0,81)
Фактор элонгации	1,67 (1,56; 1,82)	1,66 (1,63; 1,70)
Длина крист митохондрии, мкм	0,18 (0,15; 0,24)	0,15 (0,12; 0,17)*

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , при сравнении с контролем.



**Рисунок 1.** Митохондрии в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс на 5-е (А, Б), 20-е (В, Г) и 45-е (Д, Е) сутки постнатального развития. Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), комплекс Гольджи (КГ), митохондрии (Мх), нейропиль (Нп), разветвленная митохондрия (рМх), цитолемма (Ц). Электронограммы. Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Увелич. 50000

В митохондриях гистаминергических нейронов 5-суточных крысят отмечается повреждение крист, сопровождающееся просветлением внутримитохондриального матрикса. Некоторые митохондрии находятся в состоянии набухания. При этом средние размеры и периметр митохондрий увеличены. Относительная площадь митохондрий на единицу площади цитоплазмы превышает контрольное значение в 1,3 раза (таблица 1). Форм-фактор

митохондрий в опытных образцах также возрастает (в 1,04 раза), что говорит об увеличении сферичности данных органелл по сравнению с контролем.

Согласно данным Ramachandran и соавторов [9], в митохондриях мозга плода, подвергшихся воздействию этанола, накапливается 4-гидрокси-2-ноненал (4-HNE), токсичный продукт перекисного окисления липидов, который вызывает отек митохондрий, сохраняющийся и на ранние сроки постнатального развития гистаминергических нейронов гипоталамуса. Набухание митохондрий свидетельствует о функциональном напряжении клетки, обусловленном кислородным голоданием и развитием в нервной ткани гипоксических процессов [10, 11].

У 20-суточного и 45-суточного потомства крыс, потреблявших алкоголь в период беременности, при сравнении с контрольной группой животных отмечается уменьшение относительной площади митохондрий в 1,1 раза (таблица 1).

Длина крист митохондрий в гистаминергических нейронах на все исследованные сроки постнатального развития у крыс, перенесших антенатальную алкоголизацию, значительно уменьшена: на 5-е сутки – в 2 раза, на 20-е сутки – в 1,4 раза, на 45-е сутки – в 1,2 раза (таблица 1).

Согласно классификации, предложенной Э. Н. Поповой [12], ультраструктурные изменения в цитоплазме нейронов головного мозга пренатально алкоголизированных животных можно разделить на три категории: задержка созревания некоторых органелл, деструктивные изменения органелл, преобразования, носящие компенсаторный характер. У гистаминергических нейронов выявленные отличия в количестве и структуре митохондрий можно отнести к деструктивным изменениям данных органелл, которые указывают на снижение их функциональной активности [13], что подтверждается описанными нами ранее нарушениями метаболизма гистаминергических нейронов гипоталамуса опытных животных, согласно которым у крыс, перенесших антенатальную алкоголизацию, на разные сроки постнатального развития наблюдается сниженная активность сукцинатдегидрогеназы и экспрессия АТФ-синтазы – маркеров внутренней мембраны митохондрий [14–16].

Следует отметить, изменение функциональной активности митохондрий может выступать в качестве основного пускового фактора в патогенезе некоторых нейродегенеративных расстройств, включая нейродегенерацию центральной нервной системы, вызванную этанолом [4, 9].

**Заключение.** Потребление алкоголя самками крыс во время беременности приводит к значительным ультраструктурным изменениям энергетического аппарата гистаминергических нейронов гипоталамуса их потомства, которые на 5, 20 и 45-е сутки после рождения животных проявляются сниженным количеством митохондрий на единицу площади цитоплазмы клеток, на ранних этапах постнатального онтогенеза (5-е сутки) гипертрофией митохондрий, а в дальнейшем (20-е, 45-е сутки) уменьшением размеров этих органелл, что отражает деструктивные и адаптационные изменения изучаемых нейронов.

*Источники финансирования. Работа выполнена в рамках Гранта БРФФИ «Наука М» на тему «Нарушения развития гистаминергических нейронов мозга у потомства крыс, потреблявших алкоголь во время беременности», договор № M23M-104.*

*Sources of financing. The research was carried out within the frames of the grant from the Belarussian Foundation for Basic Research «Science M» on the topic "Disturbances in the development of histaminergic neurons of the brain in the offspring of rats that consumed alcohol during pregnancy», № M23M-104.*

#### Литература:

- [1]. Haas H., Sergeeva O., Selbach O. Histamine in the nervous system // *Physiol Rev.* 2008. Vol. 88, № 3. P. 1183–1241.
- [2]. Зиматкин С.М. Гистаминергические нейроны мозга. Мн.: Новое знание, 2015. 319 с.
- [3]. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Роль митохондрий в энергетике клетки и характеризующие ее молекулярные маркеры // *Оренбург. мед. вестн.* 2019. Т. 7, № 1 (25). С. 47–52.

- [4]. *Manfredi G., Beal M.F.* The role of mitochondria in the pathogenesis of neurodegenerative diseases // *Brain Pathol.* 2000. Vol. 10, № 3. P. 462–472.
- [5]. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010. Strasbourg: Official Journal of the European Union, 2010. 46 p.
- [6]. *Watson M.L.* Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals // *J Biophys Biochem Cyt.* 1958. Vol. 4, № 4. P. 475–478.
- [7]. *Reynolds E.S.* The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // *J Cell Biol.* 1963. Vol. 17, № 1. P. 208–212.
- [8]. *Омельянченко В.П., Демидова А.А.* Информатика, медицинская информатика, статистика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 608 с.
- [9]. *Ramachandran V, Perez A., Chen J. et al.* In utero ethanol exposure causes mitochondrial dysfunction, which can result in apoptotic cell death in fetal brain: a potential role for 4-hydroxynonenal // *Alcohol Clin Exp Res.* 2001. Vol. 25, № 6. P. 862–871.
- [10]. *Brooks G.A.* Hypoxia: translation in progress. Eds. R.C. Roach, P.H. Hackett, P.D. Wagner. Springer Science+Business Media: New York, 2016. P. 439–455.
- [11]. *Gonchar O., Mankovskaya I.* Effect of moderate hypoxia/reoxygenation on mitochondrial adaptation to acute severe hypoxia // *Acta Biol Hung.* 2009. Vol. 60, № 2. P. 185–194.
- [12]. *Попова Э.Н.* Ультраструктура нейронов и межнейронных связей сенсомоторной коры у потомства алкоголизованных крыс. М.: Науч. мир, 2010. 158 с.
- [13]. *Vukiya A.N.* Fetal cerebral artery mitochondrion as target of prenatal alcohol exposure // *Int J Environ Res Public Health.* 2019. Vol. 16, № 9. P. 1–16.
- [14]. *Заерко А.В., Федина Е.М., Зиматкин С.М.* Морфофункциональное состояние гистаминергических нейронов мозга 45-суточного потомства крыс, потреблявших этанол во время беременности // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та.* 2018. Т. 16, № 6. С.685–689.
- [15]. *Заерко А.В., Федина Е.М., Зиматкин С.М.* // Особенности окислительного метаболизма гистаминергических нейронов мозга 5-суточного потомства крыс, потребляющих этанол во время беременности // *Биохимия и молекулярная биология. Механизмы регуляции процессов жизнедеятельности в норме и патологии* : сб. науч. тр.. Минск. 2019. Вып. 3. С.164–167.
- [16]. *Заерко А.В., Федина Е.М., Зиматкин С.М. и др.* // Иммуногистохимические изменения в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс 45-суточного возраста, перенесших пренатальную алкоголизацию // *Актуальные проблемы медицины* : сб. материалов итоговой науч.-практ. конф.. Гродно. 2023. С. 146–148.

A. V. ZAERKO, E. M. PHEDINA, S. M. ZIMATKIN

**DISORDERS IN THE ENERGY APPARATUS DEVELOPMENT OF THE BRAIN  
HISTAMINERGIC NEURONS IN THE OFFSPRING OF RATS THAT CONSUMED ALCOHOL  
DURING PREGNANCY**

*Educational Establishment “Grodno State Medical University”, Grodno, Republic of Belarus*

**Summary**

It has been established that alcohol consumption by female rats during pregnancy leads to significant ultrastructural changes in the energy apparatus of histaminergic neurons of the hypothalamus of their offspring, which on the 5th, 20th and 45th days after the birth of the animals are manifested by a reduced number of mitochondria per unit area of the cell cytoplasm, in the early stages of postnatal ontogenesis (5th day) by hypertrophy of mitochondria, and later (20th, 45th day) by a decrease in the size of these organelles, which reflects destructive and adaptive changes in the neurons studied.

*Keywords:* histaminergic neurons, brain, mitochondria, prenatal alcoholization.

*А. О. МАРКОВИЧ<sup>1</sup>, Л. В. БАТУРЕВИЧ<sup>2</sup>, Д. М. НИТКИН<sup>2</sup>*

## **ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЧЕЛОВЕКА В МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ, ОКРАШЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ**

<sup>1</sup> *Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup> *Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь*

Бесплодие – одна из мировых проблем, затрагивающая многие страны мира [1]. На первом этапе обследования мужчин спермиологическое исследование является обязательным. Классическая спермограмма включает себя концентрацию и общее количество сперматозоидов, кинезисграмма, определение жизнеспособности и морфологических характеристик спермиев. Морфологические особенности сперматозоидов влияют на фертильность мужчин [2]. Поэтому одним из критериев оценки качества спермы, рекомендованных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), является количество сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками. Так как предложенные методы окраски эякулята с целью дальнейшей оценки морфологических характеристик сперматозоидов не удовлетворяют в полной мере, то остается актуальной стандартизация процедуры окрашивания спермы. В представленной статье приводятся результаты новых методов окраски эякулята при спермиологическом исследовании, дается им оценка для возможного использования в рутинной лабораторной практике.

*Ключевые слова:* эякулят, сперматозоид, морфологическое исследование, головка, шейка, хвостик.

**Введение.** Рост патологии репродуктивных органов мужчин наблюдается во многих странах и сопровождается снижением фертильности [3]. При первичном обследовании пациентов с подозрением на бесплодие исследование эякулята является первоочередным. Основными показателями спермограммы являются такие показатели, как количество сперматозоидов, их концентрация, кинезисграмма. Однако оценка морфологических характеристик сперматозоидов не менее важна и существенно определяет оплодотворяющую способность мужских половых клеток [4]. Поэтому одним из критериев оценки качества спермы, рекомендованных ВОЗ, является количество сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками [2]. При исследовании морфологии сперматозоидов подсчитывают количество половых клеток с дефектами в строении головки, средней части и хвостика. Морфологические характеристики спермиев учитываются и при вспомогательных репродуктивных технологиях, таких как ИКСИ, ЭКО.

В 5-ом издании Руководства по проведению спермиологических исследований (WHO, 2010) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) содержится рекомендация использовать окрашивание по Папаниколау, Шорру или с помощью краски Diff-Quik [4]. Материалы, изложенные в Руководстве ВОЗ, рекомендованы для применения, но не исключают использование в рутинной лабораторной практике других новых методов окраски, которые могут быть более удобными и информативными [4].

Морфологические характеристики эякулята важны при оценке фертильности мужчин и при поиске причин бесплодия. Но оценка морфологии сперматозоидов напрямую зависит

от способа и качества окраски микроскопического препарата. Качественное окрашивание позволяет дифференцировать клеточные элементы эякулята, оценить особенности структурных элементов сперматозоидов при микроскопии. Равномерно окрашенный, не содержащий артефакты (скопления краски и не дифференцируемые элементы), содержащий хорошо просматриваемые участки мазка и хорошо окрашиваемые клеточные структуры (цитоплазмы, ядра, ядерного хроматина и др.) считается мазком качественно окрашенным. Традиционно в клиничко-диагностических лабораториях нашей страны препараты мазков эякулята окрашивают азур-эозином по Романовскому. Во некоторых лабораториях для морфологической оценки эякулята используют краситель Spermac Stain. Красители Diff-Quik, гематоксилин по Папаниколау, Шорру, рекомендованные при спермиологическом исследовании ВОЗ, не получили широкое использование в Республике Беларусь.

Поиск новых методов окраски эякулята, позволит улучшить оценку морфологических характеристик сперматозоидов в рутинной лабораторной практике, стандартизировать процедуру окрашивания спермы, что в перспективе повысит качество спермиологического исследования, а значит улучшит диагностику и лечение мужского бесплодия. Качественные новые методы окраски препаратов эякулята, позволяющие улучшить морфологическую оценку сперматозоидов, важны и для базового исследования, и для компьютерного анализа изображения спермиев в препаратах.

В настоящей статье мы приводим результаты сравнительной оценки морфологических характеристик сперматозоидов человека в микроскопических препаратах, окрашенных различными методами, с целью возможного использования этих методов в рутинной лабораторной практике.

Цель исследования – сравнение использования различных методов окраски препаратов эякулята для морфологической оценки сперматозоидов для подбора более информативного и простого метода окраски в рутинной лабораторной практике.

**Материалы и методы исследования.** Мазки эякулята 30 пациентов фиксировались и окрашивались гематоксилином Майера, гематоксилином Гарриса, гематоксилином Вейгерта, азур-эозином Романовского-Гимзе, азур-эозином по Нохту, красителем-фиксатором эозин метиленовый синий типа Лейшмана, набором красителей Spermac Stain, окраской по Папаниколау.

Приготовленные мазки просматривались и оценивались на световом микроскопе под иммерсией и большим увеличением (10×100). Сравнение окраски сперматозоидов при оценке морфологических характеристик осуществлялось по разработанной нами системе, представленной в таблице 1.

**Таблица 1.** Система сравнительной оценки методов окрашивания препаратов эякулята

Элементы сперматозоидов	Шкала оценки		
	3 (+++)	2 (++)	1 (+)
Головка	Яркое окрашивание. Четкие контуры. Четко видна граница между ядром и акросомой.	Окраска ненасыщенного цвета. Нечеткие контуры. Нет четкой границы между акросомой и ядром. Акросома и ядро одного цвета.	Окраска тусклая или отсутствует. Нет четких контуров. Или окрасился только контур ядра (цитоплазматическая мембрана).
Шейка	Яркое окрашивание, более темного цвета чем ядро. Четкие контуры.	Окраска не насыщенного цвета. Сливается с хвостом и ядром.	Отсутствует окрашивание или окрашены только контуры (цитоплазматическая мембрана).

**Окончание таблицы 1.**

Хвост	Яркое окрашивание темного цвета. Четкие контуры.	Бледное окрашивание. Сливается с шейкой.	Прозрачный, не окрашен. Не виден.
Круглые клетки	Окраска яркая, четкая граница ядра. Клетки хорошо дифференцируются.	Окраска бледная. Нет четкой границы ядра клетки. Клетки плохо дифференцируются.	Не окрасились или имеют вид бесструктурных не дифференцируемых элементов.

В препаратах эякулята проводилась оценка качества окрашивания головки, шейки и хвостика сперматозоидов, и возможность дифференцировки круглых клеток. Каждому оцениваемому элементу присваивали от 1 до 3 баллов согласно критериям, представленным в таблице 1. В одном препарате оценивали до 200 сперматозоидов и 5–10 круглых клеток. Находили среднее значение баллов каждого оцениваемого элемента в одном мазке одного пациента, и затем в мазках всех пациентов, окрашенных определенным красителем. Методы окраски сравнивались по количеству набранных баллов.

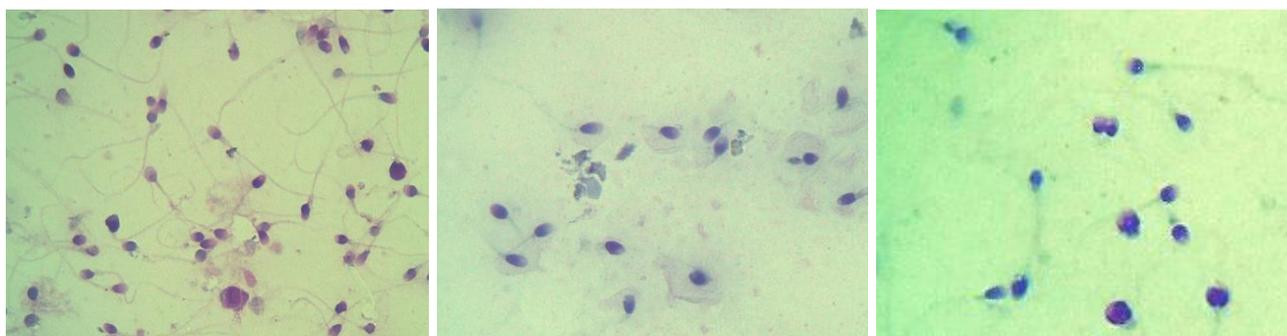
**Результаты и их обсуждение.** Мазки эякулята (по несколько мазков одного пациента) готовились на чистых предметных стеклах. Часть мазков после полного высыхания при комнатной температуре фиксировались неразведенным раствором фиксатора-красителя эозин метиленовый синий по Май-Грюнвальду в течение 3 минут, а часть мазков подвергалась влажной фиксации: препарат слегка подсушивался до исчезновения влажного блеска, а затем помещался в 96 % раствор этанола на 15 минут. После фиксации препараты промывались водопроводной водой и окрашивались.

*Окраска красителем азур-эозин по Романовскому.*

Перед окраской готовили рабочий раствор красителя: смешивали 9 мл дистиллированной воды, 1 мл азур-эозина по Романовскому и 0,1 мл фосфатного буфера.

Фиксированные фиксатором-красителем по Май-Грюнвальду мазки эякулята помещали в свежеприготовленный рабочий раствор красителя на 25 минут. По истечению времени препараты промывали водопроводной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных красителем азур-эозин по Романовскому представлены на рисунке 1.



**Рисунок 1.** Препараты эякулята, окрашенные красителем азур-эозином по Романовскому. Увеличение x100

Ядра, шейка и хвостик сперматозоида окрашиваются в фиолетовые оттенки, область акросомы окрашивается в серо-розовый цвет. В мазках эякулята, окрашенных красителем азур-эозином по Романовскому головки сперматозоидов прокрашивались не четко, пограничная зона между акросомой и ядром просматривалась плохо или вообще не окрашивались, плохо окрашивались шейка и хвостик половых клеток. Круглые клетки (лейкоциты, клетки сперматогенеза и остаточные тельца) различимы, но их дифференцировка часто затруднена.

*Окраска набором красителей Spermac Stain (Испания).*

Окраска проводилась согласно инструкции, прилагаемой к набору. Свежеприготовленные препараты помещались в фиксатор, имеющийся в наборе, на 5 минут. Перед окрашиванием после фиксации мазки просушивали и затем промывали дистиллированной водой. При окрашивании препараты последовательно помещали в краситель А (красный) на 2 минуты, в краситель В (бледно-зеленый) на 1 минуту, в краситель С (темно-зеленый) на 1 минуту. Между погружением в красители препараты эякулята промывали водопроводной водой. После процедуры окрашивания препараты высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных красителем Spermac Stain представлены на рисунке 2.



**Рисунок 2.** Препараты эякулята, окрашенные красителем Spermac Stain. Увеличение x100

При окрашивании красителем Spermac Stain ядра сперматозоидов окрашивались в красный цвет, средняя часть и хвостик в зеленый цвет. Акросома окрашивалась в темно-зеленый цвет. Граница между акросомой и ядром хорошо просматривается, но не всегда можно добиться четкого окрашивания всех клеточных элементов, особенно головок половой клетки. Неплохо визуализируются лейкоциты, клетки сперматогенеза, но часто их дифференцировка затруднена.

*Окрашивание гематоксилином Гарриса.*

Препараты после влажной фиксации помещали в гематоксилин Гарриса на 5 минут, после чего промывали проточной и дистиллированной водой в течение 7 минут. Просушенные препараты помещали в водный раствор 10 % эозина на 10 минут. После окрашивания препараты промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных гематоксилином Гарриса представлены на рисунке 3.



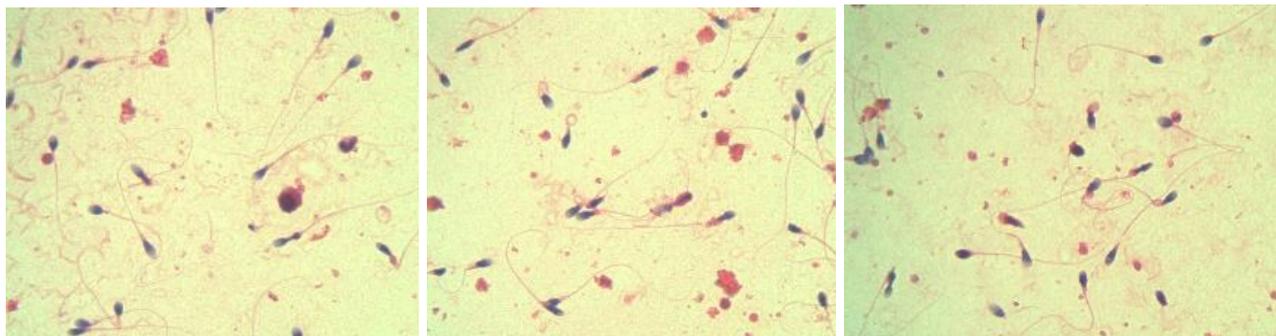
**Рисунок 3.** Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Гарриса. Увеличение x100

При окрашивании гематоксилином Гарриса ядра сперматозоидов окрашивались в светлые сине-фиолетовые цвета, акросомальная часть, шейка и хвостик имели розовый цвет. Граница между акросомой и ядром хорошо просматривалась. Хорошо визуализировались и дифференцировались круглые клетки.

*Окрашивание гематоксилином Майера.*

Препараты после влажной фиксации помещали в гематоксилин Майера на 7 минут, затем промывали проточной водой в течение 5 мин. После просушивания препараты помещали в водный раствор 10 % эозина на 10 минут. После окрашивания предметные стекла с мазками промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных гематоксилином Майера представлены на рисунке 4.



**Рисунок 4.** Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Майера. Увеличение x100

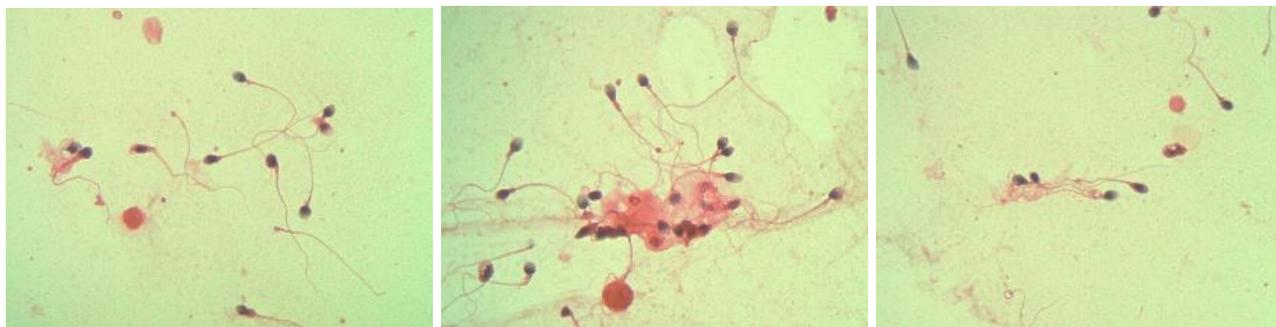
При окрашивании гематоксилином Майера ядра сперматозоидов окрашивались в сине-фиолетовые оттенки, акросомальная часть, шейка и хвостик имели розовый цвет. Граница между акросомой и ядром не всегда хорошо просматривалась. Круглые клетки окрашивались, но не всегда хорошо дифференцировались.

*Окрашивание гематоксилином Вейгерта.*

Перед окраской готовили рабочий раствор по инструкции: смешивали по 10 мл раствора гематоксилина Вейгерта А и В.

Приготовленные препараты после влажной фиксации помещали в рабочий раствор гематоксилина Вейгерта на 7 минут. После гематоксилина Вейгерта препараты промывали дистиллированной водой в течении 5 минут, просушивали и помещали в водный раствор 10 % эозина на 10 минут. После окрашивания препараты промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных гематоксилином Вейгерта представлены на рисунке 5.



**Рисунок 5.** Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Вейгерта. Увеличение x100

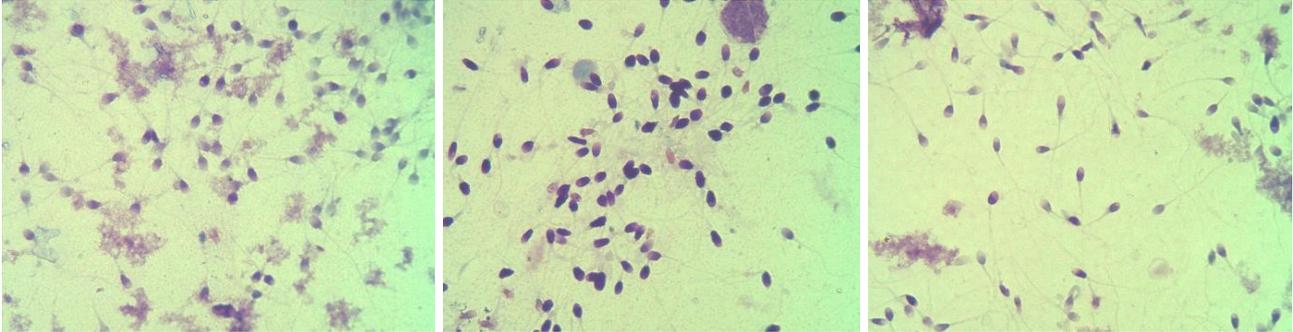
При окраске гематоксилином Вейгерта ядра сперматозоидов окрашивались в сине-черный цвет, другие элементы половых клеток в розовый. Граница между акросомой и ядром просматривалась плохо. Круглые клетки в мазке плохо дифференцировались.

*Окрашивание азур-эозином по Нохту.*

Перед окраской готовили рабочий раствор: смешивали 9 мл эозина Н, 8 мл азура II и 20 мл фосфатного буфера.

Препараты, зафиксированные раствором фиксатором-красителем по Май-Грюнвальду, помещали в рабочий раствор на 15 минут. После препараты промывали водопроводной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных азур-эозином по Нохту представлены на рисунке 6.



**Рисунок 6.** Препараты эякулята, окрашенные азур-эозином по Нохту. Увеличение x100

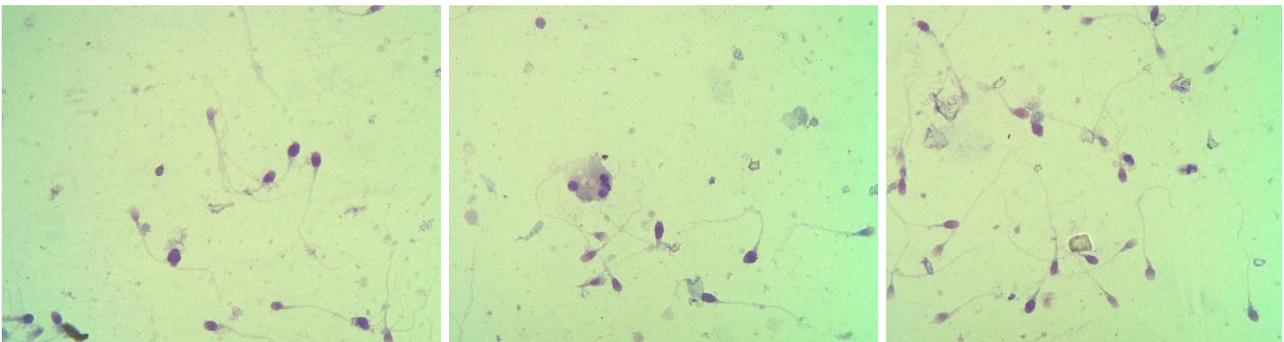
При окраске азур-эозином по Нохту ядра сперматозоидов окрашивались в сине-фиолетовый цвет, другие элементы половых клеток в розовый. Граница между акросомой и ядром не всегда была четкой, хвостик и шея не всегда хорошо просматривались. Круглые клетки эякулята хорошо окрашиваются и подвергались дифференцировке.

*Окрашивание азур-эозином по Лейшману.*

Перед окраской готовили рабочий раствор красителя: смешивали 10 мл краситель-фиксатор эозин метиленовый синий типа Лейшмана с 5 мл фосфатного буфера.

Приготовленные и высушенные препараты эякулята фиксировали раствором Лейшмана в течении 3 минут, затем промывали водопроводной водой, подсушивали и помещали в приготовленный рабочий раствор Лейшмана на 15 минут. После окрашивания препараты промывали водопроводной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных азур-эозином по Лейшману представлены на рисунке 7.



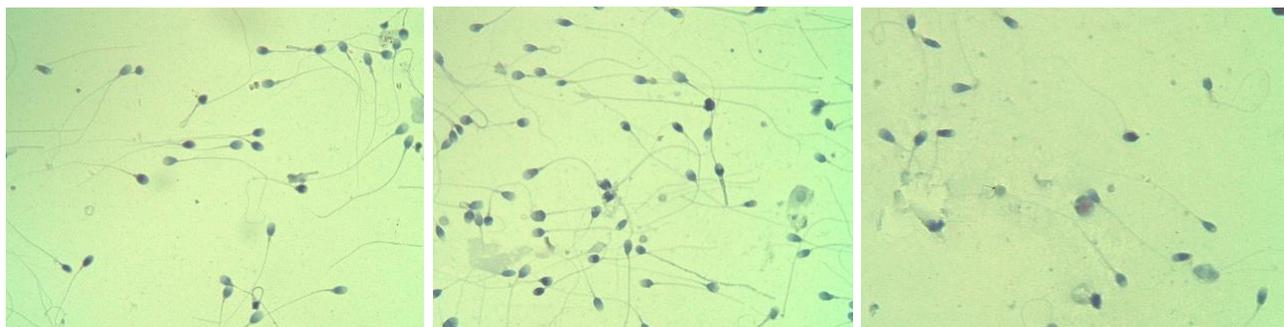
**Рисунок 7.** Препараты эякулята, окрашенные азур-эозином по Лейшману. Увеличение x100

При окраске азур-эозином по Лейшману ядра окрашивались в фиолетовый цвет, шейка, акросомальная часть и хвостик окрашивались в светло фиолетовый. Ядро и граница между акросомой и ядром в окрашенных препаратах просматривалось плохо. Хвостик и шейка во многих препаратах не прокрашивались. Четкое разделение круглых клеток на популяции было затруднено.

*Окрашивание по Папаниколау.*

Препараты перед окраской по Папаниколау были зафиксированы влажным методом. Затем предметные стекла с мазками последовательно обрабатывали в течение 2 минут 95 % раствор этанола, промывали 2 минуты водопроводной водой, помещали на 1 минуту в раствор Папаниколау, после опять промывали водопроводной водой в течении 5 минут. Затем препарат поочередно помещали на 15 секунд в 95 % этанола, на 2 минуты в раствор Папаниколау ОГ6, дважды на 15 секунд в 95 % этанола, на 5 минут в раствор Папаниколау ЕА50 и на 15 секунд в 95 % этанола. После процедуры окрашивания препараты высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных по Папаниколау представлены на рисунке 8.



**Рисунок 8.** Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином по Папаниколау. Увеличение x100

При окраске по Папаниколау ядра окрашивались в фиолетовый цвет, шейка, акросомальная часть и хвостик окрашивались в голубой. Окрашивание было не четкое. Круглые клетки хорошо дифференцировались.

Препараты эякулята пациентов, окрашенные разными наборами красителей, оценивались по разработанной нами системе, представленной в таблице №1. Результаты сравнения представлены в таблице 2.

**Таблица 2.** Результаты сравнения методов окрашивания эякулята

Методы окрашивания	Сперматозоид				
	Головка	Шейка	Хвостик	Круглые клетки	Время окраски с фиксацией
Азур-эозин по Романовскому	2,87	1,24	1,15	2,14	28 мин
Азур-эозином по Лейшману	1,75	1,5	2,0	1,80	18 мин
Азур-эозином по Нохту	2,7	1,2	1,14	2,2	18 мин
Гематоксилин. Гарриса	2,81	2,78	2,71	2,19	37 мин
Гематоксилин. Майера	2,82	2,77	2,84	1,88	37 мин
Гематоксилин. Вейгерта	2,72	2,77	2,85	1,60	37 мин
Гематоксилин Папаниколау	2,61	1,99	1,86	2,75	33 мин
Красителей Spermac Stain	2,43	2,78	2,81	1,88	20 мин

Согласно данным, представленным в таблице 2, головки сперматозоидов лучше окрашиваются азур-эозином по Романовскому и хуже азур-эозином по Лейшману (2,87 и 1,75 баллов соответственно). Шейка сперматозоидов окрашивается лучше всего красителями гематоксилином Гарриса и Spermac Stain, а азур-эозином по Нохту хуже всего (2,78 и 1,2 баллов соответственно). Краситель Вейгерта по сравнению с другими красителями наиболее чётко окрашивает хвостики сперматозоидов (2,85 баллов), а азур-эозин по Нохту хуже (1,14 баллов). Круглые клетки лучше окрашиваются гематоксилином Папаниколау (2,75 баллов), и менее чётко гематоксилином Вейгерта (1,60 балла).

Так как распределение данных таблицы 2 является нормальным и значительных выбросов данных нет, то для вычета среднего уровня различных показателей, мы использовали такой показатель, как среднее значение.

**Таблица 3.** Среднее значение ( $\mu$ ) балльной оценки элементов сперматозоида, окрашенного разными методами окрашивания

Методы окрашивания	Среднее значение ( $\mu$ )
Азур-эозин по Романовскому	1,85
Азур-эозином по Лейшману	1,76
Азур-эозином по Нохту	1,81
Гематоксалин Гарриса	2,62
Гематоксалин Майера	2,58
Гематоксалин Вейгерта	2,48
Окраска по Папаниколау	2,30
Краситель Spermac Stain	2,50

Анализируя данные таблицы 3, можно сделать следующие вывод, что лучше всего окрашиваются препараты эякулята гематоксилинами Гарриса, Майера и красителем Spermac Stain (2,62, 2,58 и 2,5 баллов соответственно). Чуть хуже окрашиваются препараты спермы гематоксилином Вейгерта (2,48 баллов) и гематоксилином по Папаниколау (2,3 балла). Качество окрашивания азур-эозином по Романовскому и Нохту сопоставимы (1,85 и 1,81 баллов соответственно). И хуже всего качество окрашивания наблюдалось в препаратах, окрашенных азур-эозином по Лейшману (1,76 баллов).

Во многих красителях, широко распространённых и используемых в лабораториях при окраски цитологических препаратов, основными элементами являются гематоксалин, азур, а также их сочетание, и дополнительные элементы, такие как хлорид железа, алюмокалиевые квасцы, калий йодат и другие, которые могут влиять на окрашивание элементов эякулята.

В готовом окрашенном препарате наблюдается определенное химическое сродство отдельных клеточных структурных элементов с составными частями красителя. Так, например, окрашивание цитоплазмы клеток происходит в результате связывания оснований и белков кислотными красителями [5].

Двойное окрашивание гематоксилиновыми красителями и раствором эозина, а также азур-эозиновыми красителями дает хорошую ядерную окраску вследствие чего хорошо просматривается структура хроматина, с дополнительной окраской цитоплазмы и других структурных клеточных элементов. Использование гематоксилин-эозиновых и азур-эозиновых красителей хорошо визуализирует присутствие бактериальная флора и простейшие в мазках эякулята.

Большое влияние на качество окраски препаратов эякулята оказывает также способ фиксации. При влажной фиксации хорошо сохраняются ядра, клеточная мембрана и хорошо визуализируются клеточные структурные элементы.

Краситель Spermac Stain хорошо себя зарекомендовал при спермиологическом исследовании. При его использовании хорошо визуализируются все элементы сперматозоида (головка, шейка, хвостик), хорошо просматривается граница акросомы и ядра. Но ядра некоторых сперматозоидов в одном препарате, а в препаратах эякулята некоторых пациентов у большинства сперматозоидов не всегда хорошо прокрашиваются и имеют четкий красный цвет. Это зависит, как мы считаем, от свойств эякулята (присутствия лейкоцитов, слизи и других элементов) и от особенностей строения мембраны половых клеток. Круглые клетки в препаратах, окрашенных красителем Spermac Stain дифференцируются плохо, что является одним из недостатков данного красителя.

При окрашивании препаратов эякулята гематоксилинами Майера и Гарриса хорошо прокрашиваются все части сперматозоидов. Головка, шейка и хвостик половой клетки имеют четкие границы, хорошо просматривается акросома и граница с ядром. В препаратах, окрашенных гематоксилинами Гарриса хорошо дифференцируются круглые клетки, а при окраске гематоксилином Майера дифференциация круглых клеток несколько затруднена. При использовании гематоксилина Вейгерта оценка морфологических характеристик сперматозоидов затруднена из-за нечетких границ клеточных элементов и границы акросомы и яда. При использовании гематоксилинов Гарриса, Майера и Вейгерта при окрашивании препаратов эякулята необходимо учитывать, что длительность окрашивания мазков не должна превышать 5–7 минут. При увеличении длительности окрашивания происходит повреждение сперматозоидов - отделение головки от шейки, разрыв хвостиков – что существенно затрудняет морфологическую оценку гаметоцит. Кроме того, часто при использовании данных красителей наблюдается выпадение элементов красок в препарате, что также может повлиять на спермиологическое исследование и затруднить анализ и интерпретацию данных.

Окраска азур-эозином по Романовскому, Нохту и гематоксилином по Папаниколау сопоставима и также может использоваться при исследовании эякулята. Но при использовании данных методов окраски часто нет четкости при визуализации элементов мазка. Границы, структурные элементы головки и шейки не всегда четкие. Хорошо окрашивается хвостик сперматозоидов и круглые клетки эякулята, которые хорошо дифференцируются. Необходимо отметить, что при окрашивании гематоксилином по Папаниколау наблюдается чистый фон мазка, что в значительной степени облегчает морфологическую оценку сперматозоидов.

Наиболее затруднена морфологическая оценка эякулята при использовании азур-эозина по Лейшману. При данном способе окрашивания головка сперматозоидов и ее структурные элементы прокрашиваются плохо. Хвостик и шейка сперматозоидов прокрашивается хорошо. Дифференциация круглых клеток затруднена.

Окрашивание препаратов эякулята оказывает влияние на морфологические характеристики сперматозоидов и их морфометрию, оцениваемые при световой микроскопии. Это необходимо учитывать при рекомендации использования каких-либо методов окраски данного биоматериала в рутинной лабораторной практике. Качество морфологического анализа сперматозоидов влияет на диагностику и последующее лечение при инфертильных состояниях, а также на принятие решения об использовании вспомогательных репродуктивных технологий [6]. В последующем мы планируем оценить морфометрические характеристики половых клеток в препаратах, окрашенных рекомендованными нами методами окраски для сопоставления с известными критериями «идеального сперматозоида», рекомендованными ВОЗ, но разработанные для препаратов, окрашенных по Папаниколау.

**Заключение.** Сравнение различных методов окрашивания препаратов эякулята для последующей оценки морфологических характеристик сперматозоидов показало, что методы окрашивания эякулята наборами Гематоксилин Гарриса, Майера, Вейгерта и набором красителей Spermac Stain дают сопоставимые результаты, являются взаимозаменяемыми и могут использоваться в рутинной лабораторной практике.

В случае использования влажной фиксации целесообразно использовать методы окрашивания наборами Гематоксилин Гарриса, Майера, Вейгерта и Папаниколау.

Краситель азур-эозин по Лейшману недостаточно адекватно окрашивает сперматозоид и затрудняет морфологическую оценку эякулята.

#### Литература:

- [1]. Ниткин Д.М., Ракевич М.В., Юрага Т.М. и др. Мужское бесплодие: методы диагностики и консервативного лечения: учеб.-метод. Пособие. – Минск.: БелМАПО, 2016. 43с.
- [2]. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью: переведено с англ. М.: Капитал принт // Всемирная Организация Здравоохранения. № 5. 2010. 54 с.
- [3]. Коломиец А.О., Батуревич Л. В. Сравнительный анализ методов окрашивания эякулята // Новости медико-биологических наук. 2024. Т. 24, № 2. С.124–129.
- [4]. WHO Manual for the Examination and Processing of human semen // World Health Organization. Vol. 6. 2021. P. 49–60.
- [5]. Горбунова Т.К. Применение гематоксилина в микроскопической технике // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. 2008. Т. 7, № 1. С. 30–33.
- [6]. Czubaszek M., Andraszek K., Banaszewska D., Walczak-Jędrzejowska R. The effect of the staining technique on morphological and morphometric parameters of boar sperm // PLoS One. 2019. Vol. 14. № 3. P. e0214243.

A. O. MARKOVICH<sup>1</sup>, L. V. BATUREVICH<sup>2</sup>, D. M. NITKIN<sup>2</sup>

#### ASSESSMENT OF HUMAN SPERM MORPHOLOGY IN MICROSCOPIC SAMPLES STAINED BY VARIOUS METHODS

<sup>1</sup> *Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup> *Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

#### Summary

Infertility is one of the global problems affecting many countries [1]. At the first stage of examination of men, spermiological examination is mandatory. Classic spermogram includes concentration and total number of spermatozoa, kinesisgram, determination of viability and morphological characteristics of sperm. Morphological features of spermatozoa affect male fertility [2]. Therefore, one of the criteria for assessing the quality of sperm recommended by the World Health Organization (WHO) is the number of spermatozoa with normal morphological characteristics. Since the proposed methods of staining the ejaculate for the purpose of further assessing the morphological characteristics of spermatozoa do not fully satisfy, standardization of the sperm staining procedure remains relevant. The presented article presents the results of new methods of staining the ejaculate in spermiological research, and evaluates them for possible use in routine laboratory practice.

*Keywords:* ejaculate, spermatozoon, morphological study, head, neck, tail.

УДК [612.36+612.33]:616.36-008.6:616.89-008.441.13

*В. М. ШЕЙБАК, И. В. НИКОЛАЕВА, В. Ю. СМИРНОВ, О. Б. ОСТРОВСКАЯ,  
Р. И. КРАВЧУК, С. А. ОСТРОВЦОВА*

## **ВКЛАД ТОНКОГО И ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА В АМИНОКИСЛОТНЫЙ ДИСБАЛАНС ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

*Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

В работе приведен анализ структуры микробно-тканевого комплекса тонкого, толстого кишечника, а также аминокислотного фонда печени крыс после однократного внутрижелудочного введения этанола в дозе 4,5 г/кг массы. Гистологический анализ препаратов тощей кишки у крыс, получавших этанол, показал умеренное повышение наполнения секретом бокаловидных клеток крипт и ворсинок слизистой оболочки, а также выраженное утолщение гликопротеинсодержащего слоя, покрывающего боковые поверхности ворсинок. Анализ аминокислотного фонда в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника этих животных выявил снижение концентрации треонина, ключевой аминокислоты для синтеза муцинов и формирования гликокаликса, а также белков, необходимых для пролиферации клеток и осуществления межклеточных коммуникаций (глицин, цистатионин, орнитин, аланин и фосфоэтанолламин). При этом в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника регистрировали увеличение численности условно-патогенных лактозонегативных бактерий группы кишечной палочки, а также анаэробных спорообразующих бактерий на фоне обеднения популяции лактозопозитивных энтеробактерий. Анализ концентраций свободных аминокислот и их производных в исследуемых тканях выявил выраженный аминокислотный дисбаланс, во многом обусловленный (как показал корреляционный анализ) изменениями, наблюдаемыми в толстом кишечнике.

*Ключевые слова:* этанол, кишечник, печень, свободные аминокислоты.

**Введение.** Абсорбция этанола в желудочно-кишечном тракте осуществляется через слизистую оболочку путем простой диффузии, в основном (70 %) – в тонком кишечнике. Метаболизм алкоголя начинается в клетках кишечника, но, главным образом, происходит в гепатоцитах, алкогольдегидрогеназами (ADH), каталазой или цитохромом P450 2E1 до ацетальдегида, который затем окисляется до ацетата альдегиддегидрогеназой (ALDH) [3]. При умеренном потреблении алкоголя 90 % его метаболизируется за счет окислительного превращения ферментами алкогольдегидрогеназы, в то время как микросомальная этанол-окислительная система (MEOS) обрабатывает оставшиеся 10 %. Последний путь приобретает большее значение при значительном увеличении потребления алкоголя. В свою очередь, именно MEOS приводит к образованию свободных радикалов кислорода, которые могут вызывать повреждение клеток. Помимо печени, ферменты, участвующие в окислительном метаболизме алкоголя, присутствуют в слизистой оболочке кишечника, поскольку кишечные бактерии производят ацетальдегид [17].

Исследования показали, что дисбиоз кишечника, который сопровождается чрезмерным ростом грамотрицательных бактерий, может быть вызван токсическим действием этанола или косвенными механизмами, такими как изменение перистальтики кишечника, выделением желудочного сока, нарушенным метаболизмом желчных кислот и повышением pH в просвете кишечника [3, 12, 15, 20, 21]. Поступление этанола изменяет биоразнообразие кишечного микробиоценоза и приводит к резким колебаниям структуры микробиоценоза, способствуя развитию дисбактериоза и воспалению кишечника [6, 14, 25]. При различных экспериментальных вариантах введения этанола у животных наблюдается

тенденция к уменьшению количества бактерий с противовоспалительной активностью, таких как типы Bacteroidetes и Firmicutes, и увеличению количества бактерий с провоспалительной активностью (Proteobacteria) [14, 25]. В отличие от хронического употребления алкоголя, экспериментальные модели интенсивной алкоголизации не показывают однозначных результатов даже при использовании аналогичных экспериментальных дизайнов [9, 22].

Интенсивная алкоголизация приводит к нарушению целостности кишечного барьера, что в сочетании с повреждением слизистой оболочки, увеличивает его проницаемость [25]. Метаболиты этанола (ацетальдегид), а также провоспалительные изменения микробиома кишечника подавляют экспрессию белков плотных контактов, в результате чего эпителиальный слой становится более проницаемым. Таким образом, токсическое действие этанола дополняется перемещением бактерий или компонентов микробных мембран в кровотоки [16, 18, 25].

Основные продукты ферментации пищевых волокон, короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК, ацетат, пропионат и бутират), считаются одним из основных прямых или косвенных посредников взаимодействия микробиоты, кишечника и мозга. Наибольшая продукция КЦЖК происходит в проксимальном отделе толстой кишки, где они быстро и эффективно всасываются, поскольку с фекалиями выводится только 10 % образующихся соединений [10, 13]. Следует отметить, что поступление этанола вызывает существенные изменения транспортных потоков аминокислот в кишечнике, которые во многом определяются продолжительностью и интенсивностью алкогольной интоксикации [6, 7].

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты проведены на белых беспородных крысах массой 180–220 г, при свободном доступе животных к пище и воде, которые находились на стандартном рационе вивария. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». На данное исследование получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета. Животные разделены на две группы. Контрольной группе внутрижелудочно вводили 1 мл на 100 г/массы физиологического раствора NaCl. Опытной группе – 25 % раствор этанола в дозе 4,5 г/кг массы тела однократно. Декапитацию животных осуществляли через сутки. Для анализа использовали печень и микробно-тканевый комплекс тонкого и толстого кишечника [1]. Бактериологическое исследование проводили по стандартной методике [2]. Образцы тканей для определения свободных аминокислот забирали и замораживали в жидком азоте. Количественная и качественная идентификация свободных АК и их дериватов проводилась методом обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм) [2]. Образцы тонкого кишечника фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 и 10 мкм окрашивали гематоксилином-эозином, содержание мукополисахаридов оценивалось ШИК-реакцией. Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (Leica DFC 320, Германия) и программы анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Все полученные данные подвергнуты статистической обработке. Анализ данных выполнен с использованием пакета программ Statistica 6.0.437.0 (серийный номер 31415926535897) и Microsoft Excel 2002 (10.2701.2625) (серийный номер 54521-750-6140064-17384). Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента корреляции (r) Спирмена.

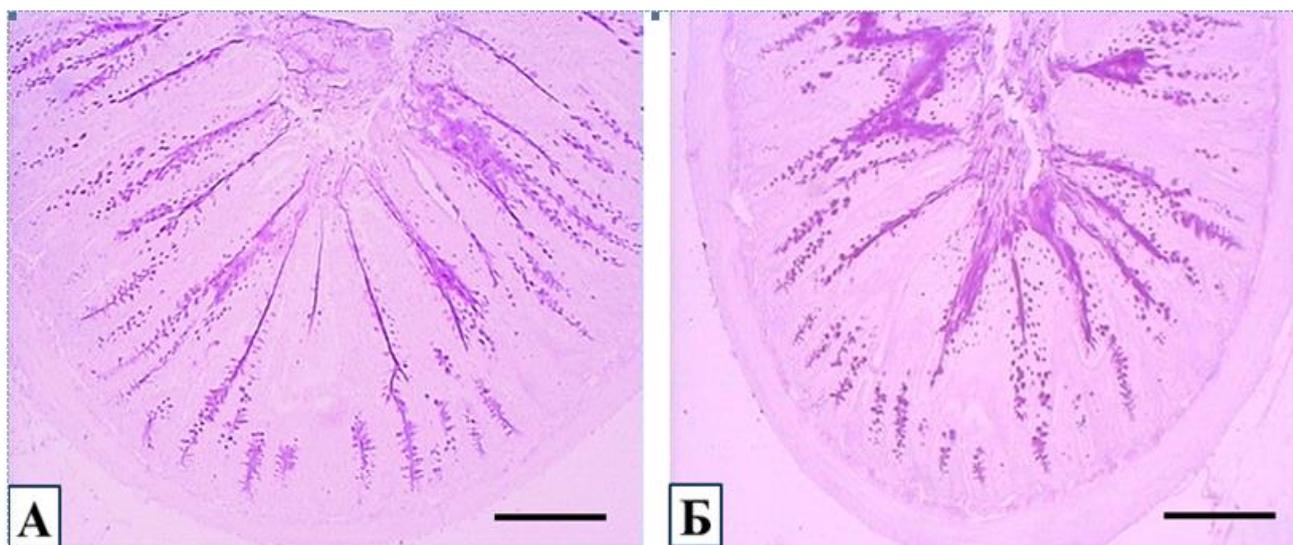
**Результаты и их обсуждение.** Однократное внутрижелудочное введение этанола в дозе 4,5 г/кг массы приводило к снижению в муциновом слое толстого кишечника численности лактоза-позитивных бактерий группы кишечной палочки (БГКП) (на 41 %), при повышенном содержании условно-патогенных лактоза-негативных энтеробактерий (на 59 %), а также анаэробной спорообразующей флоры (на 16 %). Следует отметить, что количество лактобактерий и бифидобактерий достоверно не изменялась (таблица 1).

**Таблица 1.** Изменения пристеночной микрофлоры толстого кишечника крыс при внутрижелудочном однократном введении этанола в дозе 4,5 г/кг (нмоль/г ткани, Ме (25;75%))

Изучаемый показатель	Содержание живых бактерий в микробно-тканевом комплексе, lg КОЕ/г., (Ме (25;75%))	
	Контроль	Этанол 1
БГКП (лактозапозитивные)	6,6 (5,41; 6,67)	3,9* (2,70; 3,95)
БГКП (лактозанегативные)	3,2 (2,95; 3,09)	4,8* (4,08; 4,85)
Общее число аэробов	6,7 (5,71; 6,85)	5,8 (5,60; 6,34)
Лактобактерии	5,0 (4,78; 5,15)	5,3 (5,08; 5,78)
Общее количество спорообразующих анаэробов (кlostридии)	5,6 (5,60; 6,00)	6,5* (6,30; 7,30)
Бифидобактерии (по наличию в мазке из соответствующего разведения)	6,8 (6,30; 6,95)	6,6 (6,08; 6,85)

Примечание: \* – отмечены статистически значимые отличия  $p \leq 0,05$

Гистологический анализ препаратов тощей кишки показал, что в контрольной и в опытной группе не наблюдалось существенных изменений в собственно слизистой оболочке, кровеносных сосудах и мышечном слое стенки тонкого кишечника. Вместе с тем, отмечается умеренное повышение наполнения секретом бокаловидных клеток крипт и ворсинок слизистой оболочки, а также выраженное утолщение гликопротеинсодержащего слоя, покрывающего боковые поверхности ворсинок (рисунок 1).



**Рисунок 1.** Стенка тощей кишки. А – «Контроль», Б – «Этанол». Окраска гематоксилином и эозином. Мерный отрезок 200 мкм

Через сутки после однократного введения этанола в дозе 4,5 г/кг массы в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника происходит увеличение содержания треонина (на 41 %) при одновременном снижении уровней глицина (на 38 %) и аланина (на 10 %), что отразилось на уменьшении индекса заменимые/незаменимые аминокислоты (на 15 %), свидетельствующий о преимущественном вкладе незаменимых аминокислот в обогащении аминокислотного пула энтероцитов тонкого кишечника. Повышение пула треонина является доказательством торможения его использования для биосинтеза муцинов кишечника [11]. Одновременно, ниже контрольных значений регистрировали концентрации фосфоэтаноламина (на 30 %), что свидетельствует о влиянии этанола на метаболизм фосфолипидов в мембранах энтероцитов, влекущее за собой изменения в транспорте нутриентов [24]. Обнаружено значительное снижение концентрации цистатионина (на 34 %)

привело к повышению метаболического индекса серин/цистатинин (13,5 против 7,6 в контроле), который отражает нарушения метаболизма аминокислот, предшественников метионина и цистеина по пути транссульфирования [11].

Кишечник, один из органов (кроме печени), содержащих все ферменты цикла мочевинообразования и снижение уровня орнитина (на 45 %), возможно, свидетельствует о повышенной его утилизации для детоксикации аммиака или переключение метаболизма аммиака на синтез глутамина с помощью фермента глутаминсинтетазы [4]. Одновременно, орнитин может быть использован для продукции полиаминов, необходимых для регенерации энтероцитов. Неметаболизируемые в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника для синтеза белка аминокислоты катаболизируются, о чем свидетельствует увеличение концентрации  $\alpha$ -аминомасляной кислоты (на 95 %), которая является продуктом окислительной деградации аминокислот [20] (таблица 2).

**Таблица 2.** Концентрации свободных аминокислот и азотсодержащих производных в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника крыс, получавших этанол однократно в дозе 4,5 г/кг (нмоль/г ткани, Ме (25;75%), представлены только статистически значимые отличия

Показатели	Контроль	Этанол (4,5 г/кг)
Треонин	550 (443; 625)	775* (633; 812)
Глицин	768 (641; 1085)	475*(455;530)
Фосфоэтаноламин	589 (388;927)	410* (337; 551)
Цистатинин	70,2 (62,21; 74,89)	46,2* (32,69;55,78)
Аланин	1301 (1251;1561)	1182* (1030; 1293)
$\alpha$ -аминомасляная кислота	6,0 (4,49; 8,75)	11,7* (9,90; 16,27)
Орнитин	130 (114;144)	72,2* (69,00;80,93)
Соотношение заменимые.незаменимые	2,7 (2,40; 3,29)	2,3 (1,96; 2,36)
Соотношение серин/цистатинин	7,6 (6,32; 8,05)	9,38* (8,16;13,45)

Примечание: \* – отмечены статистически значимые отличия  $p \leq 0,05$

*Толстый кишечник.* Через сутки после однократного внутрижелудочного введения этанола в дозе 4,5 г/кг массы в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника происходит увеличение концентрации треонина (на 43 %), цитруллина (на 64 %),  $\beta$ -аминомасляной кислоты (на 58 %),  $\alpha$ -аминомасляной кислоты (на 91 %). Одновременно ниже контрольных значений были концентрации цистатинина (на 37 %), фосфоэтанолamina (на 31 %), гидроксизина (на 42 %). Повышение концентрации цитруллина отразилось на метаболическом соотношении аргинин/цитруллин, которое регистрировали выше контроля (в 3 раза). Одновременно были увеличены соотношения серин/цистатинин (на 63 %) и метионин/цистатинин (на 59 %) (таблица 3). Как показывают данные литературы, увеличение концентрации свободного треонина может свидетельствовать о снижении наработки бокаловидными клетками муцина. Повышение количества азотсодержащих метаболитов аминокислот свидетельствует об использовании микрофлорой внутрикишечных аминокислот в качестве источника азота. Активация пролиферации микробиома подтверждается увеличением количества цитруллина [11]. Снижение уровня цистатинина указывает на возможное торможение в энтероцитах пути транссульфирования и снижение синтеза цистеина (а в последующем и глутатиона).

**Таблица 3.** Концентрации свободных аминокислот и азотсодержащих производных в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника крыс, получавших этанол однократно в дозе 4,5 г/кг (нмоль/г ткани, Ме (25;75%), представлены только статистически значимые отличия

Показатели	Контроль	Этанол (4,5 г/кг)
Треонин	532,4 (427;572)	763* (686;842)
Цистатионин	107 (90,36;114,58)	67,3* (51,05;77,85)
Цитруллин	39,5 (33,07;49,11)	14,1* (11,87;19,53)
бАВА	2,9 (2,13;4,11)	4,7* (3,94;5,22)
$\alpha$ -аминомасляная кислота	15,9 (13,37;19,94)	30,3* (24,76;32,44)
Фосфозтаноламин	877 (758;969)	608* (438;689)
Гидроксилизин	155 (121;192)	88,9* (81,55;95,87)
Показатели	Контроль	Этанол (4,5г/кг)
Треонин	532,4 (427;572)	763* (686;842)

Примечание: \* – отмечены статистически значимые отличия  $p \leq 0,05$

*Печень.* Через 24 часа после внутрижелудочного поступления этанола в печени увеличивалось суммарное количество азотсодержащих производных и метаболитов аминокислот (на 20 %,  $p = 0,02$ ), что привело к снижению индекса протеиногенные аминокислоты/производные (на 34 %). Несмотря на отсутствие колебаний индивидуальных концентраций незаменимых аминокислот, наблюдали тенденцию к повышению их общей суммы (1533 нмоль/г и 1908 нмоль/г, соответственно), что отразилось на уменьшении индекса заменимые/незаменимые аминокислоты (на 19 %). Аналогичным образом были снижены концентрации заменимых аминокислот: глутамата и аланина (на 26 и 27 %), аргинина (на 31 %), гистидина (на 42 %); на фоне увеличения уровней глицина (в 2,5 раза), а также небелковых аминокислот: таурина (на 37 %), гомосерина (на 74 %), цистатионина (на 69 %),  $\alpha$ -аминомасляной кислоты (в 2,6 раза) (таблица 4).

**Таблица 4.** Концентрации свободных аминокислот и азотсодержащих производных в печени крыс, получавших этанол однократно в дозе 4,5 г/кг (нмоль/г ткани, Ме (25;75%), представлены только статистически значимые отличия ( $p \leq 0,05$ )

Показатели	Контроль	Этанол (4,5 г/кг)
Аргинин	12,42 (10,06;14,15)	8,54* (6,75;10,05)
Глутамат	2103 (1726;2320)	1558* (1403;1727)
Глицин	878 (727;1244)	2195* (2102;2546)
Гистидин	502 (487;549)	293* (206;324)
Аланин	1635 (1491;1883)	1197* (1099;1296)
Таурин	748 (650;847)	1023* (951;1378)
Цистатионин	114 (106;161)	193* (168;219)
$\alpha$ -аминомасляная кислота	28,90 (19,92;43,77)	70,46* (47,06;80,85)
Гомосерин	161 (104;229)	279* (185;499)

Примечание: \* – отмечены статистически значимые отличия  $p \leq 0,05$

Изменения азотсодержащих соединений в печени определяются не только метаболизмом в этом органе, но и потоком из кишечника по воротной вене, что может влиять как на доступность субстратов для дальнейшего превращения, так и определять направленность метаболических потоков.

Корреляционный анализ между содержанием протеиногенных аминокислот и азотсодержащих метаболитов в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника и печени контрольной группы показал наличие положительной корреляционной связи аспарагин-глутамат ( $r = 0,81$ ), аланин-аспарагин ( $r = 0,75$ ) и одной отрицательной корреляционной связи аспарагин-аспартат ( $r = -0,75$ ). Однако, после однократного внутривенного введения этанола число подобных корреляций увеличивается в 3 раза. Так, наблюдается корреляционная связь между АРУЦ (лейцин, изолецин, валин) микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника с общей суммой протеиногенных аминокислот печени ( $r = 0,83$ ). Поскольку первый этап метаболизма АРУЦ проходит во внепеченочных тканях (мышцы), то интересно, что коррелируют суммы незаменимых аминокислот и АРУЦ с количеством заменимых аминокислот ( $r = 0,87$  и  $r = 0,85$ , соответственно). Анализ корреляционных связей отдельных аминокислот и их производных выявил положительную связь между концентрациями глутамин ( $r = 0,77$ ) в двух анализируемых тканях, а также аланина ( $r = 0,78$ ) и аланин-аспарагин ( $r = 0,78$ ). Отрицательная корреляционная связь регистрировалась в отношении уровней глицин-гистидин и глицин-аргинин ( $r = 0,77$  и  $r = 0,75$ , соответственно).

Проведенный корреляционный анализ между концентрациями свободных аминокислот и азотсодержащих производных в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника и печени выявил в контрольной группе животных 11 положительных корреляционных связей и 15 отрицательных. В группе животных, которым вводили однократно этанол, количество корреляционных связей увеличивается на 35 %, из которых положительных – 34, отрицательных – 6.

#### **Выводы.**

1. Анализ аминокислотного фонда в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника выявил снижение концентрации треонина, ключевой аминокислоты для синтеза муцинов и формирования гликокаликса. Одновременно в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника уменьшаются концентрации соединений, необходимых для пролиферации клеток и осуществления межклеточных коммуникаций (глицин, цистатинин, орнитин, аланин и фосфоэтанолламин).

2. Введение этанола в дозе 4,5 г/кг массы вызывает умеренное повышение наполнения секретом бокаловидных клеток крипт и ворсинок слизистой оболочки тощей кишки, а также выраженное утолщение гликопротеинсодержащего слоя, покрывающего боковые поверхности ворсинок.

3. Внутривенное введение этанола вызывает выраженный аминокислотный дисбаланс в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника.

4. В микробно-тканевом комплексе толстого кишечника острая алкогольная интоксикация приводит к увеличению численности условно-патогенных лактозонегативных бактерий группы кишечной палочки, а также анаэробных спорообразующих бактерий на фоне обеднения популяции лактозапозитивных энтеробактерий.

5. Наблюдаемый в ткани печени через 24 ч после введения однократной токсической дозы этанола аминокислотный дисбаланс во многом предопределен (как показывает корреляционный анализ) изменениями, наблюдаемыми в толстом кишечнике.

#### **Литература:**

[1]. Гриневиц В.Б., Кравчук Ю.А., Сак Е.И. Эволюция понятия микробно-тканевого комплекса кишечника // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020. 183. Т.11. Р. 4–11.

- [2]. Николаева И.В., Шейбак В.М., Островская О.Б., Островцова С.А. Влияние ацетаминофена на структурно-функциональное состояние толстого кишечника и кишечной микрофлоры // Проблемы экологии. 2023. Т. 22. №2. С. 78–87.
- [3]. Butts M., Sundaram V.L., Murughiyan, U. et al. The Influence of Alcohol Consumption on Intestinal Nutrient Absorption: A Comprehensive Review // *Nutrients*. 2023. Vol.15. № 1571.
- [4]. Butts M., Singh Paulraj R., Haynes J. et al. Moderate alcohol consumption inhibits sodium-dependent glutamine co-transport in rat intestinal epithelial cells in vitro and ex vivo // *Nutrients*. 2019. Vol. 11. № 2516.
- [5]. Bjørkhaug S.T., Aanes H., Neupane S.P. et al. Characterization of gut microbiota composition and functions in patients with chronic alcohol overconsumption // *Gut Microbes*. 2019. Vol. 10. P. 663–675.
- [6]. Calleja-Conde J., Echeverry-Alzate V., Bühler K.M. et al. The immune system through the lens of alcohol intake and gut microbiota // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22. № 14. P. 74–85.
- [7]. Chalvon-Demersay T., Luise D., Le Floc'h N. et al. Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health // *Front Vet Sci*. 2021. Vol. 8. P. 663–727.
- [8]. Chopyk D.M., Kumar P., Raeman R. et al. Dysregulation of junctional adhesion molecule-A contributes to ethanol-induced barrier disruption in intestinal epithelial cell monolayers. // *Physiol. Rep*. 2017. Vol. 5 №. e13541.
- [9]. Cryan J.F., O’Riordan K.J., Cowan C.S.M. et al. The microbiota-gut-brain axis // *Physiol. Rev*. 2019. Vol. 99. P. 1877–2013.
- [10]. Diether N.E., Willing B.P. Microbial fermentation of dietary protein: an important factor in diet–microbe–host interaction. // *Microorganisms*. 2019. Vol.7. P. 1–19.
- [11]. Dong, X.Y., Azzam M.M.M., Zou X.T. Effects of dietary threonine supplementation on intestinal barrier function and gut microbiota of laying hens // *Poult Sci*. 2017. Vol. 96. P. 3654–3663.
- [12]. Engen P.A., Green S.J., Voigt R.M., et al. The gastrointestinal microbiome: alcohol effects on the composition of intestinal microbiota. // *Alcohol Res*. 2015. Vol. 37. P. 223–236.
- [13]. Hu J., Lin S., Zheng B., Cheung P.C.K. Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 2018. Vol. 58. P. 1243–1249.
- [14]. Kosnicki K.L., Penprase J.C., Cintora P. et al. Effects of moderate, voluntary ethanol consumption on the rat and human gut microbiome // *Addict. Biol*. 2019. Vol. 24. P. 617–630.
- [15]. Lin R., Zhang Y., Chen L. et al. The effects of cigarettes and alcohol on intestinal microbiota in healthy men. // *J. Microbiol*. 2020. Vol. 58. P. 926–937.
- [16]. Mir H., Meena A.S., Chaudhry K.K. et al. Occludin deficiency promotes ethanol-induced disruption of colonic epithelial junctions, gut barrier dysfunction and liver damage in mice// *Biochim. Biophys. Acta*. 2016. Vol. 1860. P. 765–774.
- [17]. Na H.K., Lee J.Y. Molecular basis of alcohol-related gastric and colon cancer. // *Int. J. Mol. Sci*. 2017. Vol. 18. P. 1116.
- [18]. Qamar N., Castano D., Patt C. et al. Meta-analysis of alcohol induced gut dysbiosis and the resulting behavioral impact // *Behav. Brain Res*. 2019. Vol. 376. P. 112196.
- [19]. Samak G., Gangwar R., Meena A.S. et al. Calcium channels and oxidative stress mediate a synergistic disruption of tight junctions by ethanol and acetaldehyde in Caco-2 Cell monolayers // *Sci. Rep*. 2016. Vol. 6. P. 388–399.
- [20]. Stärkel P., Leclercq S., de Timary P. et al. Intestinal dysbiosis and permeability: The yin and yang in alcohol dependence and alcoholic liver disease // *Clin. Sci*. 2018. Vol. 132. P. 199–212.
- [21]. Stadlbauer V., Horvath A., Komarova I. A. Single alcohol binge impacts on neutrophil function without changes in gut barrier function and gut microbiome composition in healthy volunteers // *PLoS ONE*. 2019. Vol. 14. № e0211703.
- [22]. Vancamelbeke M., Vermeire S. The intestinal barrier: A fundamental role in health and disease. *Expert Rev. // Gastroenterol. Hepatol*. 2017. Vol. 11. P. 821–834.
- [23]. Vance J. E. Historical perspective: phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine from the 1800s to the present // *Journal of Lipid Research*. 2018. Vol. 59. № 6. P. 923–944.
- [24]. Vokurka S, Svoboda T, Rajdl D. et al. Serum citrulline levels as a marker of enterocyte function in patients after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation - a pilot study // *Med Sci Monit*. 2013. Vol. 19. P. 81–85.
- [25]. Xiao H.W., Ge C., Feng G.X. et al. Gut microbiota modulates alcohol withdrawal-induced anxiety in mice // *Toxicol. Lett*. 2018. Vol. 287. P. 23–30.

V. M. SHEIBAK, I. V. NIKOLAYEVA, V. Y. SMIRNOV, A. B. ASTROWSKAJA, R. I. KRAVCHUK,  
S. A. ASTRAUTSOVA

**CONTRIBUTION OF THE SMALL AND LARGE INTESTINES TO AMINO ACID IMBALANCE  
IN LIVER DURING ACUTE ALCOHOL INTOXICATION**

*Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Republic of Belarus*

**Summary**

The paper presents the analysis of the structure of the microbial tissue complex of the small and large intestines, as well as the amino acid levels in liver, after a single intragastric administration of ethanol at dose of 4500 mg per kilogram of body weight. The experiments were performed on white outbred rats. Histological analysis of the preparations of jejunum showed a moderate increase in the filling of the goblet cells of the crypts and of the villi of mucous membranes by secret, as well as a pronounced thickening of the glycoprotein containing layer covering the lateral surfaces of the villi. Analysis of the amino acid pool in the microbial tissue complex of the small intestine revealed decrease of the concentration of threonine, a key amino acid necessary for synthesis of mucins and formation of glycocalyx, as well as decreased levels of the compounds necessary for cell proliferation and intercellular communication (glycine, cystathionine, ornithine, alanine and phosphoethanolamine). Increased number of opportunistic lactose negative bacteria belonging to the *Escherichia coli* group and of anaerobic spore-forming bacteria in the microbial tissue complex of the large intestine. Analysis of the concentrations of free amino acids and their derivatives in the large intestine and in liver revealed a pronounced amino acid imbalance that, as shown by correlation analysis, was mainly the consequence of changes observed in the large intestine.

*Keywords:* ethanol, intestine, liver, free amino acids.

Н. А. МАТЕЛЬСКИЙ

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И ИХ КОМБИНАЦИЯМ ШТАММОВ *ACINETOBACTER BAUMANNII* У ПАЦИЕНТОВ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА С СЕПСИСОМ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», г. Минск, Республика Беларусь

Цель исследования – оценить распространенность устойчивости *A. baumannii* к эмпирически назначаемым антибактериальным лекарственным средствам, выявить продукцию приобретенных карбапенемаз и оценить чувствительность резистентных штаммов к новым антибиотикам и их комбинациям. Для 20 штаммов *A. baumannii* проведено определение минимальных подавляющих концентраций антибиотиков методом микроразведений в бульоне. Чувствительность к комбинациям антибиотиков оценена с помощью модифицированного метода тестирования бактерицидности различных комбинаций. Анализ эффективности комбинации сульбактама с авибактамом в отношении сульбактам-резистентных штаммов выполнен методом «шахматной доски». Все штаммы были проанализированы на наличие продукции генов карбапенемаз (OXA-23, OXA-40, IMP, VIM, NDM, GES). Основным механизмом устойчивости *A. baumannii* к карбапенемам являлась продукция приобретенных карбапенемаз OXA-24/40 и/или OXA-23. Комбинация на сульбактама с авибактамом была эффективна в отношении сульбактам-резистентных штаммов.

**Ключевые слова:** *Acinetobacter baumannii*, антибиотикорезистентность, комбинации антибиотиков, карбапенемазы, цефтазидим/авибактам, сульбактам.

**Введение.** Пациенты с онкогематологическими заболеваниями находятся в группе высокого риска летального исхода, во многом обусловленного развитием инфекционных осложнений. *A. baumannii* входит в тройку самых распространенных и наиболее проблемных возбудителей, вызывающих инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в отделениях интенсивной терапии и реанимации (ОРИТ). Инфекции, вызванные бактериями *A. baumannii*, существенно увеличивают время госпитализации пациентов, а множественная лекарственная устойчивость часто приводит к неблагоприятным клиническим результатам [1]. Актуальной проблемой в антибиотикотерапии инфекций, вызванных *A. baumannii*, является крайне высокий уровень устойчивости к карбапенемам (CRAB – carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*), что связано с продукцией приобретенных карбапенемаз. Одной из наиболее важных причин такой резистентности является продукция  $\beta$ -лактамаз класса D, гидролизующих карбапенемы: OXA-23, OXA-40 и OXA-58-подобных карбапенемаз, а также металло- $\beta$ -лактамаз (MBL) класса B групп IMP, VIM и NDM [2]. Более того, отмечается резкое увеличение устойчивости в последние годы к аминогликозидам, тигециклину и полимиксинам [3, 4].

Сульбактам, ингибитор  $\beta$ -лактамаз ферментов класса A Ambler, проявляет собственную антибактериальную активность против некоторых видов бактерий, включая *Neisseria gonorrhoeae*, *Bacteroides fragilis* и *Acinetobacter spp.* Пенициллинсвязывающие белки, такие как RBP1a, RBP1b и RBP3, за исключением RBP2, являются мишенями для сульбактама [5]. При этом следует помнить, что стандартные дозы, указанные в инструкции, в данном случае не применяются. Для лечения тяжелых инфекций, вызванных *A. baumannii*, следует применять суточные дозы сульбактама 6–9 г для взрослых (80–120 мг/кг/сут для детей), а в некоторых публикациях указывается суточная доза для взрослых равная 12 г [6, 7, 8]. В Республике Беларусь сульбактам не зарегистрирован в качестве самостоятельного лекарственного

средства и выпускается только в качестве ингибитора в составе с ампициллином (2 : 1) или цефоперазоном (1 : 1) [9]. В таком случае суточная доза, например, ампициллин/сульбактама, будет составлять от 18 до 27 г для взрослых (в случае 12 г сульбактама будет соответствовать 36 г ампициллин/сульбактама) и 200–320 мг/кг/сут для детей [10]. Из-за ограниченных возможностей лечения, обусловленных устойчивостью к антибиотикам, терапевтические схемы лечения преимущественно основаны на колистине. Но несмотря на это, уровень смертности от инфекций CRAV остается более 40–50 % [8].

Возникновение приобретенной устойчивости *A. baumannii* ко многим из вышеупомянутых антибиотиков создает необходимость поиска новых антимикробных лекарственных средств или применения комбинаций из уже существующих. Цефидерокол – новый сидерофорный цефалоспорин с активностью против устойчивых к карбапенемам грамотрицательных бактерий, включая устойчивые к карбапенемам *Enterobacterales*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, но не активен против грамположительных или анаэробных бактерий. Цефидерокол транспортируется в периплазматическое пространство Грам- бактерий вместе с трехвалентным железом и связывается с пенициллинсвязывающим белком 3 (PBP3), ингибируя синтез клеточной стенки [11, 12].

Еще одной возможной опцией в лечении тяжелых инфекций, вызванных штаммами с множественной (MDR) и экстремальной (XDR) устойчивостью *A. baumannii*, является применение различных комбинаций. Одной из таковых может быть сочетание сульбактама, как лекарственного средства с собственной антимикробной активностью, и дурлобактама – нового ингибитора β-лактамаз. Основной механизм устойчивости к сульбактаму у *A. baumannii* – гиперпродукция приобретенных пенициллиназ (TEM-1 и др.) и видоспецифической цефалоспорины (ADC-30). Дурлобактам в данном случае выступает в качестве ингибитора β-лактамаз, который конкурентно защищает сульбактам. Дурлобактам – новый представитель класса диазабициклооктановых ингибиторов β-лактамаз с широким спектром активности против сериновых β-лактамаз классов А, С и D. Дурлобактам не ингибирует металло-β-лактамазы класса В, но недавние исследования по наблюдению показывают, что в настоящее время они редко встречаются в глобальных клинических изолятах *Acinetobacter spp.* [13, 14]. Дурлобактам является метилированной формой авибактама, следовательно, их спектр гидролитической активности теоретически может быть схожим в отношении некоторых β-лактамаз. В виду того, что в настоящее время дурлобактам не зарегистрирован в Республике Беларусь, представляется особый интерес рассмотреть для штаммов *A. baumannii* комбинацию из двух ингибиторов: авибактама и сульбактама.

Цель исследования – оценить распространенность продукции карбапенемаз, а также определить чувствительность к антибиотикам и их комбинациям для штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных от пациентов с сепсисом на фоне сопутствующей онкогематологической патологии.

**Материалы и методы исследования.** В исследование было включено 20 пациентов, которые находились на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) онкогематологического стационара возрастом от 1 года до 25 лет с установленным диагнозом сепсис, вызванный *A. baumannii*, в период с января 2021 по май 2024 гг.

Штаммы были выделены в диагностически значимых количествах из промывных вод бронхо-альвеолярного лаважа – 4 (20,0 %), дренажной трубки брюшной полости – 3 (15,0 %). Положительная гемокультура составила 13 (65,0 %) случаев. Оценка первичного очага инфекции показала следующее: абдоминальный – 12 (60,0 %), трахеобронхиальное дерево – 4 (20,0 %), инфекции мочевыводящих путей – 3 (15,0 %), криптогенный – 1 (5,0 %).

Идентификация выделенных штаммов *A. baumannii* выполнена методом MALDI-TOFF-масс-спектрометрии (VITEK MS, BioMérieux, Франция). Определение чувствительности к антимикробным лекарственным средствам выполнено с помощью автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact (BioMérieux, Франция). Результаты определения чувствительности интерпретировали согласно критериям Европейского комитета

по тестированию чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) – EUCAST и критериев Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) – (для тигециклина и сульбактама) [15, 16]. Для проведения дальнейших исследований штаммы были подвергнуты криоконсервации в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой и 30 % глицерина и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Наличие генов, приобретенных карбапенемаз класса D (групп OXA-23, OXA-24/40), а также карбапенемаз класса B (металло- $\beta$ -лактамаз (МБЛ) групп VIM, IMP и NDM) идентифицировали методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «Бак Резиста GLA, GLA Van/Мес» на базе ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии».

Определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) меропенема, имипенема, амикацина, колистина, левофлоксацина, тигециклина, цефидерокола, сульбактама, авибактама выполнено методом микроразведений в бульоне. Двукратные последовательные разведения антибиотиков готовили в бульоне Мюллер-Хинтон («Oxoid», Великобритания). Тестирование проводили в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах («Sarstedt», Германия) в соответствии с ISO 20776-1:2006 [17].

Для определения чувствительности к комбинациям из двух антибиотиков использовали модифицированный метод тестирования бактерицидности различных комбинаций (Multiple combination bactericidal testing, МСВТ) [18]. В составе комбинаций тестировали антибиотики в их пограничных концентрациях: меропенем – 8 мг/л, тигециклин – 2 мг/л, сульбактам – 8 мг/л, колистин – 2 мг/л, амикацин – 8 мг/л, левофлоксацин – 1 мг/л, цефтазидим/авибактам – 8/4 мг/л. Тестирование комбинаций антибиотиков проводили в бульоне Мюллера-Хинтон в стерильных 96-луночных круглодонных полистироловых планшетах в объеме 100 мкл.

Планшеты закрывали крышками и помещали в герметичные полиэтиленовые пакеты для предотвращения высыхания. Планшеты инкубировали 48 ч при  $35^{\circ}\text{C}$ , после чего учитывали наличие или отсутствие видимого роста в лунках с помощью камеры визуального считывания Thermo V4007 (Thermo Fisher Scientific, США). После визуального учета делали высев 10 мкл содержимого каждой лунки на сектор питательного агара (Nutrient agar, HiMedia Laboratories, Индия), разлитого в 90-мм чашки Петри. Чашки инкубировали 24 ч при  $35^{\circ}\text{C}$  и делали заключение об активности комбинаций антибиотиков. При отсутствии роста в высеве на плотной питательной среде эффект комбинации считали бактерицидным. При наличии роста в высеве на плотной питательной среде и отсутствии видимого роста в лунке планшета эффект комбинации учитывали как бактериостатический. При наличии роста и в высеве, и в лунке планшета микроорганизм считали устойчивым к данной комбинации антибиотиков.

Определение микробиологической эффективности комбинации сульбактама + авибактама дополнительно выполнялось методом «шахматной доски» в диапазоне концентраций каждого из двух антибиотиков от  $1/16 \times \text{МПК}$  до  $4 \times \text{МПК}$  [19]. После чего рассчитывались фракционные подавляющие концентрации (ФПК) для каждого из АМП в комбинации:  $\text{ФПК}_{\text{сул}} = \text{МПК}_{\text{сул/ави}} / \text{МПК}_{\text{сул}}$  и  $\text{ФПК}_{\text{ави}} = \text{МПК}_{\text{ави/сул}} / \text{МПК}_{\text{ави}}$ . Индекс ФПК ( $\Sigma \text{ФПК}$ ) рассчитывался как сумма ФПК каждого из АМП в комбинации:  $\Sigma \text{ФПК} = \text{ФПК}_{\text{сул}} + \text{ФПК}_{\text{ави}}$ . При  $\Sigma \text{ФПК} \leq 0,5$  эффект комбинации АМП оценивался как синергидный, при  $0,5 < \Sigma \text{ФПК} \leq 1$  – как аддитивный.

**Результаты и их обсуждение.** Оценка чувствительности к антибиотикам проводилась согласно критериям Европейского комитета по тестированию чувствительности к антимикробным препаратам EUCAST (v. 14.0, 2024). Однако, учитывая отсутствие критериев EUCAST для определения клинических категорий чувствительности *A. baumannii* к отдельным препаратам (сульбактаму и тигециклину), которые в ряде случаев используются для лечения инфекций, вызванных этим возбудителем, интерпретация чувствительности для этих АМП проводилась на основании критериев CLSI (33<sup>rd</sup> Edition, 2023) (таблица 1). Результаты оценки чувствительности к антибиотикам представлены в таблице 2.

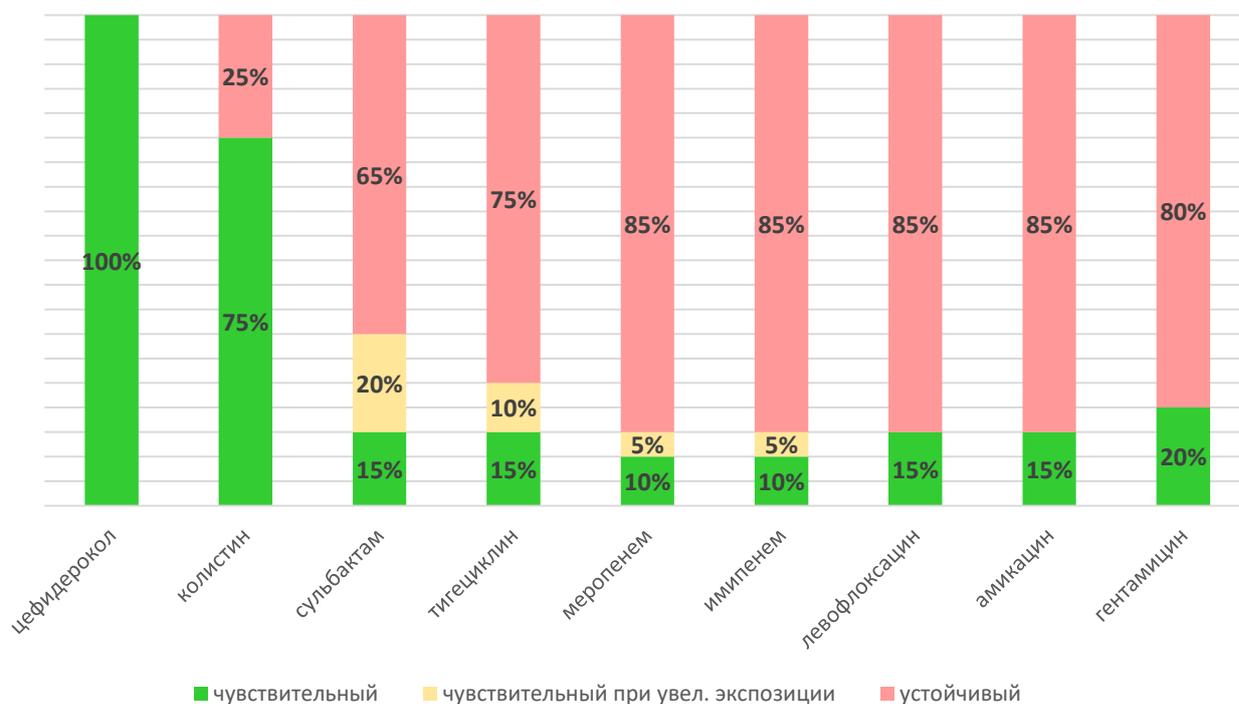
**Таблица 1.** Пограничные значения, рекомендованные EUCAST/CLSI для антибиотиков

Антибиотик	МПК антибиотика, мг/л		
	Чувствительный	Промежуточный	Резистентный
EUCAST v. 14.0, 2024			
Цефидерокол	≤ 2	-	> 2
Колистин	≤ 2	-	> 2
Меропенем	≤ 2	= 4–8	> 8
Имипенем	≤ 2	= 4	> 4
Левифлоксацин	≤ 0,5	= 1	> 1
Амикацин	≤ 8	-	> 8
Гентамицин	≤ 4	-	> 4
CLSI 33 <sup>st</sup> Edition, 2023			
Сульбактам	≤ 4	= 8	≥ 16
Тигециклин	≤ 1	= 2	≥ 4

Среди исследуемых штаммов выявлен высокий уровень устойчивости к стандартно назначаемым антибиотикам (таблица 2, рисунок 1, 2). Чувствительность к цефидероколу сохраняли все 20 штаммов (МПК<sub>50</sub> – 0,5 мг/л, МПК<sub>90</sub> – 2 мг/л).

**Таблица 2.** Устойчивость штаммов *A. baumannii* к антибиотикам

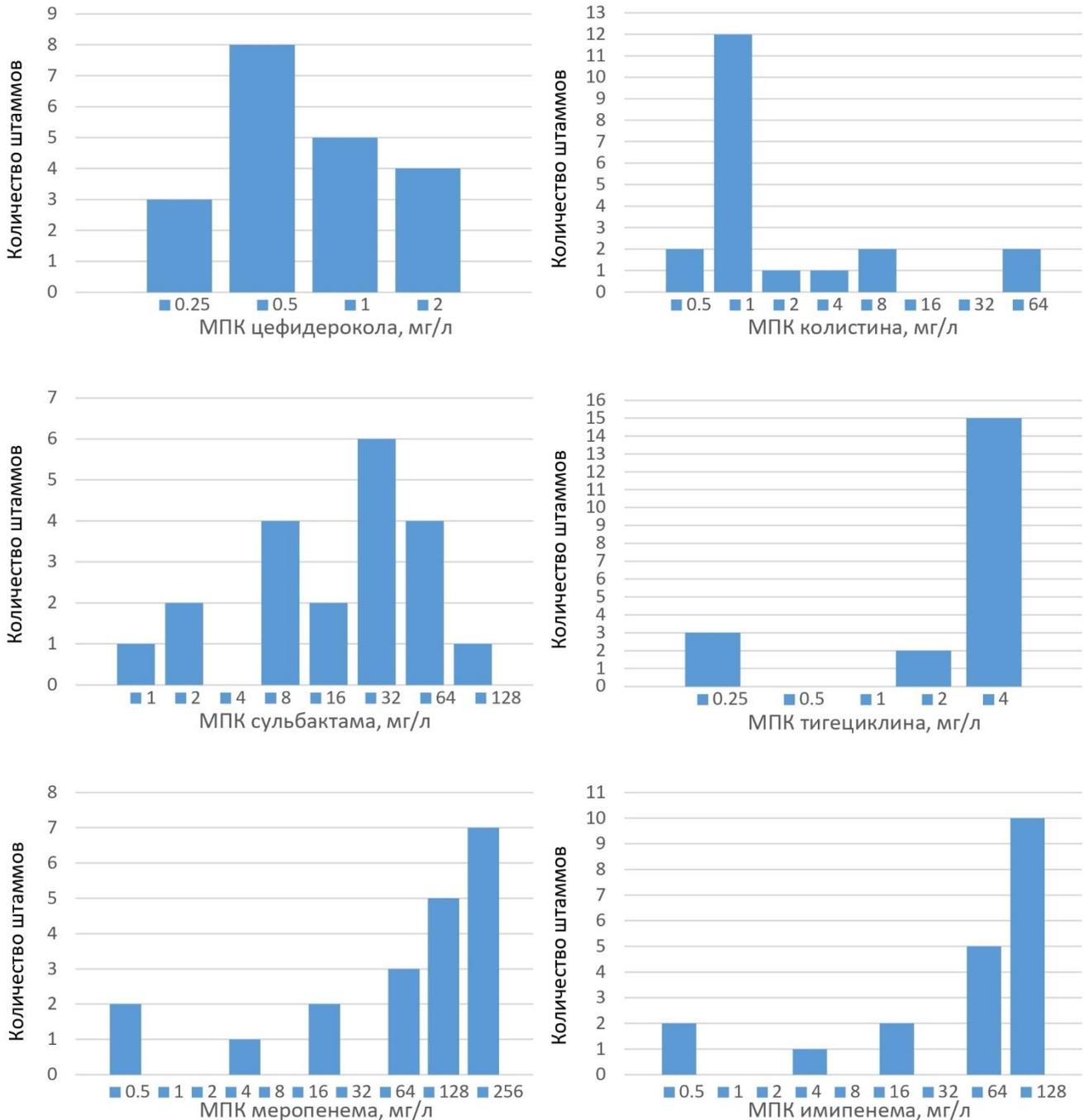
	S - чувствительный	I – чувствительный при увеличенной экспозиции	R - устойчивый	МПК <sub>50</sub> , мг/л	МПК <sub>90</sub> , мг/л
Цефидерокол	20 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0,5	2
Колистин	15 (75,0 %)	0 (0 %)	5 (25,0 %)	1	8
Сульбактам	3 (15,0 %)	4 (20,0 %)	13 (65,0%)	32	64
Тигециклин	3 (15,0 %)	2 (10,0 %)	15 (75,0 %)	4	4
Меропенем	2 (10,0 %)	1 (5,0 %)	17 (85,0 %)	128	256
Имипенем	2 (10,0 %)	1 (5,0 %)	17 (85,0 %)	64	128
Левифлоксацин	3 (15,0 %)	0 (0 %)	17 (85,0 %)	8	128
Амикацин	3 (15,0 %)	0 (0 %)	17 (85,0 %)	128	2048
Гентамицин	4 (20,0 %)	0 (0 %)	16 (80,0 %)	≥ 32	-



**Рисунок 1.** Сравнительный анализ антибиотирезистентности *A. baumannii*

Следует отметить, что за последние 5–10 лет на территории Республики Беларусь отмечается неуклонный рост резистентности *A. baumannii* к основным антибиотикам с формированием XDR. Устойчивость *A. baumannii* к карбапенемам, аминогликозидам, фторхинолонам превышает 80 %, к тигециклину на уровне 75 %, а к сульбактаму – 55 %. При этом наблюдается дальнейший рост устойчивости к полимиксинам (полимиксину Е – колистину), на фоне вынужденного широкого применения данного лекарственного средства в качестве антибиотика «последнего резерва». Вместе с тем на территории Республики Беларусь еще 5–10 лет назад устойчивость *A. baumannii* к полимиксинам практически отсутствовала [20, 21]. По данным интернет-платформы AMRmap, чувствительность штаммов *A. baumannii* (n = 562) к колистину, выделенных от пациентов, находящихся на лечении в отделениях анестезиологии и реанимации в стационарах Российской Федерации, за период 2020–2022 гг. составляет 99,8 % (МПК<sub>50</sub> – 0,25 мг/л, МПК<sub>90</sub> – 0,5 мг/л) [22]. Данная особенность может быть обусловлена тем, что колистин в Российской Федерации для внутривенного использования был зарегистрирован в 2021 году и до недавнего времени не имел столь широкого применения, как в Республике Беларусь.

Продукция β-лактамаз установлена среди всех 20 (100 %) штаммов. При этом, продукция видоспецифической для *A. baumannii* β-лактамазы OXA-51 встречалась среди 20 штаммов (100 %), OXA-24/40 – 11 штаммов (55,0 %), OXA-23 – 4 штаммов (20 %). Среди карбапенем-чувствительных штаммов наблюдалась продукция только OXA-51, а для карбапенем-устойчивых штаммов была отмечена продукция OXA-23 и/или OXA-24/40. Металло-β-лактамазы (VIM) были выявлены у 1 (5,0 %) штамма. Данный штамм имел пограничные значения МПК для меропенема (4 мг/л) и имипенема (4 мг/л). Для одного штамма была выявлена продукция карбапенемазы GES, этот штамм имел устойчивость как к меропенему (16 мг/л), так и имипенему (16 мг/л) (таблица 3, рисунок 3).



**Рисунок 2.** Распределение МПК антибиотиков для штаммов *A. baumannii*

При детальном анализе таблицы 3 видно, что в случае развития сепсиса, вызванным штаммами *A. baumannii* с устойчивостью к стандартно назначаемым антибиотикам (карбапенемы, аминогликозиды, тигециклин и сульбактам), независимо от чувствительности к колистину был отмечен неблагоприятный исход. Только один пациент с сепсисом, от которого был выделен штамм *A. baumannii* с устойчивостью к указанным антибиотикам, имел благоприятный исход, что могло быть обусловлено включением в схему антимикробной терапии цефидерокола.

Таблица 3. Продукция β-лактамаз и устойчивость штаммов *A. baumannii* к антибиотикам

№ п/п	Диагноз	Исход	Биоматериал	Продукция карбапенемаз							Чувствительность к антибиотикам					Схема АБ-терапии с цефидероколом		
				OXA-23	OXA-40	OXA-51	IMP	VIM	NDM	GES	Carb.	AN	TGC	Sul.	Col.			
1	Эпендимома	выжил	кровь			+							S	S	S	S	S	-
2	ПИД	выжил	кровь			+							S	S	S	S	S	-
3	Медуллобластома	выжил	кровь			+		+					I	S	S	S	S	-
4	Медуллобластома	выжил	дренаж			+							I	R	R	R	S	-
5	ПИД	выжил	кровь		+	+							R	R	R	R	S	+
6	Астроцитома	умер	ТБД		+	+							R	R	R	R	R	-
7	ОЛЛ	умер	кровь			+				+			R	R	R	R	S	-
8	Т-лимфома	умер	дренаж	+		+							R	R	R	R	S	-
9	ОЛЛ	умер	кровь		+	+							R	R	R	R	S	-
10	ОЛЛ	умер	ТБД		+	+							R	R	R	R	R	-
11	ОЛЛ	умер	кровь		+	+							R	R	R	R	R	-
12	ОЛЛ	умер	кровь		+	+							R	R	R	R	S	-
13	ОЛЛ	умер	ТБД		+	+							R	R	R	R	S	-
14	ОЛЛ	умер	кровь	+		+							R	R	I	R	S	-
15	ПИД	умер	кровь	+		+							R	R	R	R	R	-
16	Лимфома Беркитта	умер	кровь		+	+							R	R	R	R	R	-
17	ОЛЛ	умер	кровь		+	+							R	R	R	R	S	-
18	Агранулоцитоз	умер	ТБД	+		+							R	R	R	R	S	-
19	Т-лимфома	умер	кровь		+	+							R	R	R	R	S	-
20	ОМЛ	умер	дренаж			+							R	R	I	R	S	-

Примечание – \*Carb. – карбапенемы, AN- аминогликозиды, TGC – тигецилин, Sul. – сульбактам, Col. – колистин.

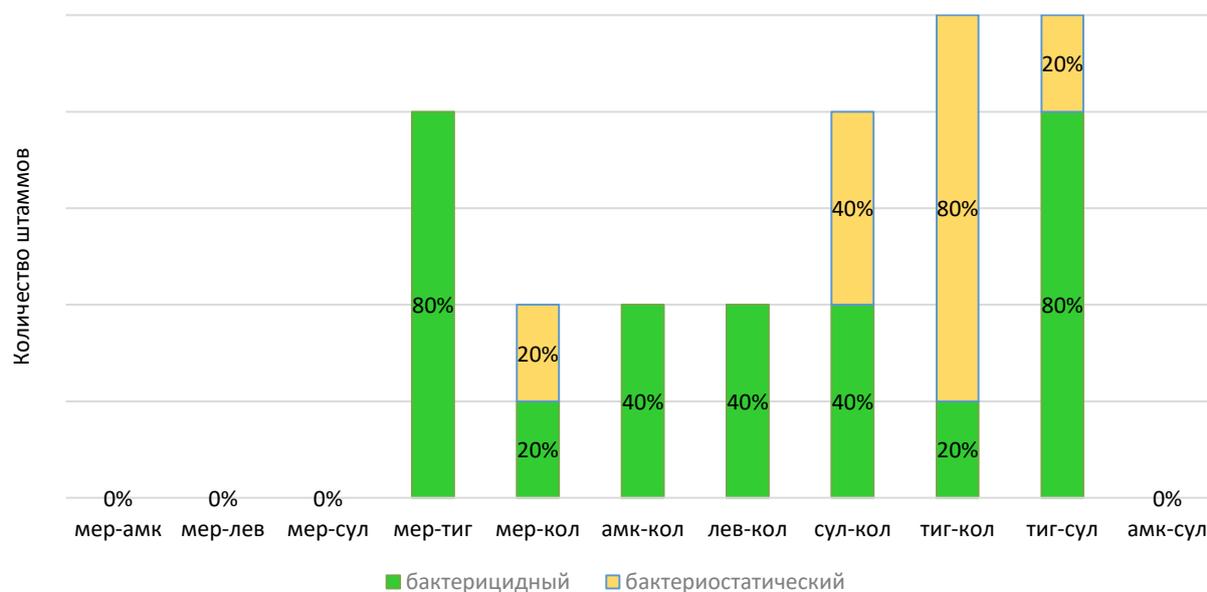
\*\* ПИД – первичный иммунодефицит, ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ – острый миелобластный лейкоз

Одними из возможных причин развития неблагоприятного исхода для пациентов с сепсисом, вызванным штаммами *A. baumannii* с сохраненной чувствительностью к колистину, на фоне антимикробной терапии, включавшей данное лекарственное средство, могут быть несвоевременное начало адекватной эмпирической антимикробной терапии, гипервирулентные штаммы *A. baumannii*, неоптимальный выбор лекарственного средства с позиции ФК/ФД и субтерапевтические концентрации. Последнее обусловлено тем, что объём распределения колистина является относительно низким и увеличивается у пациентов, находящихся в критическом состоянии. При этом, пенетрация колистина в легкие, плевральные полости, почки, сердце, головной мозг, печень, мягкие ткани относительно низкая и не превышает 15–20 %. По результатам проведенного исследования DALI (Defining antibiotic levels in intensive care unit patients), которое включало около 500 пациентов из 70 ОРИТ, эксперты пришли к выводу, что дозирование антимикробных лекарственных средств у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии должно отличаться от стандартного режима дозирования в силу проведения инфузионной терапии, наличия полиорганной недостаточности, увеличения объема распределения и не может быть идентичным рекомендуемому для общесоматического профиля, так как ФК/ФД на начальном этапе исследуется среди здоровых добровольцев. Изучение концентрации антимикробных лекарственных средств у пациентов в ОРИТ демонстрирует, что для достижения эффекта дозу необходимо увеличивать на 74 % от рекомендуемой [23, 24, 25].

В связи с неуклонным ростом резистентности *A. baumannii* к стандартным антимикробным лекарственным средствам, на фоне недоступности новых цефалоспоринов (цефидерокол) и отсутствия возможности назначения новых защищенных  $\beta$ -лактамов (сульбактам/дурлобактам), требуется определение чувствительности к комбинациям антибиотиков, для оценки возможного взаимного потенцирования их антимикробной активности в отношении резистентных штаммов с целью альтернативной терапии.

Клинический интерес в отношении комбинаций для нас представляли штаммы *A. baumannii* с устойчивостью к колистину, для которых тестировались 11 различных двойных комбинаций антибиотиков методом МСВТ в их пограничных концентрациях: меропенем + амикацин, меропенем + левофлоксацин, меропенем + сульбактам, меропенем + тигециклин, меропенем + колистин, амикацин + колистин, левофлоксацин + колистин, сульбактам + колистин, тигециклин + колистин, тигециклин + сульбактам, амикацин + сульбактам (рисунок 4). А также штаммы с устойчивостью к сульбактаму для которых выполнялось тестирование методом «шахматной доски» в отношении комбинации сульбактама и авибактама (таблица 4).

Отмечается низкая эффективность комбинаций антибиотиков, эмпирически назначаемых для лечения сепсиса, вызванного *A. baumannii* (колистин + меропенем, колистин + амикацин, колистин + левофлоксацин, меропенем + амикацин, меропенем + левофлоксацин, меропенем + сульбактам, амикацин + сульбактам). Из двойных комбинаций наилучшую активность проявляли комбинации на основе тигециклина: меропенем + тигециклин (бактерицидный эффект – 80 %), тигециклин + сульбактам (бактерицидный эффект – 80 %, бактериостатический эффект – 20 %), тигециклин + колистин (бактерицидный эффект – 20 %, бактериостатический эффект – 80 % и комбинация сульбактама + колистина (бактерицидный эффект – 40 %, бактериостатический эффект – 40 %).



\*МЕР – меропенем, ЛЕВ – левофлоксацин, СУЛ – сульбактам, ТИГ – тигециклин, КОЛ – колистин, АМК – амикацин

**Рисунок 3.** Эффективность комбинаций антибиотиков в отношении штаммов *A. baumannii*, МСВТ

**Таблица 4.** Потенцирование эффекта от назначения комбинации: сульбактам + авибактам для сульбактам-резистентных штаммов *A. baumannii*

Штамм	МПК СУЛ	ФПК СУЛ/АВИ	МПК АВИ	ФПК АВИ/СУЛ	$\Sigma$ ФПК	Эффект
8 (БА-245)	32	8	8	2	0,50	синергидный
22 (БА-247)	64	8	4	0,5	0,25	синергидный
27 (БА-248)	16	4	8	1	0,38	синергидный
34 (БА-249)	32	4	8	2	0,38	синергидный
39 (БА-250)	32	4	8	1	0,25	синергидный
43 (БА-251)	64	32	8	4	1,00	аддитивный
47 (БА-252)	64	32	8	4	1,00	аддитивный
50 (БА-253)	32	8	8	2	0,50	синергидный
56 (БА-254)	32	8	8	0,5	0,31	синергидный
66 (БА-255)	32	4	8	2	0,38	синергидный
86 (БА-258)	32	4	8	4	0,62	аддитивный
87 (БА-259)	64	32	8	4	1,00	аддитивный
101 (БА-260)	8	4	8	4	1,00	аддитивный
108 (БА-261)	16	8	4	2	1,00	аддитивный
110 (БА-262)	8	4	8	4	1,00	аддитивный
155 (БА-263)	32	8	8	2	0,50	синергидный
БА-265	$\geq 128$	$\geq 128$	$\geq 128$	$\geq 128$	-	-

Из 17 исследуемых штаммов (устойчивых к сульбактаму – 13 штаммов и чувствительных при увеличенной экспозиции к сульбактаму – 4 штамма) в отношении 9 (52,9 %) штаммов комбинация сульбактама с авибактамом проявляла синергизм ( $\Sigma$  ФПК  $\leq 0,5$ ), а в отношении 7 (41,2 %) штаммов аддитивный эффект ( $0,5 < \Sigma$  ФПК  $\leq 1$ ). Для одного (5,9 %) штамма эффект от данной комбинации не наблюдался.

В недавних зарубежных исследованиях была также продемонстрирована эффективность данной комбинации *in vitro*, среди 127 штаммов *A. baumannii* снижение МПК от совместного назначения сульбактама и авибактама наблюдалась для 124 (97,6 %) штаммов [26]. В другом исследовании, проведенном в Аргентине, эффект от данной комбинации наблюдался у 166 (89 %) изолятов *A. baumannii* [27].

**Заключение.** Отмечен высокий уровень устойчивости *A. baumannii* к стандартно назначаемым антибиотикам, при этом основным механизмом устойчивости к карбапенемам является продукция приобретенных карбапенемаз ОХА-24/40 и/или ОХА-23. Для пациентов ОРИТ выбор антибиотиков для эмпирической терапии является крайне затруднительным и требует проведения регулярного локального мониторинга чувствительности. В этом случае могут быть эффективны новые антибиотики (цефидерокол) или комбинации тигециклина с меропенемом, сульбактамом или колистином. Отдельного внимания заслуживает комбинация сульбактама и авибактама, которая демонстрирует свою эффективность в отношении сульбактам-резистентных штаммов. Выделение от пациентов с сепсисом штаммов *A. baumannii* с устойчивостью к карбапенемам, аминогликозидам, сульбактаму и тигециклину должно насторожить клинициста, поскольку ассоциировано с высоким риском развития неблагоприятного исхода.

#### Литература:

- [1]. Катаева Л.В., Колотова О.Н., Степанова Т.Ф. и др. Результаты полногеномного секвенирования бактерий *Acinetobacter baumannii*, изолированных от пациентов стационаров северных регионов Тюменской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022. Т. 99. № 3. С. 343–352.
- [2]. Karaïskos I., Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches // Expert Opin Pharmacother. 2014. Vol.15. 10. P. 1351–1370.
- [3]. Hua X., He J., Wang J. et al. Novel tigecycline resistance mechanisms in *Acinetobacter baumannii* mediated by mutations in *adeS*, *rpoB* and *rrf*. // Emerging microbes & infections. 2021. Vol. 10. № 1. P. 1404–1417.
- [4]. Novović K, Jovčić B. Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii*: Molecular Mechanisms and Epidemiology // Antibiotics. 2023; Vol. 12, 3.
- [5]. Noguchi, J.K., Gill, M.A. Sulbactam: A beta-lactamase inhibitor // Clin. Pharm. 1988. Vol. 7. P. 37–51.
- [6]. Paul M., Carrara E., Retamar P. et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine) // Clinical Microbiology and Infection, 2022. Vol. 28. № 4. P. 521–547.
- [7]. Tamma P D., Aitken S.L., Bonomo R.A. et al. Infectious Diseases Society of America 2023 Guidance on the Treatment of Antimicrobial Resistant Gram-Negative Infections. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America // Clin Infect Dis. 2023. Vol. 19. № 7. P. 319–330.
- [8]. Choi S.J., Kim E.S. Optimizing Treatment for Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Complex Infections: A Review of Current Evidence // Infection & Chemotherapy. 2024. Vol. 56. №. 2. P. 171–187.
- [9]. Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении. – URL: <https://www.rceth.by/> (дата обращения: 30.11.2024).
- [10]. Nahata, M.C., Vashi V.I., Swanson R.N. et al. Pharmacokinetics of ampicillin and sulbactam in pediatric patients // Antimicrobial agents and chemotherapy. 1999. Vol. 43. № 5. P. 1225–1229.
- [11]. McCreary E.K., Heil E.L., Tamma P.D. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Cefiderocol // Antimicrobial Agents And Chemotherapy. 2021. Vol. 65. № 8. P. 84–92.

- [12]. Ito A., Sato T., Ota M., et al. In Vitro Antibacterial Properties of Cefiderocol, a Novel Siderophore Cephalosporin, against Gram-Negative Bacteria // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017. Vol. 62. № 1. P. 980–992.
- [13]. Butler D.A., Biagi M., Tan X. et al. Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii*: Resistance by Any Other Name Would Still be Hard to Treat // *Curr Infect Dis Rep* 2019. Vol. 21, № 46.
- [14]. Kostyanev T., Xavier B.B., Garcia-Castillo M. et al. Phenotypic and molecular characterizations of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates collected within the EURECA study // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2021. Vol. 57. № 6.
- [15]. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0. 2024 // *Eucast.org*. – URL: [https://www.eucast.org/eucast\\_news/news\\_singleview?tx\\_ttnews%5Btt\\_news%5D=566&cHash=db55f3a8829726044512a1fe74cce41b](https://www.eucast.org/eucast_news/news_singleview?tx_ttnews%5Btt_news%5D=566&cHash=db55f3a8829726044512a1fe74cce41b) (дата обращения: 10.08.2024).
- [16]. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 33th Informational Supplement. Wayne, PA: CLSI; 2023. // *CLSI.org*. – URL: [https://clsi.org/media/tc4b1paf/m10033\\_samplepages-1.pdf](https://clsi.org/media/tc4b1paf/m10033_samplepages-1.pdf) (дата обращения: 10.08.2024).
- [17]. ISO 20776-1:2006 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices» – Part 1 : Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases // *ISO.org*. – URL: <https://www.iso.org/standard/70464.html> (дата обращения 10.08.2024).
- [18]. Талальский Д.В. Чувствительность к комбинациям антибиотиков продуцирующих карбапенемазы нозокомиальных штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных в Беларуси. // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018. Т.20. № 3. С. 182–191.
- [19]. Laishram S., Pragasam A.K., Bakthavatchalam Y.D. et al. An update on technical, interpretative and clinical relevance of antimicrobial synergy testing methodologies // *Indian J Med Microbiol*. 2017. Vol. 35. P. 445–468.
- [20]. Горбич Ю.Л. Инфекции, вызываемые *Acinetobacter baumannii*, и их рациональная антибактериальная терапия: автореферат диссертации кандидата медицинских наук. Мн: Белорусский государственный медицинский университет, 2012. С.27.
- [21]. Талальский Д.В., Бонда Н.А. *Acinetobacter baumannii*: распространенность, спектр и динамика антибиотикорезистентности, чувствительность к комбинациям антибиотиков // *Журнал ГрГМУ*. 2018. № 3. С. 286–291.
- [22]. AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России. – URL: <https://amrmap.ru/> (дата обращения: 30.11.2024).
- [23]. Udy A.A., Roberts J.A., Lipman J. Clinical implications of antibiotic pharmacokinetic principles in the critically ill. // *Intensive Care Med*. 2013. Vol.39. № 12. P. 2070–2082.
- [24]. Roberts J. A., De Waele J. J., Dimopoulos G. et al. DALI: Defining Antibiotic Levels in Intensive care unit patients: a multi-centre point of prevalence study to determine whether contemporary antibiotic dosing for critically ill patients is therapeutic // *BMC Infectious Diseases*. 2012. Vol. 12. № 152.
- [25]. Мательский Н.А., Пузанов Р.М., Горбич Ю.Л. и др. Терапевтический лекарственный мониторинг колистина в отделении реанимации и интенсивной терапии детского онкогематологического стационара // *Клиническая инфектология и паразитология*. 2024. Т. 13. № 2. С. 131–140.
- [26]. Rodriguez C.H., Brune A., Nastro M. et al. In vitro synergistic activity of the sulbactam/avibactam combination against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* // *Journal of Medical Microbiology*. 2020. Vol. 69. № 7. P. 928–931.
- [27]. Pasteran F., Cedano J., Baez M. et al. A New Twist: The Combination of Sulbactam/Avibactam Enhances Sulbactam Activity against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) Isolates // *Antibiotics (Basel)*. 2021. Vol. 13. № 10 (5). P. 577.

N. A. MATSELSKI

**SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS AND THEIR COMBINATIONS OF ACINETOBACTER BAUMANNII STRAINS IN PATIENTS OF ONCOHEMATOLOGY HOSPITAL WITH SEPSIS**

*State Institution «Republican Scientific and Practical Center of Pediatric Oncology, Hematology and Immunology», Minsk, Belarus*

**Summary**

The aim of the study was to assess the prevalence of *A. baumannii* resistance to empirically prescribed antibacterial drugs, to identify the production of acquired carbapenemases and to evaluate the sensitivity of resistant strains to new antibiotics and their combinations. Minimum inhibitory concentrations of antibiotics were determined for 20 *A. baumannii* strains using the broth microdilution method. Sensitivity to antibiotic combinations was assessed using a modified method for testing the bactericidal activity of various combinations. The efficiency of the sulbactam/avibactam combination against sulbactam-resistant strains was analyzed using the checkerboard method. All strains were analyzed for the presence of carbapenemase genes (OXA-23, OXA-40, IMP, VIM, NDM, GES). The main mechanism of resistance of *A. baumannii* to carbapenems was the production of acquired carbapenemases OXA-24/40 and/or OXA-23. The combination of sulbactam with avibactam was effective against sulbactam-resistant strains.

*Keywords:* *Acinetobacter baumannii*, antibiotic resistance, antibiotic combinations, carbapenemases, ceftazidime/avibactam, sulbactam.

УДК 579.61:615.015.8]:616-036.5

Д. В. ТАПАЛЬСКИЙ<sup>1,2</sup>, Е. В. КАРПОВА<sup>3</sup>, Н. Э. КОЛЧАНОВА<sup>3</sup>, В. В. БУТКЕВИЧ<sup>2</sup>,  
Ж. В. ИГНАТОВИЧ<sup>4</sup>, Ю. В. МАТВЕЕНКО<sup>4</sup>, А. А. РОГАЧЕВ<sup>4</sup>

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ОКТЕНИДИНА ДИГИДРОХЛОРИДУ И ДРУГИМ АНТИСЕПТИКАМ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup> Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

<sup>4</sup> Государственное научное учреждение «Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Изучена бактериостатическая, бактерицидная и фунгицидная активность октенидина дигидрохлорида, хлоргексидина биглюконата, мирамистина и гипохлорита натрия в отношении 36 клинических изолятов бактерий и грибов (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *S. aureus*, *C. albicans*) с предварительно установленными механизмами антибиотикорезистентности, а также в отношении контрольных штаммов. Для определения минимальных подавляющих концентраций антисептиков применяли метод последовательных микроразведений в бульоне, оценку бактерицидной активности проводили суспензионным методом. В тестируемом диапазоне концентраций гипохлорит натрия не оказывал бактерицидной активности. Октенидина гидрохлорид обладал наибольшей активностью (МПК<sub>50</sub> 1–4 мг/л, МБК<sub>50</sub> 1–8 мг/л), универсальной в отношении микроорганизмов различных видов. Хлоргексидин и мирамистин имели схожую эффективность, заметно уступающую октенидину (МПК<sub>50</sub> 2–64 мг/л, МБК<sub>50</sub> 2–64 мг/л). Таким образом, октенидина дигидрохлорид обладает наиболее выраженной, чем хлоргексидин биглюконат, мирамистин и гипохлорит натрия бактерицидной и фунгицидной активностью, которая универсальна и проявляется в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая штаммы с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам.

*Ключевые слова:* антисептики, октенидина дигидрохлорид, хлоргексидин биглюконат, мирамистин, бактерии, антибиотикорезистентность.

**Введение.** Распространение множественной (MDR) и экстремальной (XDR) антибиотикорезистентности приводит к существенным ограничениям в выборе антибиотиков, что отражается на эффективности лечения пациентов. В то же время антисептики обладают более универсальным спектром активности по сравнению с антибиотиками и имеют множество мишеней для своего воздействия, как на поверхности, так и внутри микробных клеток. Растворы антисептиков применяются для обработки кожных покровов, слизистых оболочек и ран, однако их более широкое применение ограничено рядом факторов. Это небольшое количество доступных лекарственных форм (чаще всего растворы, реже гели), невозможность введения во внутреннюю среду макроорганизма ввиду значительной цитотоксичности, риск возникновения нежелательных реакций в виде контактного дерматита и гиперчувствительности при длительном использовании [1].

Широко используемыми в клинической практике антисептиками являются хлорсодержащий препарат – гипохлорит натрия, катионные детергенты – хлоргексидин

биглюконат и мирамистин. Все вышеперечисленные растворы обладают широким спектром активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, вирусов, простейших. Мирамистин способен потенцировать действие антибиотиков за счет повышения проницаемости микробной клеточной стенки [2]. Активность данных препаратов может снижаться в присутствии белка, сыворотки и цельной крови [1, 3].

В последнее время все чаще появляются данные об устойчивости микроорганизмов к антисептикам. Описано возникновение перекрестной устойчивости к хлоргексидину и одновременно сульфаметоксазолу, цефтазидиму, тетрациклину, цефотаксиму и имипенему [4]. Настораживает появление устойчивых к антисептикам штаммов метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) [5].

Одним из современных высокоэффективных антисептиков является октенидина дигидрохлорид. В отличие от хлоргексидина и мирамистина, он относится к группе бигуанидинов и представляет собой катионное поверхностно-активное антимикробное соединение. В структуре октенидина имеется два катионных центра  $N^+$ , разделенных алифатической цепью  $(-CH_2)_{10}$ , что обеспечивает легкое связывание с отрицательно заряженной мембраной бактериальной клетки и обуславливает его выраженный антимикробный эффект даже при использовании низких концентраций. Октенидин остается стабильным и сохраняет антимикробную активность в широком спектре pH, что является важным свойством при лечении ран, т.к. значения pH меняются в зависимости от фазы раневого процесса [6].

Благодаря наличию неспецифического механизма активации, выраженной адсорбции на клеточной стенке и мембранах, октенидин обладает широким спектром антимикробной активности, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, хламидии, микоплазмы и грибы. Показано, что эффективность октенидина в отношении микроорганизмов *in vitro* может быть в 3–10 раз выше по сравнению с хлоргексидином. Антимикробные эффекты октенидина дигидрохлорида усиливаются при комбинации со спиртами – пропанолом, феноксиэтанолом либо этилгексилглицерином [7].

В отношении октенидина дигидрохлорида риск формирования резистентности у микроорганизмов относительно низкий. Это связано как с неспецифическим механизмом действия октенидина, так и с невысокими концентрациями препарата, используемыми в клинической практике [8].

Таким образом, поиск альтернативных антисептических препаратов является одним из приоритетных направлений в борьбе с микроорганизмами с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью.

Цель исследования – дать сравнительную оценку чувствительности к октенидина дигидрохлориду и другим широко используемым антисептикам штаммов клинически значимых микроорганизмов с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью.

**Материалы и методы исследования.** Из рабочей коллекции отобраны штаммы микроорганизмов с известными механизмами множественной и экстремальной антибиотикорезистентности, выделенные от госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии пациентов в четырех регионах Беларуси (Витебская, Могилевская, Гомельская области и г. Минск). В их числе 9 штаммов *Klebsiella pneumoniae* (продуценты карбапенемаз KPC, OXA-48 и NDM), 6 штаммов *Acinetobacter baumannii* (продуценты карбапенемаз OXA-23 и OXA-40), 3 штамма *Pseudomonas aeruginosa* (продуценты карбапенемазы VIM), 4 штамма *Stenotrophomonas maltophilia* (микроорганизмы с природной резистентностью к большинству антибиотиков), 7 штаммов метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA). Также в исследование включены 7 клинических изолятов *Candida albicans* и 4 референсных штамма из Американской коллекции типовых культур (*Escherichia coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213, *Candida albicans* ATCC 10231).

Октенидина дигидрохлорид, был синтезирован в ГНУ «Институт химии новых материалов НАН Беларуси» по оригинальной методике, ТУ ВУ 100289145.023-2016. Хлоргексидина биглюконат, мирамистин, натрия гипохлорит были получены из коммерческих источников. Готовили базовые растворы антисептиков в дистиллированной воде с концентрацией 10 мг/мл и выполняли их стерилизующую фильтрацию (фильтры-насадки Filtropur S 0,2 мкм, Sarstedt, Германия).

Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) антисептиков выполняли методом последовательных микроразведений в бульоне. Исследование выполняли в соответствии с ISO 20776-1:2019 [9]. Двукратно убывающие серийные разведения антисептиков готовили в бульоне Мюллера-Хинтон («BD», США) и вносили в объеме 100 мкл на лунку в стерильные круглодонные 96-луночные полистироловые планшеты («Sarstedt», Германия). Для приготовления инокулята использовали метод прямого суспендирования в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия колоний чистой 18–24-часовой культуры бактерий, выросшей на плотной неселективной питательной среде. Готовили бактериальную суспензию с плотностью 0,5 по стандарту мутности МакФарланда (контроль денситометром DEN-1B, Biosan, Латвия), что соответствовало концентрации  $1-2 \times 10^8$  КОЕ/мл. Разводили полученную суспензию в 10 раз, для чего переносили 0,5 мл суспензии в пробирку с 4,5 мл стерильного изотонического раствора и перемешивали на вортексе. Вносили по 5 мкл полученной суспензии в ряды лунок 1-11 планшета, содержащие серийные разведения, и ряд лунок 12 с бульоном Мюллера-Хинтон (контроль роста). Стартовая концентрация микробных клеток в лунках составляла  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл. Время от приготовления микробных суспензий до инокуляции планшетов не превышало 15 мин. Планшеты закрывали крышками и инкубировали при 35 °С в течение 16–20 ч.

Учет результатов проводили с использованием камеры визуального считывания Thermo V4007 (Thermo Fisher Scientific, США). Результаты учитывали при наличии достаточного роста исследуемых микроорганизмов в лунках ряда 12 с положительным контролем. Наличие и характер роста в каждой из лунок оценивали, сравнивая их с лункой положительного контроля. Самую низкую концентрацию антисептика, которая полностью блокировала видимый рост микроорганизма, регистрировали как МПК.

Для определения минимальных бактерицидных концентраций (МБК) делали высев 10 мкл из каждой лунки на сектор плотной питательной среды (Nutrient agar, HiMedia Laboratories, Индия), чашки инкубировали в течение 16–18 ч при 35 °С и оценивали рост на плотной среде. Минимальную концентрацию антисептика, подавляющую бактериальный рост на 99,9 % (отсутствие роста или рост не более 1 колонии микроорганизмов в секторе), учитывали как МБК.

**Результаты и их обсуждение.** В тестируемом диапазоне концентраций гипохлорит натрия не оказывал бактерицидной активности и был исключен из дальнейшего исследования. Данные МПК и МБК для других антисептиков представлены в таблицах 1 и 2. МПК и МБК хлоргексидина для штаммов *K. pneumoniae* варьировала от 8 до 32 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> составили 16 мг/л. МПК хлоргексидина для всех штаммов *P. aeruginosa* была 8 мг/л, МБК – 16 мг/л. МПК и МБК хлоргексидина для всех штаммов *A. baumannii* – 32 мг/л. МПК и МБК хлоргексидина для штаммов *S. maltophilia* варьировали от 16 до 64 мг/л. МБК<sub>50</sub> – 32 мг/л, МБК<sub>90</sub> – 64 мг/л. МПК и МБК хлоргексидина для штаммов *S. aureus* составили 1–2 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> – 2 мг/л. МПК и МБК хлоргексидина для штаммов *C. albicans* – от 16 до 32 мг/л. МБК<sub>50</sub> – 16 мг/л, МБК<sub>90</sub> – 32 мг/л.

Таблица 1. МПК антисептиков для штаммов микроорганизмов

Микроорганизм	Штамм	Механизм антибиотико-резистентности	МПК, мг/л			МПК <sub>50</sub> , мг/л		
			Мирамистин	Хлоргексидин	Октенидин	Мирамистин	Хлоргексидин	Октенидин
<i>K.pneumoniae</i>	БК-045	NDM	16	16	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-160	NDM	16	32	4			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-165	NDM	16	8	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-126	ОХА-48	16	16	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-128	ОХА-48	16	16	2	16	16	2
<i>K.pneumoniae</i>	БК-187	ОХА-48	16	32	4			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-178	КРС	16	16	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-179	КРС	16	8	2			
<i>K.pneumoniae</i>	420	КРС	16	16	2			
<i>P.aeruginosa</i>	БП-082	VIM	32	8	4			
<i>P.aeruginosa</i>	БП-095	VIM	64	8	4	64	8	4
<i>P.aeruginosa</i>	БП-100	VIM	64	8	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-157	ОХА-23	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-172	ОХА-23	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-176	ОХА-23	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-153	ОХА-40	16	32	4	16	32	4
<i>A.baumannii</i>	БА-163	ОХА-40	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-170	ОХА-40	16	32	2			
<i>S.maltophilia</i>	163		16	16	2			
<i>S.maltophilia</i>	283		32	16	2			
<i>S.maltophilia</i>	785		32	64	4	16	16	2
<i>S.maltophilia</i>	1262		16	16	2			
<i>S.aureus</i>	БС-010	MRSA	4	1	1			
<i>S.aureus</i>	БС-016	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	БС-018	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	44018	MRSA	4	2	1	4	2	1
<i>S.aureus</i>	47667	MRSA	4	1	1			
<i>S.aureus</i>	48588	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	49185	MRSA	4	1	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-009		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-012		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-017		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-021		8	16	1	8	16	1
<i>C.albicans</i>	БГ-029		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-041		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-049		8	16	1			
<i>E.coli</i>	ATCC 25922		8	0,25	2			
<i>P.aeruginosa</i>	ATCC 27853		32	2	4			
<i>S.aureus</i>	ATCC 29213		4	1	1			
<i>C.albicans</i>	ATCC 10231		8	16	1			

**Таблица 2.** МБК антисептиков для штаммов микроорганизмов

Микроорганизм	Штамм	Механизмы антибиотико-резистентности	МБК, мг/л			МБК <sub>50</sub> , мг/л		
			Мирамистин	Хлоргексидин	Октенидин	Мирамистин	Хлоргексидин	Октенидин
<i>K.pneumoniae</i>	БК-045	NDM	16	16	2	16	16	2
<i>K.pneumoniae</i>	БК-160	NDM	16	16	4			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-165	NDM	16	8	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-126	OXA-48	16	16	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-128	OXA-48	16	16	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-187	OXA-48	32	32	4			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-178	KPC	16	16	2			
<i>K.pneumoniae</i>	БК-179	KPC	16	8	2			
<i>K.pneumoniae</i>	420	KPC	16	16	2			
<i>P.aeruginosa</i>	БП-082	VIM	64	16	8	64	16	8
<i>P.aeruginosa</i>	БП-095	VIM	64	16	8			
<i>P.aeruginosa</i>	БП-100	VIM	64	16	8			
<i>A.baumannii</i>	БА-157	OXA-23	16	32	4	16	32	4
<i>A.baumannii</i>	БА-172	OXA-23	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-176	OXA-23	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-153	OXA-40	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-163	OXA-40	16	32	4			
<i>A.baumannii</i>	БА-170	OXA-40	16	32	2			
<i>S.maltophilia</i>	163		16	32	2	16	32	2
<i>S.maltophilia</i>	283		32	32	2			
<i>S.maltophilia</i>	785		64	64	4			
<i>S.maltophilia</i>	1262		16	32	2			
<i>S.aureus</i>	БС-010	MRSA	4	1	1	4	2	1
<i>S.aureus</i>	БС-016	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	БС-018	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	44018	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	47667	MRSA	4	2	1			
<i>S.aureus</i>	48588	MRSA	8	2	1			
<i>S.aureus</i>	49185	MRSA	4	2	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-009		16	32	1	8	16	1
<i>C.albicans</i>	БГ-012		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-017		16	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-021		8	32	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-029		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-041		8	16	1			
<i>C.albicans</i>	БГ-049		16	32	1			
<i>E.coli</i>	ATCC 25922		8	0,25	2			
<i>P.aeruginosa</i>	ATCC 27853		32	4	4			
<i>S.aureus</i>	ATCC 29213		4	2	1			
<i>C.albicans</i>	ATCC 10231		16	16	1			

Значения МПК и МБК мирамистина для штаммов *K. pneumoniae* варьировали от 16 до 32 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> – 16 мг/л. МПК и МБК мирамистина для штаммов *P. aeruginosa* – от 32 до 64 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> – 64 мг/л. МПК и МБК мирамистина для всех штаммов *A. baumannii* была 16 мг/л. МПК и МБК мирамистина для штаммов *S. maltophilia* – от 16 до 64 мг/л. МБК<sub>50</sub> составила 32 мг/л, МБК<sub>90</sub> – 64 мг/л. МПК и МБК мирамистина для штаммов *S. aureus* варьировала от 4 до 8 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> – 4 мг/л. МПК и МБК мирамистина для штаммов *C. albicans* были в диапазоне от 8 до 16 мг/л. МБК<sub>50</sub> – 8 мг/л, МБК<sub>90</sub> – 16 мг/л.

Таким образом, микробиологическая эффективность хлоргексидина и мирамистина значительно варьировала в отношении представителей различных таксономических групп, наиболее активными указанные препараты были в отношении *S. aureus* (диапазон МПК 1–2 мг/л), наименее активными – в отношении *K. pneumoniae* и грамотрицательных неферментирующих бактерий (диапазон МПК 8–64 мг/л). Значения МПК хлоргексидина и мирамистина для метициллиночувствительного штамма *S. aureus* ATCC 29213 и штаммов MRSA не отличались либо отличались всего на 1 разведение. Выявлена значительная гетерогенность значений МПК хлоргексидина для экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих различные типы карбапенемаз (8–32 мг/л).

МПК и МБК октенидина для штаммов *K. pneumoniae* варьировала от 2 до 4 мг/л. МБК<sub>50</sub> – 2 мг/л, МБК<sub>90</sub> – 4 мг/л. МПК и МБК октенидина для штаммов *P. aeruginosa* были в диапазоне от 4 до 8 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> – 8 мг/л. МПК и МБК октенидина для штаммов *A. baumannii* были в пределах от 2 до 4 мг/л. МБК<sub>50</sub> и МБК<sub>90</sub> – 4 мг/л. МПК и МБК октенидина для штаммов *S. maltophilia* – от 2 до 4 мг/л. МБК<sub>50</sub> – 2 мг/л, МБК<sub>90</sub> – 4 мг/л. МПК и МБК октенидина для 7 штаммов *S. aureus* и *C. albicans* – 1 мг/л. Таким образом, октенидин проявлял антибактериальную активность в концентрациях, в 4–16 раз меньших, чем мирамистин и хлоргексидин. Его микробиологическая активность была универсальной, что проявлялось в сходных значениях МПК как для микроорганизмов из разных таксономических групп так и с различными механизмами антибиотикорезистентности.

**Заключение.** На основании проведенного исследования выявлена значительная межвидовая гетерогенность госпитальных штаммов по признаку чувствительности к мирамистину и хлоргексидину. Октенидина дигидрохлорид обладает наиболее выраженной бактерицидной и фунгицидной активностью. Бактерицидная активность октенидина дигидрохлорида универсальна и проявляется в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая штаммы с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам.

#### Литература:

- [1]. Родин А. В. Выбор местного антисептика для лечения и профилактики раневой инфекции. Стационарозамещающие технологии // Амбулаторная хирургия. 2019. Т. 3–4. С. 47–56.
- [2]. Дунаевский А.М. Клиническое обоснование использования препарата Мирамистин в терапии инфекционно-воспалительных заболеваний респираторной системы // Поликлиника. 2013. № 5. С. 1–11.
- [3]. Егоров В.В., Смолякова Г.П., Сорокин Е.Л., Абдуллин И.Ю. Целесообразность и клиническая эффективность применения гипохлорита натрия в комплексном лечении больных с крайне тяжелым течением гнойного кератита // Клиническая офтальмология. 2005. Т 6. № 4. С. 154.
- [4]. Wand M.E., Bock L.J., Bonney L., Sutton M. Mechanisms of Increased Resistance to Chlorhexidine and Cross-Resistance to Colistin following Exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016. Vol. 61. № 1. P. 1116–1162.
- [5]. Williamson D.A., Carter G.P., Howden B.P. Current and Emerging Topical Antibacterials and Antiseptics: Agents, Action, and Resistance Patterns // Clinical Microbiology Reviews. 2017. Vol. 30. № 3. P. 827–860.
- [6]. Gastmeier P., Kampf K., Behnke M. et al. An observational study of the universal use of octenidine to decrease nosocomial bloodstream infections and MDR // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2016. Vol. 71. № 9. P. 2569–2576.

- [7]. Kramer A., Dissemond J., Kim S. et al. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018 // *Skin Pharmacol Physiol*. 2018. Vol. 31. № 1. P. 28–58.
- [8]. Kampf G. Biocidal Agents Used for Disinfection Can Enhance Antibiotic Resistance in Gram-Negative Species // *Antibiotics*. 2018. Vol. 7. № 4. P. 110.
- [9]. ISO 20776-1:2019 Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

D. V. TAPALSKY<sup>1,2</sup>, E. V. KARPOVA<sup>3</sup>, N. E. KOLCHANOVA<sup>3</sup>, V. V. BUTKEVICH<sup>2</sup>, ZH. V. IGNATOVICH<sup>4</sup>,  
YU. V. MATVEENKO<sup>4</sup>, A. A. ROGACHEV<sup>4</sup>

### SUSCEPTIBILITY OF ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM HOSPITALIZED PATIENTS TO OCTENIDINE DIHYDROCHLORIDE AND OTHER ANTISEPTICS

<sup>1</sup> State Scientific Institution “Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus”,  
Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup> Educational Institution “Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup> Educational Institution “Gomel State Medical University”, Gomel, Republic of Belarus

<sup>4</sup> State Scientific Institution “Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus”, Minsk, Republic of Belarus

#### Summary

The bacteriostatic, bactericidal and fungicidal activity of octenidine dihydrochloride, chlorhexidine bigluconate, miramistin and sodium hypochlorite was studied against control strains and 36 clinical strains of bacteria and fungi (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *S. aureus*, *C. albicans*) with previously determined mechanisms of antibiotic resistance. The minimum inhibitory concentrations for antiseptics were assessed by the broth microdilution method. The bactericidal activity was evaluated using the suspension method. Sodium hypochlorite didn't exhibit bactericidal activity. Octenidine hydrochloride was the most active (MIC<sub>50</sub> 1–4 mg/l, MBC<sub>50</sub> 1–8 mg/l) and universal against various types of microorganisms. Chlorhexidine and miramistin had similar efficacy, significantly inferior to octenidine (MIC<sub>50</sub> 2–64 mg/l, MBC<sub>50</sub> 2–64 mg/l). Thus, octenidine dihydrochloride has a more pronounced bactericidal and fungicidal activity than chlorhexidine bigluconate, miramistin and sodium hypochlorite, which is universal and demonstrates itself against gram-positive and gram-negative bacteria, including multidrug and extensively drug-resistant strains.

**Keywords:** antiseptics, octenidine dihydrochloride, chlorhexidine bigluconate, miramistin, bacteria, antibiotic resistance.

Д. В. ТАПАЛЬСКИЙ<sup>1</sup>, Н. Э. КОЛЧАНОВА<sup>2</sup>

## АВТОМАТИЧЕСКИЙ ПРОТОЧНЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПОЛОСТИ РТА *IN VITRO*

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

Создание условий *in vitro*, которые имитировали бы физиологические параметры органов и систем организма, является важной задачей для решения вопроса о тестировании новых материалов, антибактериальных препаратов и антисептических растворов в условиях лаборатории. Разработан автоматический проточный биореактор для одномоментного тестирования четырех стоматологических образцов. Биопленка, сформированная на поверхности тканей зуба в условиях перфузируемой термостатируемой ячейки, отличается меньшей толщиной, чем сформированная в статических условиях.

*Ключевые слова:* биопленка, автоматический проточный биореактор, эмаль зуба, полость рта.

**Введение.** Микробиом полости рта состоит из более чем 1000 различных видов бактерий и по оценке ряда авторов насчитывает около 20 миллиардов представителей. Для систематизации бактерий ротовой полости человека была создана Human Oral Microbiome Database (HOMD), которая включает как представителей нормальной микрофлоры, так и возбудителей заболеваний ротовой полости человека [1]. В настоящий момент HOMD включает свыше 774 видов микроорганизмов, принадлежащих к 16 типам: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gracilibacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *SR1*, *Synergistetes*, *Tenericutes*, *TM7* и *WPS-2*. Приблизительно 58 % из них описаны и имеют видовое имя, 16 % – культивируются, но не описаны, 26 % – не культивируются [1, 2, 3]. С появлением современных молекулярно-генетических методов исследования, таких как полимеразная цепная реакция в режиме реального времени и секвенирование, появились многочисленные данные по изучению протеома и метогенома ротовой жидкости. Согласно исследованию Cong Shic с соавторами в смешанной слюне было выделено 5 преобладающих типов микроорганизмов: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* [4]. В группе пациентов с активным кариесом были идентифицированы *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Oribacterium*, *Megasphaera* и *Kingella*; для группы с периодонтитом были характерны *Bifidobacterium*, *Porphyromonas* и *Peptostreptococcus*; в третьей группе с коморбидной патологией чаще встречались *Scardovia*, *Bacteroides*, *Selenomonas*, *Parvimonas*, *Lautropia*, *Campylobacter*, *Treponema*, *TG5* и *Candidatus Tammella*; в группе здоровых лиц преобладали *Prevotella*, *Neisseria* и *Haemophilus*. Таким образом, микробиом слюны отличается при различных патологических состояниях полости рта, он индивидуален, зависит от состава ротовой жидкости, например, уровня иммуноглобулинов, антибактериальных ферментов, биологически активных веществ. В смешанной слюне микроорганизмы находятся в виде ассоциаций, которые формируются после диссоциации биопленки [5]. Нарушения состава и функционирования микробиома смешанной слюны приводит к возникновению и развитию различных заболеваний, включая кариес, периодонтиты, а также соматические заболевания, такие как инфекционный эндокардит, иные заболевания сердечно-сосудистой системы, инсульт, диабет, пневмония [6, 7].

Слюна является одной из шести биологических жидкостей организма и играет жизненно важную роль в сохранении гомеостаза полости рта. В покое отражается базовая скорость слюноотделения [8]. Такая слюна присутствует во рту около 14 часов в сутки, стимулированная слюна – до 1,5 часов в сутки (она связана с алиментарными функциями). В сутки у человека вырабатывается в среднем от 1–2,5 л слюны, во рту в среднем находится от 1 до 2 мл. Норма выделения слюны составляет 2 мл за 10 минут. Скорость секреции неравномерна, она зависит от ряда факторов: отделение слюны уменьшается при стрессе, испуге или обезвоживании, практически прекращается во время сна и наркоза, также с возрастом (слюноотделение замедляется после 55–60 лет); усиление выделения слюны происходит при действии обонятельных и вкусовых стимулов, а также вследствие механического раздражения крупными частицами пищи и при жевании [9]. Кроме того, во время сна слюны выделяется в 8–10 раз меньше, чем в период бодрствования – от 0,3 до 0,5 мл/мин, а при стимуляции скорость выделения составляет 2,0–2,5 мл/мин [10, 11]. Патология слюнных желез, тканей полости рта и других органов приводит к развитию ксеростомии либо гиперсаливации. Наиболее неблагоприятным для пациента является состояние сухости полости рта (ксеростомия), при это скорость секреции нестимулированной слюны ниже 0,1 мл/мин, а стимулированной ниже 0,7 мл/мин [12, 13]. Это состояние может привести к галитозу, изменению микробиома полости рта, кариесу и заболеваниям периодонта [14, 15].

В настоящее время для исследования свойств стоматологических материалов применяют каппы с фиксированными на них биологически активными материалами, однако ограниченное число добровольцев, дискомфорт в полости рта, возможные побочные реакции со стороны биоактивных материалов указывают на несостоятельность данного способа. Таким образом, актуальным является изготовление динамической системы *in vitro*, в которой будет возможно воспроизвести микробную колонизацию, биопленкообразование на поверхности материалов; определить их антибактериальные и антибиопленочные свойства.

**Материалы и методы исследования.** Проточные камеры прототипа биореактора были изготовлены с применением 3D-принтера CREALITY ENDER 3 PRO из полиэтилентерефталатгликоля (PETG). Окончательная модель автоматического проточного биореактора изготовлена из термостойкого биоинертного полимерного материала – политетрафторэтилена. Для подачи и сброса жидкости использовали дистанционно управляемые перистальтические насосы Runze Fluid, Intlab, Китай, и силиконовые трубки с внутренним диаметром 1 мм.

В качестве материала для исследования применяли продольные шлифы эмали интактных постоянных зубов, удаленных по ортодонтическим показаниям у пациентов в возрасте от 17 до 30 лет. Образцы зубов хранили в 0,9 % растворе хлорида натрия. Толщина шлифов, полученных путем распила коронки алмазным инструментом с водяным охлаждением – 2 мм. Окончательную обработку поверхности производили терапевтическими полировочными дисками убывающей абразивности.

Формирование биоплёнки на поверхности тканей зуба проводили с использованием референсного штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Контролем служила биопленка, сформированная в статических условиях [16]. Для культивирования биопленки в динамических условиях в качестве питательной среды был выбран бульон Мюллера-Хинтон. Стартовая концентрация бактериальных клеток составляла 10<sup>7</sup> клеток/мл, время инкубации 48 часов при температуре 35 °С. В качестве кариесогенного субстрата была выбрана 1 % глюкоза.

Качественный учет результатов проводили с применением конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Для этого использовали микроскоп Leica TCS SPE (Leica Microsystems, Германия) с программным обеспечением LAS AF. Шлифы зуба фиксировали на стекле, окраску препаратов проводили раствором DAPI 0,02 мкг/мл, измерение проводили в 10 точках на поверхности образцов. Цифровое изображение результатов сканирования обрабатывали программой ImageJ (НИН, США). Этапы обработки включали получение 8-

битного изображения в градациях серого цвета и выделение в изображении областей интереса, соответствующих поверхности тканей зуба, содержащих биопленку.

Количественное определение способности микроорганизмов к образованию биопленки было выполнено с помощью спектрофотометрического метода, основой которого является окраска полисахаридного матрикса раствором кристаллического фиолетового с последующим определением массы микробной биопленки. Для определения массы полученные значения оптической плотности ( $E_{оп}$ ) переводили в вес микробной биопленки, образованной микроорганизмами, из расчета на одну лунку 96-луночного планшета, используя формулу (1):

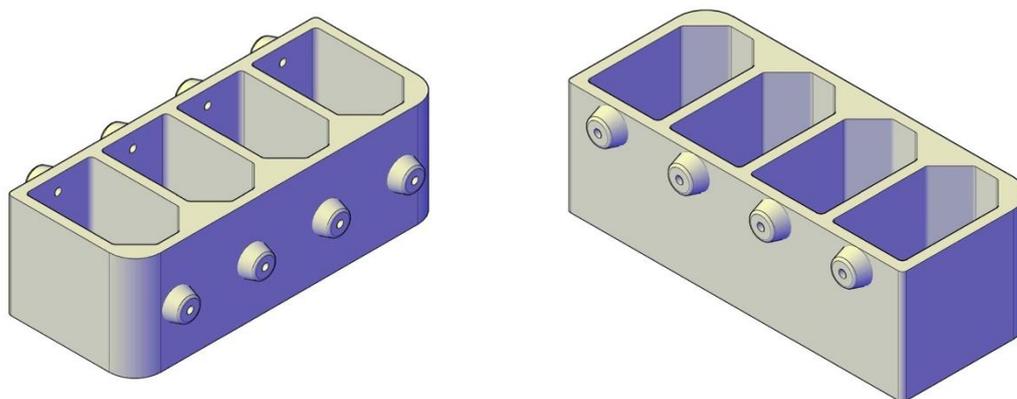
$$X = 226,28 \times E_{оп}^{1,28}, \quad (1)$$

где: X – искомая масса биопленки в лунке,

$E_{оп}$  – оптическая плотность лунки.

Статистический анализ результатов исследования был выполнен с использованием аналитического пакета «Statistica».

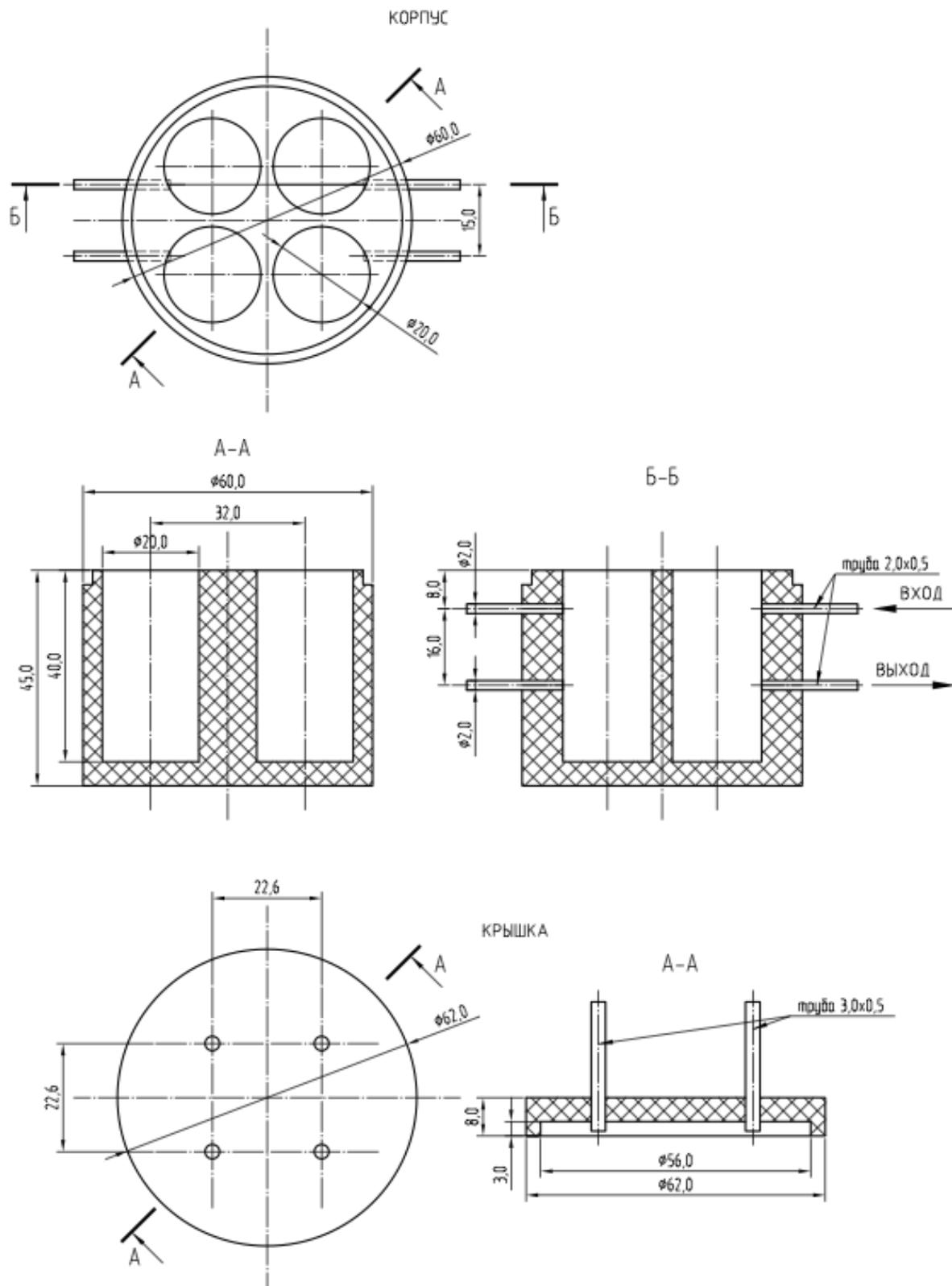
**Результаты и их обсуждение.** На первом этапе методом 3D-печати создан прототип биореактора, который имитирует динамические условия слюноотделения в полости рта. Проточные камеры прототипа биореактора представлены на рисунке 1. В устройстве биореактора четыре независимые камеры, которые объединены в общий корпус. Благодаря расположению входных и выходных отверстий на разном уровне, в каждой из ячеек поддерживается постоянный объем жидкости, который составляет 5 мл и ограничен положением выходного отверстия. Подача и сброс жидкости в проточной камере осуществляется благодаря перистальтическим насосам. Система подающих и отводящих перистальтических насосов соединена с ячейками биореактора посредством силиконовых трубок. Чтобы создать экспериментальные условия, близкие к физиологическим, выбрана скорость потока жидкости 0,3 мл/мин, что соответствует естественному току слюны в период бодрствования. Таким образом, описанная модель биореактора создает условия, близкие к физиологическим *in vivo*, что имеет решающее значение для изучения поверхности стоматологических материалов, предназначенных для использования в полости рта.



**Рисунок 1.** 3D модель прототипа биореактора

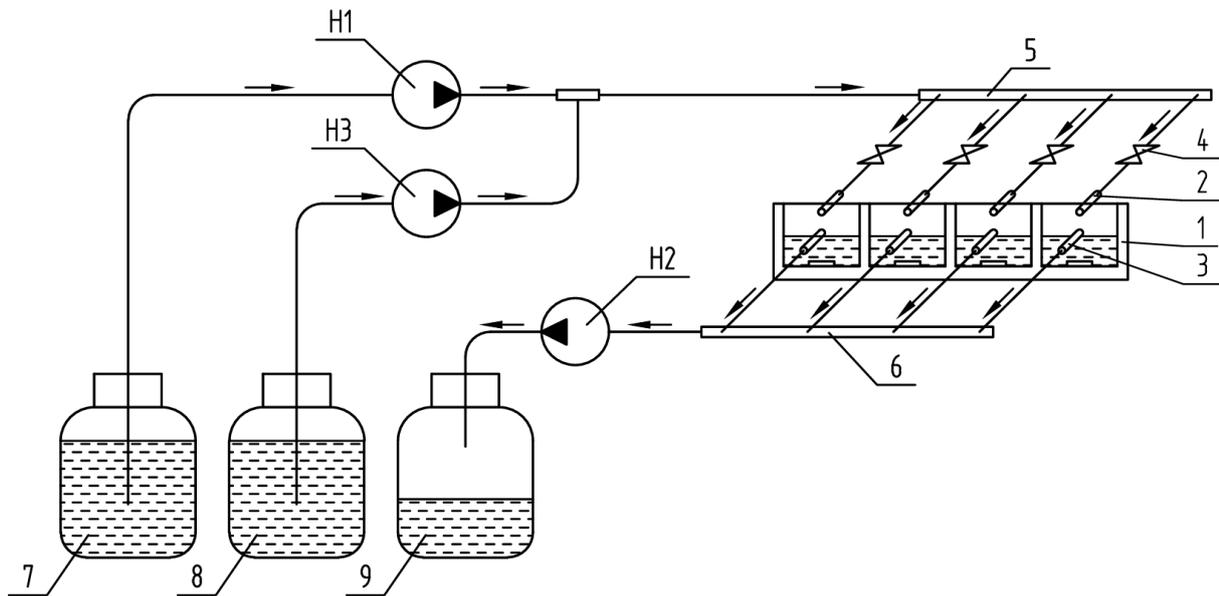
В дальнейшем была проведена оптимизация функциональных параметров и структуры системы, разработка и сбор автоматического проточного биореактора, моделирующего естественные условия ротовой полости, с использованием термостойкого биоинертного полимерного материала (политетрафторэтилена). Данная модель состоит из фторопластового корпуса, диаметром 60 мм и высотой 45 мм, который герметично закрывается фторопластовой крышкой. Внутри находятся четыре проточные камеры. Каждая из них имеет входное и выходное отверстия с интегрированными трубками из нержавеющей стали

для перфузии питательной среды и ее откачки. Емкость камеры определена положением выпускного отверстия и составляет 5 мл. Корпус устройства герметично закрывается фторопластовой крышкой с четырьмя газоотводными трубками, которые располагаются над каждой из камер (рисунок 2).



**Рисунок 2.** Автономный проточный биореактор для оценки антибактериальных свойств стоматологических материалов

Три перистальтических насоса соединяют герметично с трубками из нержавеющей стали подающих и отводящих отверстий силиконовыми шлангами, при этом первый насос осуществляет непрерывную подачу питательной среды в проточную камеру, второй насос обеспечивает непрерывный отвод избытка жидкости из камер, третий насос периодически осуществляет инфузию карисогенного субстрата (раствора глюкозы) в камеры (рисунок 3).



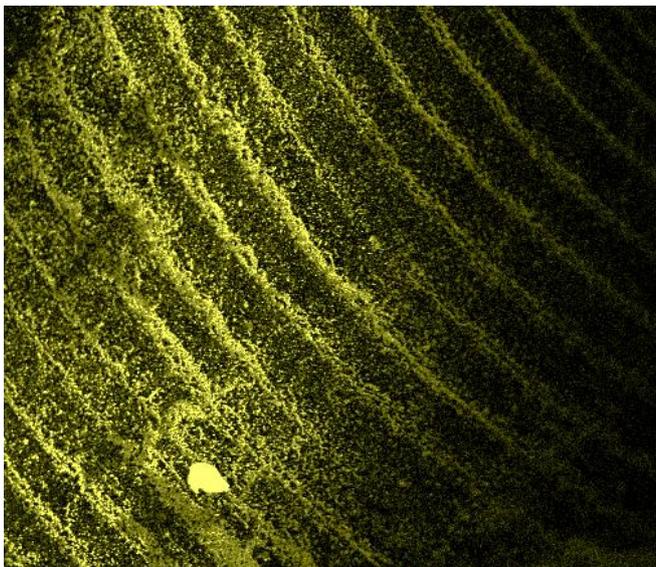
**Рисунок 3.** Схема автоматического проточного биореактора

1 – фторопластовый корпус; 2, 3 – интегрированные трубки из нержавеющей стали для перфузии питательной среды и ее откачки; 4 – шланговые шибера; 5 – распределительный коллектор; 6 – собирающий коллектор; 7 – емкость со стерильной питательной средой; 8 – емкость с раствором глюкозы; 9 – емкость для сбора избытка жидкости; Н1 – насос для подачи питательной среды; Н2 – насос для откачки избытка жидкости; Н3 – насос для подачи раствора глюкозы

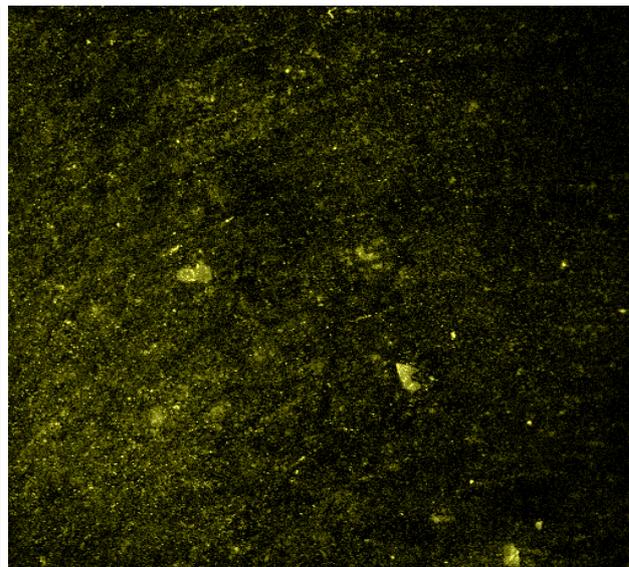
Система размещается в термостате пре температуре 35 °С и работает автономно, насосы управляются дистанционно через WiFi-адаптеры.

С использованием проточного автоматического биореактора определены качественные и количественные характеристики формирования микробных биопленок на поверхности эмали зуба. В качестве контроля формировали биопленку в статических условиях на аналогичной поверхности. Согласно полученным данным, на поверхности тканей зуба в динамических условиях статистически значимо ( $p < 0,05$ ) образуется более тонкая биопленка *S. aureus* толщиной  $3,84 \pm 0,78$  мкм (рисунок 4). Полученная в статических условиях биопленка *S. aureus* обладает большей толщиной на поверхности эмали зуба и составляет  $12,7 \pm 1,92$  мкм (рисунок 5). Анализ изображения в программе ImageJ показал, что статистически значимо ( $p < 0,05$ ) большую интенсивность окраски имела биопленка *S. aureus*, сформированная в статических условиях (11,34) в сравнении с аналогичной биопленкой в динамической среде (3,28).

Количественный анализ биопленкообразования позволил установить, что в динамических условиях биореактора на поверхности тканей зуба образуется биопленка *S. aureus* массой  $6,09 \pm 0,03$  мкг/лунку, что статистически значимо ( $p < 0,001$ ) меньше, чем в статических условиях культивирования образцов. Полученная в статических условиях биопленка *S. aureus* составила  $55,91 \pm 0,18$  мкг/лунку.



**Рисунок 4.** Биопленка *S. aureus* на поверхности эмали зуба в статических условиях



**Рисунок 5.** Биопленка *S. aureus* на поверхности эмали зуба в динамических условиях

За последние десятилетия были разработаны различные проточные системы для анализа формирования и роста бактериальных биопленок на различных поверхностях. Данные системы успешно конкурируют со статическими условиями культивирования микроорганизмов. В работе Henryke R. et al. описано устройство с проточной камерой для анализа роста микробной биопленки на поверхности дентальных имплантатов *in vitro* [17]. Также известно устройство для выращивания микробных биопленок на поверхности стоматологических материалов, размещаемых в перфузионной системе [18]. Приведенные примеры, а также разработанный нами изначальный прототип биореактора, созданный с использованием 3D-печати, имеют ряд недостатков, среди них термолабильность конструкции и невозможность термической стерилизации, пористость структуры проточных камер, сложность конструкции проточной ячейки, а также отсутствие систем для равномерного распределения питательной среды и кариесогенных субстратов, отсутствие элиминации продуктов метаболизма микроорганизмов.

**Заключение.** Предложенная модель автоматического проточного биореактора за счет постоянной перфузии культуральной жидкости, присутствия микроорганизмов, характерных для ротовой полости, болюсной подачи глюкозы на поверхности сразу нескольких исследуемых образцов позволяет проводить исследования в условиях, максимально приближенных к естественным. Анализ полученных данных подтверждает, что в условиях *in vivo* движение жидкостей организма оказывает существенное влияние на рост и развитие микроорганизмов, а также формирование ими биопленок. В динамических условиях биореактора отмечено уменьшение интенсивности образования микробной биопленки на поверхности эмали зуба.

Применение разработанного автоматического проточного биореактора позволяет использовать его в микробиологических лабораториях для проведения исследований, связанных с оценкой антимикробной активности новых стоматологических материалов, функционализированных поверхностей и композиционных покрытий.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.*

#### **Литература:**

- [1]. Chen T., Yu W.H., Izard J. et al. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information // Database (Oxford). 2010. Vol. 2010. P. 1–10.

- [2]. Zarco M.F., Vess T.J., Ginsburg G.S. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine // *Oral Dis*. 2012. Vol. 18. P. 109–120.
- [3]. Степанова Т.Ю., Тимофеева А.В. Микробиом ротовой полости человека // *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 5. С. 308.
- [4]. Shi C., Cai L., Xun Z. et. al. Metagenomic analysis of the salivary microbiota in patients with caries, periodontitis and comorbid diseases // *J Dent Sci*. 2021. Vol. 16. P. 1264–1273.
- [5]. Filoche S., Wong L., Sissons C.H. Oral Biofilms: Emerging Concepts in Microbial Ecology // *J. of Dental Research*. 2009. Vol. 89. P. 8–18.
- [6]. Mark Welch J.L., Rossetti B.J., Rieken C.W. et. al. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016. Vol. 113. P. 791–800.
- [7]. Kilian M., Chapple I.L., Hannig M. et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals // *Br Dent J*. 2016. Vol. 221. P. 657–666.
- [8]. Лейс, П.А. Смешанная слюна (состав, свойства и функции). Мн.: Беларусь, 2004. 42 с.
- [9]. Gil-Montoya J.A., Sánchez-Lara I., Carnero-Pardo C. et al. Oral Hygiene in the Elderly with Different Degrees of Cognitive Impairment and Dementia // *J Am Geriatr Soc*. 2017. Vol. 65. P. 642–647.
- [10]. Song M., Bai H., Zhang P. et. al. Promising applications of human-derived saliva biomarker testing in clinical diagnostics // *Int. J of Oral Science*. 2023. Vol. 15. P. 1–17.
- [11]. Pedersen A.M.L., Sørensen C.E., Proctor G.B. et. al. Salivary secretion in health and disease // *J Oral Rehabil*. 2018. Vol. 45. P. 730–746.
- [12]. López-Pintor R.M., Casañas E., González-Serrano J. et. al. Xerostomia, Hyposalivation, and Salivary Flow in Diabetes Patients // *J Diabetes Res*. 2016. Vol. 2016. P. 1-15.
- [13]. Hopcraft M.S., Tan C. Xerostomia: an update for clinicians // *Austr. Dent. J*. 2010. Vol. 55. P. 238–244.
- [14]. Ронь Г.И. Клинический опыт лечения инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта с использованием препарата на основе кремнийорганического глицерогидрогеля // *Уральский медицинский журнал*. 2008. Т. 50. № 10. С. 59–60.
- [15]. Cui Y., Mengying Y., Jia Z. et. al. Developments in diagnostic applications of saliva in human organ diseases // *Med in Novel Techn and Dev*. 2022. Vol. 13. P. 1–11.
- [16]. Окулич В.К., Колчанова Н.Э., Чернявский Ю.П. Особенности течения хронического периодонтита, ассоциированного с биопленкообразующими микроорганизмами // *Пародонтология*. 2018. Т. 23. № 4. С. 9–14.
- [17]. Henryke R., Sascha N.S., Meike S. Development of a flow chamber system for the reproducible in vitro analysis of biofilm formation on implant materials // *Plos One*. 2017. Vol. P. 1–12.
- [18]. Kohno T., Kitagawa H., Tsuboi R. et. al. Establishment of novel in vitro culture system with the ability to reproduce oral biofilm formation on dental materials // *Nature. Sc Reports*. 2021. Vol. 11. P. 1–18.

D. V. TAPALSKY<sup>1</sup>, N. E. KOLCHANOVA<sup>2</sup>

**AUTOMATIC FLOW BIOREACTOR FOR REPRODUCTION OF PHYSIOLOGICAL CONDITIONS OF THE ORAL CAVITY IN VITRO**

<sup>1</sup> State Scientific Institution «Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup> Educational Institution «Gomel State Medical University», Gomel, Republic of Belarus

**Summary**

Creating *in vitro* conditions that mimic the physiological parameters of organs and systems is an important task to solve the question of testing new materials, antibacterial drugs and antiseptic solutions in laboratory conditions. Developed automatic flow bioreactor for one-time testing of four samples. The biofilm formed on the surface of dental tissues under the conditions of a perfused thermostatted cell is thinner than that formed under static conditions.

**Keywords:** biofilm, automatic flow bioreactor, tooth enamel, oral cavity.

*И. В. КАНДЫБО, О. И. ШАЛАТОНИНА, Л. А. ПАШКЕВИЧ, М. Т. МОХАММАДИ*

## ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ СТАТОДИНАМИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПОСЛЕ РЕВИЗИОННОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОЛЕННОГО СУСТАВА

*Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр  
травматологии и ортопедии», г. Минск, Республика Беларусь*

На основании применения триплексного сканирования, реографии и электромиографии проведено исследование функционального состояния нервно-мышечной системы, регионарного кровотока у пациентов с остеоартрозом 3 – 4 степени до и после ревизионного эндопротезирования коленного сустава. Изучены структурные особенности перипротезных тканей. Установлена дестабилизация функции мышц и характерные особенности кровотока. Определен паттерн функциональных изменений статодинамической функции и интенсивность дегенеративных процессов в костно-хрящевых структурах, что является объективной основой для выбора типа планируемой операции, прогнозирования сроков и качества восстановления моторной функции, опороспособности поврежденной конечности.

*Ключевые слова:* триплексное сканирование, реография, электромиография, патоморфологическое исследование, ревизионное эндопротезирование коленного сустава, мышечная функция.

**Введение.** Дегенеративно-дистрофические заболевания крупных суставов человека коррелируют с возрастом, достигая частоты в 3–5 % после 45 лет, 30 % у людей от 45 до 64 лет и 60–70 % у лиц старше 60 лет [1]. Среди них артроз коленного сустава (гонартроз) регистрируется в 50,6–54,5 % и в большинстве случаев поражает лиц трудоспособного возраста [2]. Одним из наиболее эффективных и общепризнанных методов лечения гонартроза 3–4 степени после малоэффективного консервативного является тотальное эндопротезирование коленного сустава (ТЭКС), направленное на уменьшение интенсивности болевого синдрома, улучшение двигательной функции пораженного сустава и опороспособности нижней конечности [3, 4, 5, 6]. Степень удовлетворенности результатами лечения пациентов после ТЭКС составляет 75–89 %, а от 10 до 25% оперированных лиц предъявляют жалобы на развивающуюся с длительным временем неустойчивость коленного сустава, болевой синдром, изменение походки, что снижает качество жизни и требует ревизии сустава [7, 8].

С увеличением количества первичных операций растет число ревизионных операций [9]. В клиниках США процент ревизионных операций достигает 15 % от общего числа эндопротезирований, а по европейским публикациям, количество таких операций достигает 20 % [10]. В Республике Беларусь на 31 первичное эндопротезирование приходится одно ревизионное.

Восстановление функциональных возможностей пациентов после ревизионного эндопротезирования коленного сустава (РЭКС) является длительным и сложным процессом. Изучение особенностей восстановительных процессов в раннем и отдаленном периодах после выполнения хирургического вмешательства представляется актуальным для оценки состояния пациентов с учетом объективного определения двигательной функции, анатомического состояния и морфологических характеристик поврежденного сегмента. Оценка влияния на организм установки имплантата коленного сустава, которая вносит изменения и в рефлексогенные зоны и проприоцептивный ответ,

необходима для постановки реабилитационного диагноза и определения реабилитационного потенциала.

**Материалы и методы исследования.** Проведен анализ результатов реовазографического (РВГ) обследования и триплексного сканирования методом ультразвуковой доплерографии (УЗДГ) магистральных артерий нижних конечностей у 23 пациентов с асептической нестабильностью коленного сустава в возрасте от 52 до 75 лет на этапах подготовки к ревизионному протезированию и в период 8–10 дней, 2–3 месяца, 6 месяцев после операции. Выполнена регистрация и анализ биоэлектрической активности (БА) мышц нижних конечностей при произвольных и вызванных реакциях. Функциональное состояние мышц (*mm. vastus lateralis, vastus medialis, rectus femoris, biceps femoris, tibialis anterior, gastrocnemius medialis, soleus, extensor hallucis longus*) определяли с помощью суммарной и стимуляционной электромиографии (ЭМГ) по стандартным методикам. Анализировали качественные параметры ЭМГ – структуру биоэлектрической активности, а также количественные показатели – амплитуду (А, мкВ). Билатерально регистрировали реограммы кровеносных сосудов бедра, голени и стопы в покое. Определяли объемную скорость кровотока (Q, мл/мин/100 см<sup>3</sup>). Методом УЗДГ сканировали *aa. и vv. femorales, femoris superficiales, profunda femoris, poplitea, tibiales posteriores, tibiales anterior, dorsales pedis, v. saphena magna, v. saphena parva*. Оценивали состояние сосудистых стенок (толщина, структура, однородность), наличие атеросклеротических бляшек и их характер, проходимость, наличие извитости, стенозов и их значимость, варикозного расширения, тромбозов, состоятельность клапанов магистральных глубоких и поверхностных вен, состояние периваскулярных тканей (зон отека). Оборудование: многофункциональный компьютерный комплекс «Нейро МВП», реограф «Рео-Спектр-3» (Нейрософт, Россия), ультразвуковой сканер «HD-15» (PHILIPS), линейный датчик 5–12 МГц. Контрольную группу составили 14 лиц в возрасте 52–64 лет с остеоартритом (ОА) коленного сустава I–II степени. Статистическая обработка данных производилась при помощи программы Microsoft Excel (2007 г.). Анализ соответствия вида распределения количественных показателей (критерий Шапиро-Уилка) показал нормальное распределение. Количественные показатели представлены в виде: среднее значение ± стандартное отклонение. Для определения статистической значимости использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок (межгрупповые различия). Статистически достоверным между оцениваемыми группами считали отклонение изучаемого параметра при  $p < 0,05$ .

Материалом для патоморфологических исследований являлись перипротезные ткани 23 пациентов, полученные при операциях ревизионного эндопротезирования. Применяли общепринятые гистологические методики изучения мягкой и костной тканей. Обработка полученных материалов проводилась методом сравнения средних (t-критерий Стьюдента), стандартных отклонений (F-критерий Фишера), медиан (W-критерий Манна-Уитни). Взаимосвязь между показателями определялась методом непараметрического двустороннего коэффициента корреляции Спирмена. Достоверность различий устанавливалась с помощью непараметрического метода Манна-Уитни.

Для реэндопротезирования коленного сустава у данных пациентов использовались следующие виды имплантатов: бикондилярные несцепленные, частично сцепленные и полностью сцепленные модели эндопротезов (шарнирные и петлевые) различных фирм производителей.

**Результаты и их обсуждение.** На этапах подготовки к ревизионному эндопротезированию коленного сустава качественный анализ полученных электромиограмм выявил различные типы структурной характеристики их на симптомной (сторона септической нестабильности имплантата) и асимптомной (сторона

интактного сустава) конечности. Так, на интактной стороне доминировала интерференционная структура ЭМГ, характеризующаяся активностью близкой к норме и отражающая асинхронное сокращение большого количества двигательных единиц с оптимальной величиной амплитуды (300–1000 мкВ) и частоты. Встречались ЭМГ с начальными признаками изменений по типу функциональной перегрузки или утомления. На симптомной стороне ЭМГ относили к типу частично редуцированных или атипичных, которые характеризовались низкой амплитудой с участками минимальной видимой частоты. Принадлежность зарегистрированных ЭМГ к различным типам определяется сочетанием влияний центральных факторов, регулирующих активность мотонейронных пулов с возможностью генерации периферических потенциалов действия. При этом формируется команда «произвольное максимальное напряжение», которая в норме реализуется, как интерференционная ЭМГ с оптимальными величинами амплитуды и частоты. Причиной выраженного отклонения параметров ЭМГ и изменения типа может быть снижение плотности мышечных волокон в результате недостаточности их кровоснабжения и локальной гипокинезии, что и наблюдалось у обследованных пациентов.

Широкие мышцы бедра являются стабилизаторами коленного сустава, осуществляют моторную и афферентную функцию, оказывают значительное влияние на коленный сустав, при изменении биомеханики которого могут возникать боли. При обследовании мышц бедра пациентов и лиц контрольной группы выявлено статистически достоверное снижение амплитуды биоэлектрической активности (БА, мкВ) на стороне предполагаемой ревизии коленного сустава для *m. vastus lateralis* – на 58 %, *m. vastus medialis* – на 64 %, для *m. rectus femoris* и *m. biceps femoris* на – 51 %. На интактной конечности – 37–48 %, с асимметрией симптомная/асимптомная 22–31 %.

На ЭМГ мышц голени дефицит амплитуды составлял для *m. gastrocnemius medialis* – 61 %, для *m. extensor hallucis longus* – 47 %, для *m. soleus* – 30 %, без существенной асимметрии между симптомной и асимптомной стороной. Значения амплитудных показателей *m. tibialis anterior* находились в пределах контрольных значений, что является позитивным фактом. Передняя большеберцовая мышца (*m. tibialis anterior*) в положении «стоя» участвует в установке стопы в соответствии с неровностями опоры, т.е. обеспечивает баланс конечности. При ходьбе эта мышца активна в фазе переднего толчка, при отрывании стопы от земли и в фазе переноса ноги. Вместе с мышцами-синергистами (*m. gastrocnemius*, *m. soleus*, *m. tibialis posterior*) обеспечивает супинацию стопы. Таким образом, сохранение на стороне нестабильности протеза коленного сустава сократительной способности *m. tibialis anterior* в диапазоне нормативных значений, на фоне снижения показателей БА мышц-синергистов, можно расценивать как адаптационную реакцию, необходимую для осуществления двигательной задачи. Симметричное распределение показателей сократительной способности мышц голени на симптомной и асимптомной конечности может свидетельствовать о возможности восстановления функции конечности после проведения ревизионного вмешательства.

В раннем послеоперационном периоде (8–10 дней) на стороне РЭКС выявлено снижение амплитуды БА мышц по сравнению с исходным уровнем в *m. vastus lateralis* и *m. biceps femoris* – на 48 %, *m. vastus medialis* – на 33 %, для *m. rectus femoris* – на 26 %, в *m. gastrocnemius medialis* – на 45 %, в *m. extensor hallucis longus* – 19 %, в *m. tibialis anterior* – на 54 %, в *m. soleus* – 38 %.

В следующий период наблюдения (2–3 месяца) отмечали положительную динамику параметров БА. На стороне ревизии в области бедра значение амплитудных показателей увеличилось в мышцах-разгибателях коленного сустава – на 4–35 %, в мышцах-сгибателях – на 51 %. В области голени оперированной конечности прирост

мышечной активности составил 36–73 %. Через 6 месяцев реабилитационного периода сократительная способность мышц оперированной конечности возростала и составляла от нижней границы контрольных значений в *m. vastus medialis* – 35 %, *m. vastus lateralis* – 40 %, с достижением исходного уровня, в *m. biceps femoris* и *m. rectus femoris* – 84 %, в *m. soleus* – 64 %, в *m. gastrocnemius medialis* и *m. extensor hallucis longus* – 67 % с превышением дооперационных значений. Сохранялась умеренная асимметрия параметров симптомная/асимптомная конечность в области бедра в пределах 30–54 %, в области голени – 7–19 %. Амплитудные показатели *m. tibialis anterior* находились в пределах контрольных значений.

Таким образом, проведенные исследования показали, что после РЭКС через 6 месяцев реабилитационного периода по сравнению с контрольной группой отмечается снижение функциональной активности мышц, участвующих в локомоторном акте, на уровне дооперационного исходного уровня. Отмечается асимметрия показателей симптомная/асимптомная конечность, что замедляет процесс восстановления симметричности походки и требует выполнение следующего этапа реабилитации. Дифференциальным критерием эффективности реабилитации служит процент различия амплитуд симптомной/асимптомной конечности в виде коэффициента асимметрии. Он несет двойную информационную нагрузку как реабилитационный потенциал и реабилитационный прогноз, что важно для выбора направленной реабилитации и коррекции режимов отдельных средств на различных временных этапах.

Выявленная динамика свидетельствует о сохранении резервных возможностей мышц для восстановления функции конечности. Полученные результаты работы в рамках системного интегрального подхода оценки спектра изменений в организме пациента (биологических, медицинских, психологических) позволяют прогнозировать получение положительных исходов реабилитации с возможностью повышения уровня жизнедеятельности пациентов.

Данные РВГ-исследования, проведенного на этапах подготовки к РЭКС свидетельствовали о достоверном ( $p < 0,05$ ) выраженном (до 51 %) симметричном снижении показателей объемного кровенаполнения относительно среднестатистических контрольных значений в области бедра на стороне планируемой ревизии и на асимптомной конечности (таблица 1).

**Таблица 1.** Динамика объемной скорости кровотока ( $Q$ , см<sup>3</sup>/мин/100 см<sup>3</sup>) на стороне ревизии и интактной нижней конечности на этапе подготовки и после РЭКС в различные сроки восстановительного периода по сравнению с контрольными значениями

Сроки	Бедро		Голень		Стопа	
	ревизия	интактная	ревизия	интактная	ревизия	интактная
до операции	1,32±0,52*	1,36±0,65*	3,18±0,84	3,16±0,72	3,48±1,27	3,43±0,87
8-10 дней	0,65±0,25*	0,58±0,14*	2,94±0,96	2,93±0,85	3,13±1,14	2,64±0,71
2-3 месяца	0,86±0,31*	0,64±0,20*	3,65±1,50	3,48±1,60	2,62 ± 0,77	2,43±0,96
6 месяцев	0,75±0,19*	0,96±0,26*	3,12±0,28	3,34±0,28	3,29 ± 0,37	3,96±0,16
норма	2,64±0,8 (1,60–3,27)		4,95±1,20 (3,75–6,15)		3,65±0,70 (2,94–4,3)	

Примечание: \* – достоверное изменение показателя кровотока обеих конечностей относительно нормы при  $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента

В ближайшем послеоперационном периоде (8–10 дней) динамика параметров объемного кровотока была аналогичной, как и улучшение амплитудных показателей

мышечной активности. Уровень кровенаполнения еще больше уменьшался относительно нормативных значений и составлял от среднестатистического значения нормы 21–24 % (таблица 1). Через 2–6 месяцев после РЭКС отмечалось слабое нарастание показателей объемного кровотока. Уровень кровенаполнения мышц бедра и на стороне ревизии и в интактной конечности не достигал дооперационного уровня, оставаясь достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже нормативных значений. В области голени и стоп (таблица 1) на этапах подготовки к РЭКС тенденция к снижению значений Q была незначительной, что не подтверждалось статистически. В послеоперационном периоде через 8–10 дней отмечали уменьшение показателей кровенаполнения в диапазоне 9–17 % с последующим восстановлением до исходного уровня к 6 месяцам после операции.

По данным ультразвуковой доплерографии в магистральных артериях выявлены признаки атеросклеротического проявления в виде диффузного медиасклероза и кальциноза стенок, преимущественно артерий берцового сегмента и стоп, у 13 из 23 пациентов – без значимого нарушения проходимости, у 4 – со стенозом 51–65 %. При сканировании магистральных глубоких и поверхностных вен у 12 пациентов было выявлено варикозное расширение большой подкожной (БПВ) и малой подкожной вен (МПВ), которое у 11 из них сопровождалось несостоятельностью остиальных клапанов, а у 3 – несостоятельностью перфорантов Кокетта. Недостаточность клапанов магистральных глубоких вен отмечали у 12 пациентов. У всех обследованных диагностировали телеангиэктазии и ретикулярный варикоз. Замедление венозного оттока по венам берцового сегмента имело место у 9 пациентов, по венам подколенно-берцового сегмента – у 4. Признаки незначительного или умеренного подкожно-лимфатического отека отмечали у 9 пациентов.

В раннем послеоперационном периоде у всех пациентов на стороне операции по глубоким венам регистрировался стимулированный кровоток и усиленный отток по магистральным поверхностным венам, имел место выраженный подкожно-лимфатический отек. В динамике наблюдения в исследуемой группе пациентов не было выявлено прогрессирования стенозирующих заболеваний артерий и тромбозов глубоких и поверхностных вен. В период 8–10 дней и через 2–3 месяца после РЭКС на стороне операции у всех пациентов по *v. poplitea* и *v. femoralis* регистрировался рефлюкс более 1,6 с. Эти данные свидетельствовали о выраженном затруднении венозного оттока по магистральным глубоким венам.

Проведенные наблюдения показали, что ответом регионарного кровотока на сложное хирургическое вмешательство и повторную имплантацию сустава явилось симметричное снижение объемного кровенаполнения на обеих нижних конечностях, выраженное в большей степени в области бедер (50–58 %), которое сохранялось до 6 месяцев реабилитационного периода. В области голени и стопы незначительные (9–11 %) колебания параметров объемного кровотока позволяли сохраняться уровню кровенаполнения практически в диапазоне физиологически допустимых нормативных значений. Сопоставление данных о затруднении венозного оттока и состоянии мягких тканей оперированной конечности предположительно свидетельствует о том, что основным патогенетическим звеном в развитии дисфункции сосудистой системы оперированной конечности в период до двух месяцев после РЭКС является наличие подкожно-лимфатического отека. Это обусловлено не только реакцией на хирургическое вмешательство, но и наличием у пациентов с ОА коленного сустава венозной недостаточности и нарушением лимфатического оттока, как в области коленного сустава, так и в регионе всей нижней конечности [11].

В группе обследуемых пациентов при гистологическом исследовании ревизионного материала коленного сустава, в перипротезной костной ткани,

контактирующей с эндопротезом выявлялся разной степени выраженности перипротезный остеолит, который, по мнению авторов статьи, является основным фактором, приводящим к нестабильности эндопротеза. В свою очередь, причиной остеолита является реактивное гигантоклеточное продуктивное воспаление в ответ на формирование продуктов износа компонентов импланта (пластика). В эндопротезированной суставной синовиальной оболочке наблюдались синовиты разной степени выраженности и активности проявления патологических признаков. На основании выявленных гистологических признаков авторы решили все перипротезные синовиальные ткани разделить на три группы: износ-индуцированный перипротезный синовит; инфекционно-индуцированный перипротезный синовит; индифферентный перипротезный синовит. Конкретизация формы синовита является важным для определения тактики дальнейшего лечения и коррекции интенсивности и продолжительности реабилитации.

**Заключение.** Таким образом, проведение электрофизиологических, реовазографических, ультразвуковых доплеровских исследований и стандартизированных патоморфологических исследований позволило получить важную информацию для выяснения многофакторного этиопатогенеза нестабильности эндопротеза коленного сустава. Причиной нестабильности чаще всего является развивающаяся при ходьбе несбалансированность активности мышц сгибателей и разгибателей, что усугубляется перипротезным остеолитом разной степени выраженности, который возникает в ответ на формирование продуктов износа компонентов сустава. Важно, что установленные патоморфологические результаты при сопоставлении с функциональными критериями статодинамической функции конечности имеют значение, не только в прогнозировании исходов эндопротезирования коленного сустава, но и для планирования реабилитационных мероприятий в зависимости от стадии восстановительного периода.

#### Литература:

- [1]. *Насонова В.А.* Проблема остеоартроза в начале XXI века // *Consilium Medicum*. 2000. Т. 2. № 6. С. 61–64.
- [2]. *Miller T.T.* Imaging of knee arthroplasty // *Eur J Radiol*. 2005. Vol. 54. № 2. P. 164–177.
- [3]. *Багирова Г.Г., Мейко О.Ю.* Остеоартроз, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение. Медицина. 2005. 224 с.
- [4]. *Кавалерский Г.М., Мурыле В.Ю., Елизаров П.М., Жучков А.Г.* Тотальное эндопротезирование коленного сустава с использованием компьютерной навигации при тяжелых деформациях // *Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2010. № 2. С. 34–40.
- [5]. *Зайцева Е.М., Алексеева Л.И.* Причины боли при остеоартрозе и факторы прогрессирования заболевания (обзор литературы) // *Научно-практическая ревматология*. 2011. № 1. С. 50–57.
- [6]. *Keurentjes J.C., Van Tol F.R., Fiocco M. et al.* Minimal clinically important differences in health-related quality of life after total hip or knee replacement: A systematic review // *Bone Joint Res*. 2012. Vol. 1. № 5. P. 71–77.
- [7]. *Bae D.K., Song S.J., Heo D.B. et al.* Long-term survival rate of implants and modes of failure after revision total knee arthroplasty by a single surgeon // *J. Arthroplasty*. 2013. Vol. 28. № 7. P. 1130–1134.
- [8]. *Postler A., Lutzner C., Beyer F. et al.* Analysis of total knee arthroplasty revision causes // *BMC Musculoskelet Disord*. 2018. Vol. 19. № 55. P. 1–6.
- [9]. *Clement N.D., Hamilton D.F., Burnett R.* A technique of predicting radiographic joint line and posterior femoral condylar offset of the knee // *Arthritis*. 2014. Vol. 2014. № 121069. P. 1–5.
- [10]. *Bozic K., Kurtz S., Lau E. et al.* The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States // *Clin. Orthop*. 2010. Vol. 468. P. 45–51.
- [11]. *Любарский М.С., Мустафаев Н.Р., Алтухов И.А.* Нарушение гемодинамики и лимфатического оттока в регионе коленного сустава у пациентов с гонартрозом // *Политравма*. 2011. № 3. С. 29–42.

*I. V. KANDYBO, O. I. SHALATONINA, L. A. PASHKEVICH, M. T. MOHAMMADI*

**STUDY OF FUNCTIONAL RESERVES OF STATODYNAMIC FUNCTIONAL AFTER REVISION  
KNEE ARTHROPLASTY**

*State Institution "Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics",  
Minsk, Republic of Belarus*

**Summary**

Using triplex scanning, rheography and electromyography, the functional state of the neuromuscular system and regional blood flow in patients with 3–4 degree osteoarthritis before and after revision knee arthroplasty were studied. Structural features of periprosthetic tissues were also studied. Destabilization of muscle function and characteristic features of blood flow were determined. The pattern of functional changes in statodynamic function and intensity of degenerative processes in bone and cartilage structures were determined, which is an objective basis for choosing the type of the planned operation, predicting the terms and quality of motor function restoration and support ability of the damaged limb.

*Keywords:* triplex scanning, rheography, electromyography, pathomorphological research, revision knee replacement, muscles functional state.

УДК 616.2-02:613]-036.12-053.2 (476.6 Гродно)

П. Г. БЕДИН<sup>1,2</sup>, О. Е. КУЗНЕЦОВ<sup>1</sup>, О. А. МАРКЕВИЧ<sup>3</sup>, А. Н. ЯРОШЕНКО<sup>4</sup>

## ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИМАТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КЛИМАТА ГРОДНЕНСКОГО РЕГИОНА

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>3</sup> Учреждение здравоохранения «Гродненский областной клинический центр «Фтизиатрия», г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>4</sup> Учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница № 2», г. Гродно, Республика Беларусь

Хронические заболевания органов дыхания являются значимой проблемой здравоохранения, как в мире, так и в Республике Беларусь, в силу значительной смертности, экономического и социального ущерба. В статье приведено описание климата, состояния воздуха и первичной заболеваемости хроническими заболеваниями органов дыхания в современный период в городе Гродно.

*Ключевые слова:* хроническая обструктивная болезнь лёгких, астма, бронхит, экология, аэрополлютанты.

**Введение.** Хронические заболевания органов дыхания являются значимой проблемой здравоохранения, как в мире, так и в Республике Беларусь, в силу значительной смертности, экономического и социального ущерба. Географические факторы оказывают значимое влияние на распространённость многих патологических состояний [1]. Экологический компонент также играет значимую роль в развитии многих хронических заболеваний легких (профессиональных, неспецифических, аллергических) [2, 3, 4].

Территория Гродненского региона хоть и считается относительно благоприятной (по классификации геоэкологического состояния природной среды), в тоже время г. Гродно является важным промышленным центром страны, в котором расположены предприятия химической, стекольной, деревообрабатывающей, металлообрабатывающей, строительной, пищевой, лёгкой промышленности, а также электроэнергетической, генерирующих выбросы в атмосферу вредных веществ [5].

Цель работы – оценить заболеваемость хроническими заболеваниями органов дыхания в условиях экологических и климатических особенностей Гродненского региона.

**Материалы и методы исследования.** Изучены показатели заболеваемости взрослого населения, данные о качестве атмосферного воздуха, климатические характеристики Гродненской области [6, 7, 8].

В оценке состояния воздуха учтены среднесуточные и максимальные разовые предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ. Средние за сутки значения сравнивались с ПДК среднесуточной (ПДК<sub>с.с.</sub>), максимальные – с максимально разовой (ПДК<sub>м.р.</sub>, таблица 1) [8].

Таблица 1. Допустимые концентрации загрязняющих веществ

Вещество	Значения ПДК, мкг/м <sup>3</sup>		
	максимально-разовая (ПДК <sub>м.р.</sub> )	среднесуточная (ПДК <sub>с.с.</sub> )	среднегодовая (ПДК <sub>с.г.</sub> )
<i>Основные загрязняющие вещества</i>			
Твердое (недифференцированное по составу пыль/аэрозоль)	300	150	100
Твердые частицы (ТЧ <sub>10</sub> )	150	50	40
Диоксид серы	500	200	50
Оксид углерода	5000	3000	500
Диоксид азота	250	100	40
Оксид азота	400	240	100
<i>Специфические загрязняющие вещества</i>			
Сероводород	8	не нормирован	не нормирован
Сероуглерод	30	15	5
Фенол	10	7	3
Фториды твердые	200	120	30
Хлористый водород	200	100	50
Свинец	1,0	0,3	0,1
Аммиак	200	не нормирован	не нормирован
Формальдегид	30	12	3
Ацетон	350	150	35
Бензол	100	40	10
Гидроцианид	30	10	3
Метиловый спирт	1000	500	100
Толуол	600	300	100
Бенз(а)пирен	не нормирован	5 нг/м <sup>3</sup>	1 нг/м <sup>3</sup>
Кадмий	3,0	1,0	0,3
Этилацетат	20	не нормирован	не нормирован
Бутилацетат	100	не нормирован	не нормирован
Этилбензол	20	не нормирован	не нормирован
Ксилол (смесь о-,м-,п-)	200	100	20
Бутанол	100	не нормирован	не нормирован
Стирол	40	8	2
Озон	160 – 1 ч	120 – 8 ч	90 – 24 ч

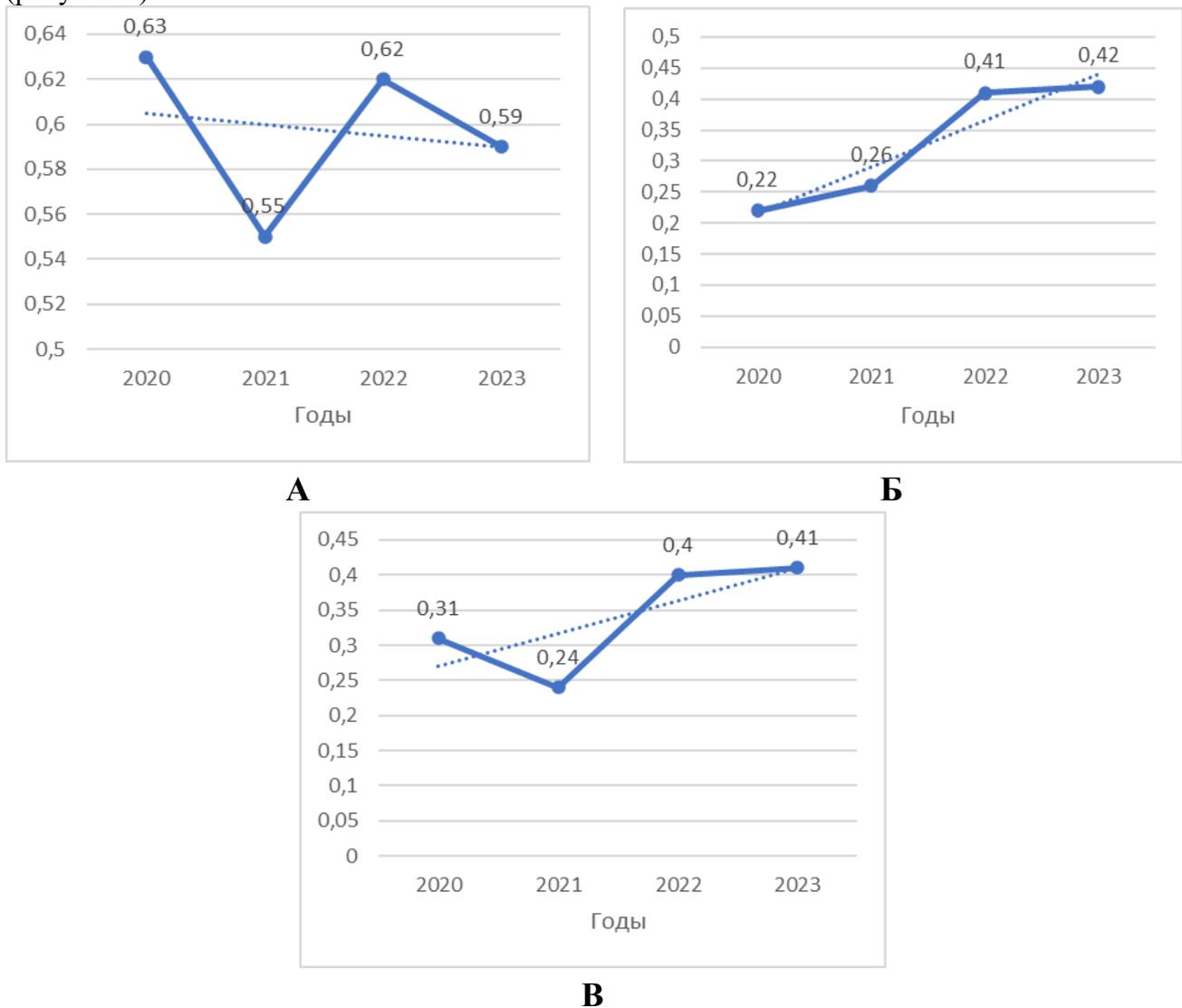
Известными аэрополлютантами, подлежащими мониторингу, являются: оксид углерода (CO), диоксид серы (SO<sub>2</sub>), озон (O<sub>3</sub>), диоксид азота (NO<sub>2</sub>) и сажа (твёрдые частицы) [6].

Для оценки состояния атмосферного воздуха дополнительно использованы показатели: количество дней в году, в течение которых установлены превышения среднесуточных ПДК и повторяемость (доля) проб с концентрациями выше максимально разовых ПДК. Проведен анализ и оценена загрязненность атмосферного воздуха на основе данных регионального представительства Белгидрометеоцентра [7].

Климатические показатели состояния атмосферного воздуха в регионе в 2018–2023 гг. оценены по данным Республиканского центра по гидрометеорологии, контролю радиоактивного загрязнения и мониторингу окружающей среды.

Сравнение долей (%) с применением двустороннего критерия Фишера выполнено в программе Statistica 10.0 (StatSoft, США).

**Результаты и их обсуждение.** Оценена динамика и общая распространенность хронических заболеваний органов дыхания (хронический бронхит, бронхиальная астма – БА, хроническая обструктивная болезнь лёгких – ХОБЛ) у населения Гродненской области (рисунок 1).



**Рисунок 1.** Первичная заболеваемость населения Гродненского региона

А – первичная заболеваемость хроническим бронхитом; Б – первичная заболеваемость бронхиальной астмой; В – первичная заболеваемость хронической обструктивной болезнью лёгких

Как видно на графиках, за последние годы первичная заболеваемость хроническим бронхитом сохраняется на стабильном уровне, первичная заболеваемость БА демонстрирует значительный рост (+47,7 %) ( $p < 0,05$ ), прослеживается тренд на увеличение первичной заболеваемости ХОБЛ (рост на 24,4 % с 2020 г.) ( $p < 0,05$ ).

В списке городов Беларуси с наибольшими объемами выбросов загрязняющих веществ в воздух от стационарных источников Гродно занимает третье место. По данным стационарных наблюдений в 2018–2023 гг. в список «проблемных» районов г. Гродно и Гродненский район не включены. По результатам мониторинга состояния атмосферного воздуха, проведенного лабораторией экологического мониторинга Гродненского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды в период 2007–2019 гг. тенденция изменения уровня загрязнения воздуха как основными, так и специфическими веществами неустойчива. Основными источниками загрязнения атмосферного воздуха г. Гродно являются предприятия теплоэнергетики, производства минеральных удобрений, стройматериалов и автотранспорт. По результатам стационарных наблюдений в последние годы состояние атмосферного воздуха оценивается как стабильное (хорошее) [7].

Что касается климатических особенностей региона, следует отметить, что в целом климат Гродно умеренно-континентальный с мягкой зимой и тёплым летом. В этих условиях одним из основных его параметров является температура воздуха. Среднегодовая температура воздуха в Гродно по данным многолетних наблюдений составляет +7,1 °С, наиболее высокая – в июле (+18,1 °С), наиболее низкая – в январе (-3,4 °С). Классическим межсезоньем (весной и осенью соответственно) фактически являются март, апрель, октябрь и ноябрь. Остальные месяцы по климатическим признакам можно отнести к лету (май-сентябрь), либо к зиме (декабрь-февраль). Среднегодовая температура в Гродно в 2011–2022 гг. составляет +8,1 °С, что на 1,6 °С выше норм 1961–1990 гг. Также можно отметить неравномерное повышение температуры по сезонам. Наибольшее повышение температуры фиксируется весной (+1,9 °С), зима и лето стали теплее (+1,8 °С и +1,7 °С соответственно). Менее ощутим процесс потепления осенью (на 1,0 °С). В таблице 2 приведены климатические данные региона за всё время проводимых наблюдений [7].

**Таблица 2.** Особенности температуры воздуха в г. Гродно

Месяц	Абсолютный минимум, t, °С	Средний минимум, t, °С	Средняя t, °С	Средний максимум, t, °С	Абсолютный максимум, t, °С (в скобках указан год)
I	-33.7 (1970)	-5.8	-3.4	-1.1	11.8 (2007)
II	-36.3 (1970)	-5.7	-3.1	-0.2	15.0 (1990)
III	-26.9 (1964)	-2.5	0.8	4.9	22.2 (1968)
IV	-9.3 (1981)	2.5	7.3	12.9	29.2 (2012)
V	-6.0 (1965)	7.5	13.1	19.0	32.0 (1979)
VI	-0.7 (1977)	10.6	15.9	21.5	34.0 (1972)
VII	3.0 (1971)	12.7	18.1	23.9	35.7 (1959)
VIII	-1.4 (1966)	12.0	17.4	23.4	36.2 (1992)

Продолжение таблицы 2.

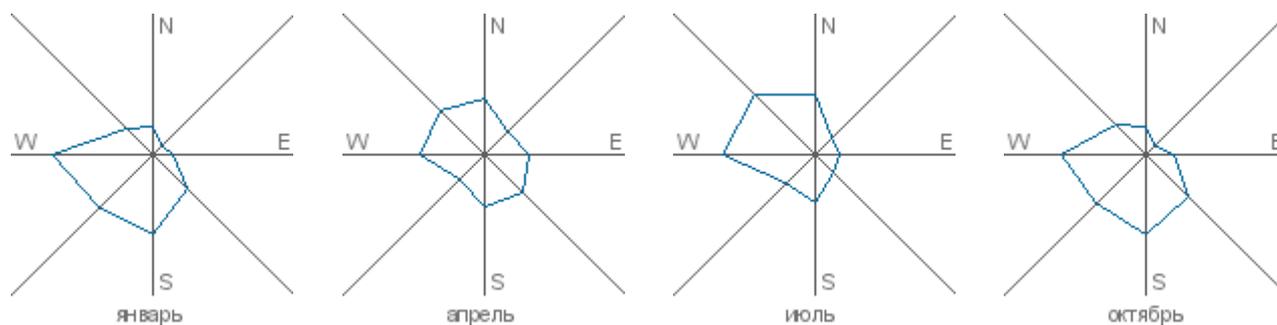
IX	-4.3 (1966)	8.1	12.3	17.5	34.2 (2015)
X	-13.5 (1956)	3.8	7.2	11.3	25.2 (1966)
XI	-19.8 (1965)	-0.4	1.8	4.2	17.2 (1968)
XII	-31.6 (1969)	-4.4	-2.2	-0.1	12.7 (1961)
Год	-36.3 (1970)	3.2	7.1	11.4	36.2 (1992)

Атмосферные осадки характеризуются временной изменчивостью и тенденцией к снижению их годового количества: в среднем минимум наблюдается в зимние месяцы, а максимум приходится на летний период, достигая апогея в июле (таблица 3).

**Таблица 3.** Характеристика атмосферных осадков в г. Гродно за время проведения метеорологических наблюдений

Месяц	Норма, мм	Месячный минимум, мм	Месячный максимум, мм	Суточный максимум, мм
I	35	6 (1932)	85 (1900)	37 (1969)
II	29	2 (1976)	96 (1910)	16 (1960)
III	31	3 (1904)	78 (1958)	20 (1958)
IV	33	3 (1974)	107 (1969)	36 (1969)
V	56	6 (2017)	136 (1984)	53 (1977)
VI	66	13 (2018)	184 (1894)	66 (1975)
VII	77	4 (1994)	185 (2001)	96 (2001)
VIII	58	4 (2015)	191 (1932)	80 (1950)
IX	52	2 (1904)	158 (1957)	51 (1992)
X	36	0.3 (2000)	182 (1974)	44 (1978)
XI	41	2 (1902)	103 (1950)	38 (1984)
XII	40	3 (1927)	100 (1910)	19 (1998)

Оценка сезонной динамики ветра в г. Гродно показала, что во все сезоны года наблюдается значительная повторяемость западного ветра. Ветры юго-западного и северо-западного направлений ветров наблюдаются примерно с одинаковой повторяемостью, соответственно – 12,7 % и 13,5 % (для юго-восточного ветра – 11,5 %). Повторяемость северного и восточного ветра небольшая (10,6 % и 8,0 % соответственно), южного – 16,8 %. Повторяемость ветра с северной составляющей возрастает от зимы к лету (рисунок 2). Ветры южной составляющей отличаются большей повторяемостью в зимний период [7].



**Рисунок 2.** Роза ветров (г. Гродно)

В течение года атмосферное давление воздуха варьирует от 996,5 до 1001,6 гПа и в среднем составляет 998,6 гПа. Относительная влажность воздуха в г. Гродно характеризуется незначительной временной изменчивостью и устойчивой тенденцией к уменьшению ее средних годовых значений. Среднегодовая относительная влажность воздуха варьирует от 71 % до 89 % и имеет достаточно выраженный годовой ход с минимумом в весенние месяцы (апрель-май), и максимумом – в осенне-зимний сезон года (ноябрь-январь), средняя – 80 % (таблица 4).

**Таблица 4.** Средние параметры влажности воздуха в г. Гродно за время проведения метеорологических наблюдений, %

Параметр	Месяцы												Год
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
Влажность (%)	87	85	80	72	71	74	74	74	81	85	89	89	80

Суммарная продолжительность солнечного сияния за год составляет 1707 часов. Наибольшая продолжительность наблюдается в июне и июле (260 ч), наименьшая – в декабре и январе (34 ч). Облачность в г. Гродно характеризуется незначительной временной вариабельностью. Средняя годовая облачность изменяется на протяжении последних лет и в среднем составляет 6,9 балла. В годовом ходе облачности ее более низкие значения соответствуют теплomu периоду, максимальные значения отмечаются в ноябре-декабре.

**Заключение.** В настоящее время в Гродненском регионе отмечается тренд на увеличение первичной заболеваемости взрослого населения БА и ХОБЛ. Показатели загрязнения воздуха в большинстве случаев исследований соответствуют нормативам. Экологическая обстановка является благоприятной и имеет тенденцию к улучшению. Однако необходимо обратить внимание на потенциальные мероприятия по снижению загрязнённости воздуха озонотом и оксидом углерода. Выявленные тенденции изменения климатических условий свидетельствуют об усилении континентальности климата региона. Рост первичной заболеваемости взрослого населения БА и ХОБЛ, вероятно, не связан с экологической ситуацией, а обусловлен другими экзогенными факторами (перенесенные вирусные инфекции, курение), что указывает направление для планирования профилактических мероприятий.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках совместного проекта БРФФИ – НФЕНК № M24KI-009.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Литература:**

[1]. Королева Е.Г., Рахимбек С.К., Тупов С.С. Медико-географические аспекты мониторинга заболеваемости населения // Гигиена и санитария. 2019. Т 98. № 11. С. 1285–1295.

- [2]. 2024 GOLD Report // Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. – URL: <https://goldcopd.org/2024-gold-report/>
- [3]. 2023 GINA Main Report // Global Initiative for Asthma. – URL: <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/>
- [4]. Yang I.A., Jenkins C.R., Salvi S.S. Chronic obstructive pulmonary disease in never-smokers: risk factors, pathogenesis, and implications for prevention and treatment // *Lancet Respir Med.* 2022. Vol. 10. № 5. P. 497–511.
- [5]. Гродненский областной исполнительный комитет. Комитет экономики. – URL: <https://comec.grodno-region.by/ru/industry-ru/>
- [6]. Мониторинг атмосферного воздуха // Национальная система мониторинга окружающей среды. – URL: <https://www.nsmos.by/environmental-monitoring/monitoring-atmosfernogo-vozdukha>
- [7]. Мониторинг атмосферного воздуха в Беларуси // Государственное учреждение «Республиканский центр по гидрометеорологии, контролю радиоактивного загрязнения и мониторингу окружающей среды» Минприроды Республики Беларусь. – URL: <https://rad.org.by/articles/vozduh/>
- [8]. Мониторинг атмосферного воздуха // Национальная система мониторинга окружающей среды. – URL: <https://www.nsmos.by/environmental-monitoring/monitoring-atmosfernogo-vozdukha#block-views-block-publikacii-block-2>

*P. BEDIN<sup>1,2</sup>, A. KUZNIATSOV<sup>1</sup>, O. MARKIEVICH<sup>3</sup>, A. YARASHENKA<sup>4</sup>*

### **FEATURES OF CLIMATE, ECOLOGY AND INCIDENCE OF THE MOST IMPORTANT CHRONIC RESPIRATORY DISEASES IN THE GRODNO**

<sup>1</sup> *State Scientific Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus”, Grodno, Republic of Belarus*

<sup>2</sup> *Educational Establishment “Grodno State Medical University”, Grodno, Republic of Belarus*

<sup>3</sup> *Health Care Institution “Grodno Regional Clinical Centre “Phthisiatritian”, Grodno, Republic of Belarus*

<sup>4</sup> *Health care Institution “2nd Grodno Clinical Hospital”, Grodno, Republic of Belarus*

#### **Summary**

Chronic respiratory diseases are a significant health problem, both in the world and in the Republic of Belarus, due to significant mortality, economic and social damage. The article describes the climate, air condition and incidence of the most important chronic respiratory diseases in the modern period in the Grodno.

*Keywords:* morbidity, ecology, respiratory system, bronchial asthma, air pollutants.

УДК 612.015.2:612.6]:614.2

*Л. А. БЕЛАЯ, В. А. МЕЛЬНИК, С. Н. МЕЛЬНИК, А. А. КОЗЛОВСКИЙ*

## **АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОИМПЕДАНСНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА**

*Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»,  
г. Гомель, Республика Беларусь*

Статья представляет собой аналитический обзор литературы по результатам современных исследований, в которых используется биоимпедансометрия в практике. Анализ отечественных и зарубежных источников показывает целесообразность и широкие возможности изучения электрического сопротивления биологических тканей и сред в различных областях медицины. Большинство работ посвящено прикладному значению метода для характеристики нутритивного статуса как показателя комплексной оценки физического развития и состояния здоровья человека, ранней диагностики патологии органов и систем, достоверного критерия эффективности терапии и прогноза заболевания. В обзоре представлены работы, характеризующие биоимпедансометрию как перспективный метод превентивной диагностики, который обладает такими преимуществами, как неинвазивность и безболезненность процедуры, портативность, возможность безопасного повторения исследования в динамике, особенно актуально в педиатрической практике. Авторы предлагают включить данный метод в стандарты обследования населения с целью оценки состояния и мониторинга здоровья [1, 2].

*Ключевые слова:* биоимпедансный анализ, физическое развитие, антропометрические измерения, компонентный состав тела.

**Введение.** Важным критерием здоровья человека и показателем здоровья нации является физическое развитие (ФР). Это закономерный процесс изменения морфологических и функциональных особенностей организма, который связан с возрастом, полом, состоянием здоровья, наследственностью и условиями жизни [3]. Одним из ведущих показателей здоровья является ФР, по которому оценивается благополучие школьников и соответствие условий их обучения и воспитания морфофункциональным особенностям данного возраста. Высокий уровень здоровья является основой для эффективного процесса становления личности. Поэтому в образовательных учреждениях необходимо уделять внимание вопросам здоровья детей на всех этапах образовательного процесса [4]. По данным Минздрава России, лишь 14 % детей практически здоровы, более 50 % имеют функциональные отклонения, а 35–40 % – хронические заболевания [5].

Систематические антропометрические измерения детей позволяют своевременно выявлять нарушения ФР, такие как отставание в росте, отсутствие прибавки в массе и т. п., которые могут быть признаками различных заболеваний. Для ранней диагностики метаболических заболеваний применяется программа диагностики состава тела – биоимпедансный анализ (БИА).

Этот метод позволяет на основе измеренных значений электрического сопротивления тела и антропометрических данных оценить абсолютные и относительные значения параметров состава тела, соотнести их с нормальными значениями, оценить резервные возможности организма и риски развития ряда заболеваний [6].

В БИА измеряются активное и реактивное сопротивление тела человека, на основе которых рассчитываются характеристики состава тела: жировая, костная и мышечная масса, объем воды в организме и основной обмен. Биоимпедансный метод состава тела помогает контролировать состояние липидного, белкового и водного обмена организма, оценивать

риск развития метаболического синдрома, степень гидратации тканей, служит инструментом диагностики больных ожирением. Он используется для подбора лечебного питания в диетологии, оценки эффективности диетологических мероприятий, прогнозирования ряда заболеваний и выявления различных неблагоприятных изменений в организме [7, 8].

Целью исследования является систематизация и анализ отечественных и зарубежных литературных источников при использовании биоимпедансного анализа для оценки показателей физического развития и состояния здоровья человека. В статье проведен анализ научных публикаций в системах PubMed, Web of Science и других, описывающих случаи применения биоимпедансного метода для оценки компонентного состава тела человека, состояния его здоровья.

**История биоимпедансного анализа.** История изучения электрической проводимости биологических объектов началась в 1880 году с работ Томсона В. В начале и середине XX века были получены основополагающие результаты в этой области, включая установление типичных значений удельного сопротивления и диэлектрической проницаемости тканей, органов и жидких сред живого организма. С этими достижениями связаны имена Фрике Г., Коула К., Тарусова Б. Н., Шванна Г. и других исследователей [2, 9].

Термин «биоимпеданс» стал общепринятым в зарубежных публикациях второй половины XX века для характеристики электрических свойств биологических объектов, имеющих клеточную структуру. Электрический импеданс биологических тканей имеет два компонента – активное и реактивное сопротивление. Субстратом активного сопротивления являются биологические жидкости (вне- и внутриклеточная), обладающие ионным механизмом проводимости. Субстратом реактивного сопротивления являются клеточные мембраны. Для оценки общей воды организма, безжировой мышечной массы, скелетно-мышечной массы, а также внеклеточной жидкости используются значения активного сопротивления, разные по частоте [2, 10].

В России БИА начал развиваться в 1930-х годах благодаря работам Тарусова Б. Н. и других ученых. История российских исследований и разработок в области БИА насчитывает более 70 лет. В 1934 и 1938 гг. советский ученый Тарусов Б. Н. представил первые работы по этой теме. И тогда же небольшими партиями начался выпуск биоимпедансной аппаратуры для оценки приживаемости трансплантатов на основе данных об их электрической проводимости [10, 11].

Однако следует отметить, что исторически началом применения биоимпедансометрии на практике с целью определения компонентов состава тела человека считается вторая половина XX века. В 1962 году Thomasset M. использовал метод для контроля объема мышечной массы у спортсменов. Он с помощью двух игл, введенных под кожу, определил общее содержание воды в организме на основе показателей электрического импеданса. Данное исследование французского анестезиолога позволило связать параметры тела человека и электрический импеданс. Он позволял объективно контролировать объем мышечной массы у спортсмена, его физическую активность и выносливость [12].

В 1969 году Hoffer E. и соавторы показали высокую корреляцию между индексом импеданса и величиной общего содержания воды в организме (ОВО), что открыло возможности для применения метода в исследованиях состава тела. Эмпирически получена формула расчета ОВО:  $Z = \text{рост}^2 / \text{импеданс}$ . Коэффициент корреляции с общим содержанием воды в организме при этом составлял 0,92. В настоящее время уравнение, полученное Hoffer E., более известно как индекс импеданса [13].

Первые серийные биоимпедансные анализаторы появились в США в конце 1970-х годов. Позже в своих работах Lukaski H., Kushner R. и Schoeller D. эмпирическим путем модифицировали уравнение с учетом таких параметров, как индекс импеданса, масса тела, пол и реактивное сопротивление.

В 1992 г. Kushner R. опубликовал статью, в которой утверждал, что с геометрической точки зрения человеческое тело – это не изотропный проводник с равномерной длиной и площадью поперечного сечения, как считалось ранее. Он предложил рассматривать тело человека как пять различных цилиндров (исключая голову): две руки, две ноги, туловище [14, 15].

В 1996 г. южнокорейский ученый, выпускник Гарварда, доктор Ki-Chul Cha основал компанию «InBody» (Южная Корея) и разработал первый в мире восьмиполярный биоимпедансный анализатор. При этом измерение на приборе производилось с использованием восьми тактильных электродов: одни находились в контакте с ладонью и I пальцем каждой руки, другие – с передней и задней поверхностями подошвы каждой стопы. Это позволило не использовать специфичные формулы для точной оценки общей воды организма и внеклеточной жидкости.

В 2004–2009 гг. в ГУ НИИ питания РАМН проводилась верификация оценок жировой массы и основного обмена (ОО), получаемых отечественным биоимпедансным анализатором АВС-01 «Медасс». В качестве эталона использовали данные рентгеновской денситометрии и непрямой калориметрии для тех же пациентов.

Таким образом, начиная с 1960-х годов и до сегодняшнего дня, метод БИА анализа, основанный на измерении электрической проводимости различных тканей человека, используется специалистами в течение более чем 65 лет в разнообразных сферах деятельности, включая медицину, спорт, образование, науку, космическую и военную деятельность и другие [16].

Антропометрические измерения являются простым и доступным методом, позволяющим оценить не только массу тела, но и другие показатели. При определении состава тела на основе антропометрических методов используют общие размеры (масса, длина тела), обхватные размеры частей тела и сегментов конечностей, а также кожно-жировых складок на определенных участках тела.

Однако главными недостатками антропометрических методов являются невозможность оценить количество тощей массы и дифференцировать подкожную и висцеральную жировую ткань [2, 10]. Простое соотношение индивидуальных показателей и расчетных антропометрических индексов в ряде случаев оказываются малоинформативными, а наиболее полные сведения о физическом развитии человека дает БИА, который не может использоваться без проведения антропометрии обследуемого [17].

**Биоимпедансный метод.** Метод БИА состава тела основан на существовании объективных и стабильных взаимосвязей между измеренными значениями импеданса и параметрами состава тела. Эти взаимосвязи выводятся как из физических моделей тела или его сегментов, так и из статистических зависимостей между антропометрическими, физическими и другими переменными, характеризующими человеческий организм.

Биоимпедансный метод компонентного состава тела в первую очередь направлен на оценку количества жидкости в организме, поскольку именно жидкая среда создает активную составляющую проводимости. Оценка объема жидкости в организме по импедансу осуществляется с использованием физических и/или эмпирических моделей [18].

Электрический импеданс биологических объектов измеряется с помощью специальных устройств – биоимпедансных анализаторов. Биоимпедансный метод классифицируется по трем признакам: по частоте зондирующего тока – одночастотные, двухчастотные, многочастотные; по объекту измерений – интегральные, локальные, полисегментные и по тактике измерений – одноразовые, эпизодические, мониторинговые. Для описания состава тела чаще всего используются двух или четырех параметрические модели, при которых электроды устанавливаются на голеностопах и запястьях. Перед процедурой биоимпедансного обследования проводят необходимые замеры: определяют рост, вес, обхваты талии и бедер. Все данные, включая фамилию, имя, отчество, пол и дату рождения обследуемого, вносят в базу компьютерной программы. Во время процедуры пациент лежит

на спине, изолированный от окружающих электропроводящих предметов. Не должно быть соприкосновения между внутренними поверхностями бедер (до паха), а также между внутренними поверхностями рук и туловищем (до подмышечных впадин). С рук пациента снимают часы, цепочки, кольца и браслеты из металла, а металлические предметы на шею сдвигают к подбородку. Участки кожи перед прикреплением электродов протирают спиртом. По завершении диагностики пациенту выдают протокол со всеми показателями, которые отражаются не только в текстовом, но и в графическом и схематическом форматах. Полученные данные сохраняются для последующего контроля и оценки функционального состояния организма в динамике после окончания курса лечения, назначенного врачом [19].

Для измерения величин при биоимпедансометрии используются термины, взятые из теории электрических цепей переменного тока: импеданс, активное и реактивное сопротивление. Импеданс  $Z$  – это полное электрическое сопротивление тканей, которое состоит из двух компонентов: активного  $R$  и реактивного сопротивления  $X$ . Активное сопротивление биологического объекта, которым в БИА является участок тела человека между правой кистью и правой стопой, включает в себя электрические сопротивления всех жидкостей, находящихся на пути измерительного тока. Реактивное сопротивление биологического объекта – это общее емкостное сопротивление всех клеточных мембран, расположенных на пути измерительного тока.

Метод БИА не имеет противопоказаний, кроме наличия у пациента кардиостимулятора. Достоверность измерений при проведении биоимпедансного исследования определяется: положением тела, состоянием гидратации, потреблением пищи или напитков, температурой окружающего воздуха и поверхности кожи, физической активностью.

При проведении биоимпедансометрии проводится расчет целого ряда показателей, характеризующих ОО, активную клеточную массу, жировую и безжировую массы, общее содержание воды, внеклеточная и внутриклеточная жидкость в организме, скелетно-мышечная масса, доля скелетно-мышечной масс) и расчет величины фазового угла (ФУ) импеданса [2, 9, 10, 19].

Основной обмен веществ (ккал) – это энерготраты организма в состоянии полного покоя, обеспечивающие функции всех органов и систем и поддержание температуры тела.

Значимой характеристикой интенсивности обменных процессов в организме является активная клеточная масса – та часть тощей массы, которая образована клетками, потребляющими основную долю кислорода и энергии, выделяющими основную часть углекислого газа и производящими метаболическую работу.

Жировая масса тела – суммарная масса жировых клеток в организме. Жировая ткань является важным компонентом состава тела человека. Жировая ткань рассматривается как метаболически активный орган, секретирующий ряд биологически активных веществ, таких как лептин, адипонектин, интерлейкины, эстрогены, резистин и другие, которые, в свою очередь, являются связующим звеном между ожирением и метаболическими нарушениями [20, 9, 10].

Кроме определения общего количества жировой массы, рассчитывают индекс массы жировой ткани, который более точно отражает степень избытка жировой ткани, чем абсолютное количество жировой массы. Формула расчета и жировой массы аналогична расчету индексу массы тела (ИМТ) и отличается лишь тем, что учитывает не общий вес человека, а только количество жира. В настоящее время накоплена значительная база данных, подтверждающих, что избыточное количество жировой массы вносит определенный вклад в развитие целого ряда хронических неинфекционных заболеваний.

Безжировая масса – часть массы тела, включающая в себя все, что не является жиром: мышцы, все органы, мозг, нервы, кости и все жидкости, находящиеся в организме.

Одной из составляющих безжировой массы является скелетно-мышечная масса. Отношение скелетно-мышечной массы к массе тела у взрослых людей составляет в норме 40-45 % у мужчин и 30–35 % у женщин, и с возрастом снижается.

Общая вода организма состоит из внеклеточной и внутриклеточной жидкостей, находящихся в организме в связанном состоянии.

Внутриклеточная жидкость – это фракции организма, не заключенные в клеточные мембраны (лимфа, интерстициальная и плазматическая жидкости). Общее количество воды в организме детей относительно больше, чем у взрослых. Чем меньше ребенок, тем больший доля (%) жидкости в его организме. [19].

Наряду с характеристикой компонентного состава тела, для оценки функционального состояния организма, интенсивности обменных процессов и нарушений нутритивного статуса в БИА используется величина фазового угла биоимпеданса, определяемая как арктангенс отношения реактивного и активного сопротивлений. ФУ характеризует сдвиг фазы переменного тока относительно напряжения. На основании результатов сравнительного анализа выборок здоровых людей и пациентов с хроническими заболеваниями, спортсменов была предложена интервальная классификация значений ФУ [4]. Он считается показателем тренированности и выносливости организма, по его величине в спорте высших достижений оценивается предстартовая готовность спортсмена. Высокие значения ФУ характерны для спортсменов во многих видах спорта. С возрастом, при наличии хронических заболеваний с преобладанием катаболических процессов в организме (онкология, туберкулез, цирроз печени и др.), дефиците питательных веществ этот показатель уменьшается. Очень низкие значения ФУ у пациентов с хроническими заболеваниями высоко коррелируют с плохим прогнозом [21].

Последовательность выполнения БИА: 1) определение антропометрических показателей (масса тела, рост, ИМТ, окружность талии и бедер); 2) измерение активного и реактивного сопротивления с помощью биоимпедансометра; 3) расчет по соответствующим формулам параметров состава тела и интенсивности обмена веществ; 4) определение диапазона нормальных значений с учетом возраста, пола и этнической принадлежности пациента; 5) анализ полученных данных и заключение [10].

Применение биоимпедансометрии в медицине и антропологии. Биоимпедансометрия представляет собой метод оценки состава тела человека, который активно применяется в различных областях медицины. Она позволяет получать объективные научные данные для биомедицинской антропологии. В сочетании с другими методами исследования, такими как морфологические, функциональные и биохимические, биоимпедансометрия может предоставить информацию об индивидуальных характеристиках организма человека. Использование биоимпедансной диагностики в клинической практике способствует раннему выявлению висцерального ожирения и проведению профилактических мероприятий для предотвращения метаболических осложнений.

В клинической медицине БИА, который используется для неинвазивной оценки жировой и безжировой массы, нашел свое применение в эндокринологии для определения метаболического статуса и является одним из методов диагностики и оценки эффективности лечения больных ожирением. Оценка внутриклеточной, внеклеточной и интерстициальной жидкости методом биоэлектрического импеданса дает возможность применять его в хирургии, кардиохирургии, комбустиологии, травматологии, реаниматологии и других областях клинической медицины. При перитоните, панкреатите, тромбозе воротной вены, кишечной непроходимости, обширных ожогах, травмах с размождением тканей большое значение имеет нарушение водно-электролитного баланса, который трудно поддается коррекции в этих условиях [22].

Исследование биоимпедансометрии, проведенное среди детей, подвергающихся кардиохирургическим операциям, показало, что чем младше ребенок и дольше продолжительность операции в условиях искусственного кровообращения, тем больше

увеличивается уровень общего содержания воды в организме к концу операции. Это требует корректировки инфузионной терапии, которую получает ребенок.

Биоимпедансная диагностика используется не только в медицинских целях, но и в спортивной медицине. В частности, она помогает оценить состав тела здоровых детей, занимающихся различными видами физической активности. Также биоимпедансная диагностика применяется для изучения особенностей состава тела у детей с определенными заболеваниями, такими как белково-энергетическая недостаточность, неврогенная анорексия, находящиеся на системном гемодиализе, а также у детей с различной массой тела [23].

Для оценки состава тела БИА применяется в онкологии и гематологии. В некоторых случаях вес может соответствовать возрастной норме, однако большая часть этого веса может приходиться на задержку жидкости в организме. Это особенно актуально для пациентов, проходящих химио-радиотерапию, страдающих хроническими заболеваниями почек или системными васкулитами.

Биоимпедансный метод действительно является эффективным инструментом для оценки состояния здоровья и выявления возможных рисков развития различных заболеваний для человека. Он позволяет определить состав тела, включая процент жира, мышечной массы и воды, а также оценить метаболический статус организма. На основе этих данных можно разработать индивидуальный план тренировок и питания, который поможет улучшить здоровье и предотвратить развитие заболеваний [24].

В последние годы наблюдается значительный рост числа научных исследований, посвященных использованию БИА для изучения композитного состава тела и объективной оценки нутритивного статуса человека. Этот метод стал широко применяться в медицине, спорте, диетологии и других областях, где важно понимать соотношение различных компонентов тела, таких как вода, жир, мышцы и кости [2].

Согласно Миклашевской Н. Н., показатели ФР являются ключевой характеристикой организма, и их значительные изменения могут свидетельствовать о потенциальных рисках для здоровья. Необходимость постоянного мониторинга взаимосвязей между ФР, здоровьем и заболеваемостью обусловлена тем, что ФР тесно связано со здоровьем, поскольку серьезные заболевания могут негативно повлиять на процесс ФР, а ФР, в свою очередь, может оказать влияние на течение и исход болезни [25].

Исследователи, начиная с 30-х гг. XX в., отмечали, что у городских детей по сравнению с сельскими наблюдаются лучшие показатели ФР: больше длина и масса тела, сильнее выражено жировотложение и т. д. Это явление связывается с более благоприятными условиями жизни городского населения, в том числе с лучшим качеством питания, более высоким уровнем санитарно-гигиенического состояния и медицинского обслуживания. В литературе отмечается повышение показателей ФР у городских детей, сельские же дети характеризуются лучшими функциональными показателями [26].

В работах Чепеля Т. В. и Ладной А. А. показано, что изучение электрического сопротивления биологических тканей и сред имеет широкое применение в различных областях медицины. Особенно много работ посвящено изучению нутритивного статуса как показателя комплексной оценки ФР и состояния здоровья человека, ранней диагностики патологии органов и систем, а также оценке эффективности терапии и прогноза заболевания [9].

В отечественной и мировой литературе широко представлены работы Гайворонского И. В. и его коллег, которые подробно описали основные параметры, оцениваемые методом биоимпедансометрии, такие как общее количество жидкости в организме, ИМТ, скорость ОО, костная и жировая массы, уровень ФР и другие. Они также отметили, что эти параметры могут варьироваться в зависимости от пола и возраста. Кроме того, авторы определили показания и противопоказания к использованию данного метода, а также методику и технику его выполнения [2].

Гирш Я. В. и Герасимчик О. А. провели исследования, в которых показали, что современные достижения в области изучения состава тела тесно связаны с развитием наукоемких технологий. Они доказали, что БИА является достаточно надежным методом при условии соблюдения методических рекомендаций. Использование современного программного обеспечения для длительного динамического контроля состава тела позволяет избежать методических погрешностей благодаря дополнительным антропометрическим данным. Учитывая отсутствие необходимости инвазивных процедур, достаточную точность, простоту использования и экономичность, комфортность процедуры измерений для пациента и удобство автоматической обработки результатов для врача, этот метод становится все более популярным в медицинской практике [27].

Исследования, проведенные Дружининой Н.А. и ее соавторами, показали, что у детей с рецидивирующей респираторной патологией снижение иммунологической реактивности связано с параметрами нутритивного статуса. У этой категории пациентов недостаточность питания характеризуется достоверно низким уровнем безжировой массы и активной клеточной массы, согласно данным биоимпедансометрии. Авторы пришли к выводу, что включение БИА в программу обследования позволит своевременно диагностировать и корректировать тканевой дисбаланс компонентного состава тела у детей [28].

В работе Bosy-Westphal А. с соавторами представлена характеристика изменчивости ФУ импеданса в зависимости от возраста и пола на основе данных биоимпедансного обследования 230 тысяч жителей Германии. Было установлено, что в возрасте 20–55 лет «российские» значения ФУ близки к «швейцарским», а в более старшем возрасте – к «американским» образца 1988–1994 годов. Величина ФУ импеданса имеет высокую корреляцию с процентным содержанием активной клеточной массы в безжировой массе тела. Следовательно, повышенные значения ФУ, при прочих равных условиях, отражают более высокий уровень функциональных возможностей организма [29].

В другой работе Чепель Т. В. и Ладная А. А. провели анализ исследований 540 детей школьного возраста Дальневосточного региона, в результате которого было выявлено снижение жировой массы тела у детей и подростков. У 45,8–76 % детей и подростков были диагностированы нормальные показатели безжировой массы тела, что позволило считать их нутриционный статус соответствующим возрасту. Нормальное значение общей воды имели 60,2 % пациентов, с превышением этого показателя более 44 % у девочек, что расценивалось как склонность к водно-электролитным нарушениям. Также были отмечены нормальные показатели активной клеточной массы у 71 % школьников [9].

Н. McCarthy и соавторы провели БИА у 1985 детей и подростков европейской популяции с нормальной массой тела и создали перцентильные кривые для оценки тощей массы тела [2].

В статье Бобринской И.Г., Билаловой Э.Ф., Мороз В.В. для оценки гидратации тканей головного мозга использовался анализатор АВС-01 «Медасс» с программой 6-частотного анализа АВС01-0212. Коэффициент гидратации вычислялся как отношение импедансов тканей на частотах 5 и 20 кГц для характеристики интерстициального пространства мозга, на частотах 50 и 500 кГц – для оценки внутриклеточного пространства, и на частотах 5 и 500 кГц – для оценки общей гидратации головного мозга. Корреляционный анализ показал наличие связи между балльной оценкой отека мозга по КТ и коэффициентом гидратации. Это подтверждает объективность и правильность оценки гидратации мозга методом биоимпедансометрии [30].

Абдуллаев А. Н. и его коллеги оценили нутритивный статус школьников города Екатеринбурга с помощью биоимпедансометрии и определения индекса массы тела. Они обнаружили, что частота встречаемости избыточной массы тела выше у детей препубертатного возраста и чаще у мальчиков. Метод биоимпедансометрии позволил выявить нарушение нутритивного статуса у 39 % обследованных детей, как в сторону избытка массы тела, так и его дефицита. У всех подростков с ожирением были обнаружены

низкие значения активной клеточной массы в сочетании с низкой физической активностью. По показателю медианы жировой массы тела школьники города Екатеринбурга не отличались от своих сверстников из других регионов России [21].

Анищенко А.П. считает, что результаты антропометрических исследований и БИА сопоставимы. Однако, антропометрические исследования приемлемы для эпидемиологического анализа, но не для расчета индивидуального риска. Более правильным будет использование БИА, который имеет корреляцию 99 % с методом денситометрии. Важно отметить, что изменение ИМТ не всегда может свидетельствовать о наличии или отсутствии ожирения [31].

Башун Н. З. выявила взаимосвязь физической работоспособности (функциональных особенностей) с показателями компонентного (структурные особенности организма) состава тела человека. Она доказательно сформулировала суждение о том, что оценка состава тела должна проводиться не по антропометрическим индексам, а на основе аппаратных методов, использующих биофизические свойства различных тканей организма. Важной перспективой дальнейшего развития метода является его повсеместное внедрение в профилактическую медицину для решения вопросов сохранения и укрепления здоровья населения [32].

Анисимова А. В. с соавторами проанализировали репрезентативность данных биоимпедансного обследования в центрах здоровья на примере популяции детей и подростков города Москвы. Они обнаружили, что данные о распределении значений ИМТ в группах отличались незначительно, что позволило сделать вывод о репрезентативности школьной выборки обследованных в центрах здоровья по методике биоимпедансометрии как соответствующей характеристикам основной популяции московских школьников в отношении избыточности/недостаточности массы тела. Более выраженные различия, как межгрупповые, так и внутригрупповые, наблюдались для показателей развития тощей и жировой массы, что свидетельствует о значимости последних при оценке физического развития и статуса питания. Полученные результаты подтверждают информативность методики биоимпедансометрии и целесообразность использования референсных данных центров здоровья в качестве основы межгрупповых сравнений при осуществлении популяционного скрининга и мониторинга здоровья детей и подростков [33].

Гаврюшин М. Ю. и его коллеги отметили возможность использования БИА для оценки эффективности оздоровления детей в летних лагерях. Их исследование показало, что проведение антропометрии вместе с биоимпедансометрией помогает оценить адекватность питания детей в персонализированном подходе, а также исследовать уровень их двигательной активности [24].

Wiech P. и его коллеги провели оценку состава тела и пищевого статуса госпитализированных детей и подростков с воспалительными заболеваниями кишечника в возрасте от 4 до 18 лет. Они считают, что ФУ является высоко презентативным биоимпедансным параметром и его следует использовать в качестве информативного маркера недостаточности питания. Pileggi V. N. также подтвердил, что ФУ является чувствительным индикатором для выявления риска отклонений пищевого статуса у детей. Результаты других исследований также подтверждают полезность БИА для оценки состояния больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника [34].

Черных А. М. и его соавторы провели сравнительную оценку показателей ФР детей в возрасте от 7 до 18 лет, проживающих в городе Курске, за периоды 2000–2001 гг. и 2019–2020 гг. В ходе исследования был проведен мониторинг ФР школьников города Курска в динамике двадцати лет наблюдения, который выявил достоверное увеличение показателей длины и массы тела во всех возрастно-половых группах школьников. На фоне положительных медико-социальных изменений в городе Курске были зафиксированы проявления процесса акселерации, которые носили гармоничный характер и сопровождались увеличением показателей мышечной силы [23].

Исследования, посвященные особенностям ФР детей и подростков в зависимости от условий проживания (городская среда или сельская местность, степень выраженности антропогенных факторов и т.д.), представляют особый интерес, поскольку эти данные могут быть использованы при разработке профилактических мероприятий, направленных на оздоровление детского контингента конкретной территории. Работы, посвященные оценке состояния здоровья детей, проживающих в сельской местности, отмечают большую распространенность хронических заболеваний у сельских младших школьников по сравнению с городскими, особенно нарушений со стороны нервной системы и психической сферы. Установлено, что у сельских детей чаще встречаются невротические реакции, неврозы и задержка психического развития. Также выявлена полиорганность поражений, высокий уровень патологии органов пищеварения и лор-органов, психических расстройств и вегетативных дисфункций. Однако изучение современных тенденций морфофункционального развития сельских школьников выявило недостаток информации, отражающей полноту спектра показателей ФР, которое является одним из главных маркеров здоровья [10].

Латышевская Н. И. и Рудыкина В. Н. провели комплексную оценку физического развития школьников начальных классов (7–10 лет), проживающих в сельской местности. Исследование не выявило достоверных различий отдельных морфофункциональных признаков между школьниками младших классов городских и сельских школ. Однако были обнаружены достоверные различия по показателям «Дефицит массы тела» и «Избыток массы тела» между учащимися сельских школ различного вида (общеобразовательная школа и малокомплектная школа). Этот факт подчеркивает необходимость проведения широких исследований факторов, формирующих эти показатели, в первую очередь, факторов образа жизни ребенка [35].

Бацевич В. А. и его коллеги провели исследование по оценке показателей состава тела, относящихся к одному адаптивному типу городских и сельских школьников Республики Тыва на фоне «трансформации» традиционного образа жизни. Они проанализировали тотальные размеры и показатели состава тела, оцененные методом биоимпедансометрии, в детских группах школьного возраста в 2018–2019 годах. Физические характеристики школьников свидетельствуют об относительно небольшом разрыве социально-экономических условий в регионах с разной степенью урбанизации. Отличия сглаживаются за счет постепенного ухода от традиционного образа жизни (скотоводство), более выраженного у коренных народов Сибири. Промежуточные итоги антропозкологических исследований, проведенных в Республике Тыва, показали значительные дезадаптивные изменения среди местного коренного населения, как сельского, так и формирующегося городского [36].

Исследования, проведенные в Республике Марий Эл, показали, что распространенность состояния гиподинамии среди детей и подростков в сельских районах выше, чем среди городского населения республики. На основе данных этого исследования были созданы центильные таблицы антропометрических, импедансных параметров и параметров состава тела для отечественной популяции по состоянию на 2011–2012 годы [9].

Штина И. Е. и его соавторы представили результаты биоимпедансного исследования учащихся средней общеобразовательной школы разных возрастных групп. Компонентный состав тела учащихся первого класса характеризовался снижением доли жировой массы у каждого пятого и увеличением – у каждого четвертого ученика, снижением содержания общей воды. У учащихся основной школы были выявлены наиболее неблагоприятные показатели состава тела: у 40 % зарегистрированы признаки гиподинамии (снижение значений ФУ) и избытка доли жировой массы. БИА учащихся старших классов характеризовался наибольшей частотой регистрации избытка доли жировой массы (45,0 %) и недостаточностью скелетно-мышечной массы (12,5 %). Отклонения показателей состава тела

от возрастных трендов могут служить критериями отнесения детей и подростков к группам риска здоровью для разработки коллективных программ профилактики и реабилитации [37].

**Заключение.** Таким образом, биоимпедансометрия позволяет получить объективные научные данные для биомедицинской антропологии, так как является весьма информативным и одним из популярных методов оценки компонентного состава тела человека, что предполагает ее широкое использование. В совокупности с фундаментальными антропометрическими, морфологическими, функциональными и биохимическими методиками исследования биоимпедансометрия предоставляет большие возможности для оценки показателей физического развития и состояния здоровья человек.

#### Литература:

- [1]. Башун Н.З., Карбаускиене В., Чекель А.В. Биоимпедансный анализ как метод оценки структурных и функциональных особенностей состава тела человека // *Ceteris Paribus*. 2015. № 4. С. 7–10.
- [2]. Гайворонский И.В., Ничипорук Г.И. Биоимпедансометрия как метод оценки компонентного состава тела человека (обзор литературы) // *Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина*. 2017. № 12 (4). С. 365–384.
- [3]. Скоблина Н.А., Милушкина О.Ю. Физическое развитие детей: методические аспекты // М. 2020. С. 178.
- [4]. Колосов Н.И., Лопарёва М.А., Денисов Е.Н. и др. Биоимпедансный анализ физического развития учеников 9 класса // *Молодой ученый*. 2018. № 15 (201). С. 154–157.
- [5]. Моисеева А.Б., Верещагиной Т.Г. и др. Оценка физического развития детей и подростков // *Учебно-методическое пособие. РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России*. 2023. С. 100.
- [6]. Щепалов В.А., Гурьянов М.С., Крохин Д.А., Дорошенко А.А. Результаты анализа антропометрических показателей с помощью биоимпедансного обследования студентов медицинского вуза на начальном этапе обучения // *Вопросы педагогики*. 2020. № 11 (2). С. 391–394.
- [7]. Нагибович О.А., Смирнова Г.А., Андриянов А.И. и др. Возможности биоимпедансного анализа в диагностике ожирения // *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2018. № 20 (2). С. 182–186.
- [8]. Anders A., Kristian H., Rune H. et al. Validity and Reliability of Bioelectrical Impedance Analysis and Skinfold Thickness in Predicting Body Fat in Military Personnel. 2014. № 179. P. 208–217.
- [9]. Чепель Т.В., Ладная А.А. Биоимпедансометрия: достижения и клинические возможности (обзор литературы) // *Дальневосточный медицинский журнал*. 2020. № 2. С. 87–96.
- [10]. Николаев Д.В., Щелькалина С.П. Лекции по биоимпедансному анализу состава тела человека // М., 2016. С 152.
- [11]. Тарусов Б.Н. О диэлектрической константе мышцы. Доклады АН СССР. 1934. №3(5). С. 353–356.
- [12]. Thomasset M.A. Bioelectric properties of tissue. Impedance measurement in clinical medicine // Significance of curves obtained. Lyon Medical. 1962. № 94 P. 107–118.
- [13]. Hoffer E.C., Meador C.K., Simpson D.C. Correlation of whole-body impedance with total body water volume // *J. Appl. Physiol*. 1969. Vol. 26. P. 531–534.
- [14]. Lukaski H.C., Bolonchuk W.W., Hall C.B., Siders W.A. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *Journal of Applied Physiology*. 1986. № 60(4). P. 1327–1332.
- [15]. Kushner R.F. Bioelectrical impedance analysis: A review of principles and applications. *Journal of the American College of Nutrition*. 1992. № 11(2). P. 199–209.
- [16]. Дранкина О.М., Максимова О.А., Шептулина А.Ф., Джюева О.Н. Биоимпедансный анализ состава тела: что важно знать терапевту? // *Профилактическая медицина*. 2022. Т. 25. № 10. С. 91–96.
- [17]. Cole T.J., Green P.J. Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood // *Stat. Med*. 1992. V.11. N 10. P. 1305–1319.
- [18]. Kyle U.G., Earthman C.P., Pichard C., CossBu J.A. Body composition during growth in children: Limitations and perspectives of bioelectrical impedance analysis // *European Journal of Clinical Nutrition*. 2015. № 69 (12). P. 1298–1305.
- [19]. Николаев Д.В., Смирнов А.В., Бобринская И.Г., Руднев С.Г. Биоимпедансный анализ состава тела человека. М.: Наука, 2009. С. 392.
- [20]. Руднев С.Г., Соболева Н.П., Стерликов С.А. и др. Биоимпедансное исследование состава тела населения России // М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2014. С. 493.
- [21]. Абдуллаев А.Н., Ганбарова Х.А., Зайкова И.О., Ануфриева Е.В. Роль биоимпедансометрии в оценке нутритивного статуса школьников // *Актуальные вопросы современной медицинской*

- науки и здравоохранения: Материалы IV Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов, IV Форума медицинских и фармацевтических вузов России «За качественное образование», посвященные 100-летию со дня рождения ректора Свердловского государственного медицинского института, проф. Василия Николаевича Климова, Екатеринбург, 10–12 апреля 2019 г. Том 2. – Екатеринбург: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2019. Т. 2. С. 410–414.
- [22]. Павлова З.Ш., Пьяных О.П., Голодников И.И. Биоимпедансный анализ: клинические примеры и интерпретация изменений состава тела человека при воздействии различных факторов // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2020. № 9 (4). С. 74–81.
- [23]. Черных А.М., Кремлева А.С., Белова А.И. Мониторинг физического развития школьников города Курска в динамике двадцати лет наблюдения // Российский вестник гигиены. 2021. № 1. С. 42–46.
- [24]. Гаврюшин М.Ю. Совершенствование методов гигиенической оценки физического развития детей и подростков // Аспирантские чтения - 2015: Материалы научно-практической конференции с международным участием "Молодые учёные XXI века - от идеи к практике", посвященной 85-летию Клиник СамГМУ, Самара, 12 октября 2015 года. – Самара: Аэропринт, 2015. С. 133–134.
- [25]. Миклашевская Н.Н., Соловьева В.С., Година Е.З. Ростовые процессы у детей и подростков // М.: Изд-во МГУ, 1988. С. 184.
- [26]. Година Е.З., Гундэгмаа Л., Пермякова Е.Ю. Сравнительный анализ тотальных размеров тела и функциональных характеристик сельских и городских детей и подростков Монголии // Вестник МГУ. Сер. 23, Антропология. 2019. № 1. С. 35–49.
- [27]. Гириш Я.В., Герасимчик О.А. Роль и место биоимпедансного анализа в оценке состава тела детей и подростков с различной массой тела // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. № 2 (17). С. 121–132.
- [28]. Дружинина Н.А., Насибуллина Л.М., Мерзлякова Д.Р. и др. Особенности нутритивного статуса детей с рецидивирующей респираторной патологией // Медицинский совет. 2019. № 11. С. 188–194.
- [29]. Bosy-Westphal A., Danielzik S., Dorhofer R.-P. et al. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index // J. Parenteral Enteral Nutr. 2006. Vol. 30. P. 309–316.
- [30]. Бобринская И.Г., Билалова Э.Ф., Мороз В.В. и др. Неинвазивный метод оценки отёка головного мозга у больных с черепно-мозговой травмой // Общая реаниматология. 2007. № 5 (6). С. 24–28.
- [31]. Анищенко А.П., Архангельская А.Н., Стулина Д.Д. и др. Сопоставимость антропометрических измерений и результатов биоимпедансного анализа // Инновационные технологии в спорте и физическом воспитании: Материалы V межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, Москва, 18–19 апреля 2016 г. – Москва: ООО «Центр социального прогнозирования и маркетинга». 2016. С. 37–41.
- [32]. Баиун Н.З., Жарнов А.М., Чекель А.В. Особенности изменений параметров компонентного состава тела представителей подросткового и юношеского возрастных периодов, выявленные методом биоимпедансного анализа // Физико-химическая биология как основа современной медицины: тезисы докладов участников Республиканской конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения В. А. Бандарина, Минск, 24 мая 2019 г. Белорусский государственный медицинский университет. 2019. С. 40–41.
- [33]. Анисимова А.В., Руднев С.Г., Година Е.З. и др. Состав тела московских детей и подростков: оценка репрезентативности данных биоимпедансного обследования в центрах здоровья // Лечение и профилактика. 2014. № 1 (9). С. 24–29.
- [34]. Wiech P., et al. Bioelectrical impedance phase angle as an indicator of malnutrition in hospitalized children with diagnosed inflammatory bowel diseases – a case control study // Nutrients. 2018. Vol. 10, № 4. P. 499.
- [35]. Латышевская Н.И., Рудыкина В.Н. Особенности физического развития младших школьников, проживающих в сельской местности // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2017. № 2 (62). С. 71–73.
- [36]. Бацевич В.А., Пермякова Е.Ю., Машина Д.А. и др. Сравнение городской и сельской групп детей школьного возраста республики Тыва по данным биоимпедансного анализа в условиях "трансформации" традиционного образа жизни // Вестник археологии, антропологии и этнографии. 2020. № 4 (51). С. 148–160.

- [37]. Штина И.Е., Валина С.Л., Устинова О.Ю., Маклакова О.А. Возрастные особенности компонентного состава тела у школьников // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2019. № 4. С. 496–500.

L. A. BELAYA, V. A. MELNIK, S. N. MELNIK, A. A. KOZLOVSKY

**ANALYTICAL REVIEW OF THE USE OF BIOIMPEDANCE ANALYSIS TO ASSESS THE INDICATORS OF PHYSICAL DEVELOPMENT AND HUMAN HEALTH**

*Educational Establishment “Gomel State Medical University”, Gomel, Republic of Belarus*

**Summary**

The article is an analytical review of the literature based on the results of modern research that uses bioimpedance measurement in practice. The analysis of domestic and foreign sources shows the expediency and wide possibilities of studying the electrical resistance of biological tissues and media in various fields of medicine. Most of the works are devoted to the applied value of the method for characterizing nutritional status as an indicator of a comprehensive assessment of physical development and human health, early diagnosis of pathology of organs and systems, a reliable criterion for the effectiveness of therapy and prognosis of the disease. The review presents work characterizing bioimpedance measurement as a promising method of preventive diagnosis, which has such advantages as non-invasiveness and painlessness of the procedure, portability, the possibility of safe repetition of the study in dynamics, especially relevant in pediatric practice. The authors propose to include this method in the standards of population survey in order to assess the state and monitor health [1, 2].

*Keywords:* bioimpedance analysis, physical development, anthropometric measurements, body component composition.

## ОТ РЕДАКЦИИ

### ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

#### ТЕМАТИКА

Журнал **Новости медико-биологических наук (News of Biomedical Sciences)** публикует результаты экспериментальных клинических и теоретических исследований в областях физиологии и общей патологии; морфологии, нейрохимии; биохимии и эндокринологии; фармакологии и токсикологии; вирусологии, микробиологии и иммунологии; медицинской биологии и медицинской генетики; биофизики, физической медицины и биомедицинских технологий.

Статьи издаются на белорусском, русском и английском языках.

#### ПРЕДСТАВЛЕНИЕ

Рекомендуемый размер статьи, включая указатель литературы, таблицы, иллюстрации и резюме, – 10–15 страниц «машинописного» текста (кегель 14 пт), распечатанных через два интервала, с полями слева не менее 2,5 см. **Статьи большего размера без предварительного согласования с Редакцией не принимаются.** Рекомендуемое число литературных ссылок для экспериментальной статьи – не более 25, для обзоров и проблемных статей – не более 75. Рекомендуемый размер обзора – 20–25 страниц «машинописного» текста.

Статьи следует представлять **в 2 экземплярах** с обязательным приложением электронной версии, сопроводительных документов от учреждения, где выполнена работа (по одному экземпляру акта экспертизы и направления от учреждения).

#### по адресу:

220072, г. Минск, ул. Академическая, 28, Институт физиологии НАН Беларуси. Редакция журнала «Новости медико-биологических наук. News of Biomedical Sciences». Телефон: 8(017)379-17-82, E-mail: journal@fizio.bas-net.by

Наличие электронной версии, направленной по электронной почте, не заменяет представления публикации в виде распечатки текста, рисунков в обычной форме и подписи соавторов статьи.

#### ОФОРМЛЕНИЕ РАБОТЫ

Материалы должны быть представлены в следующем порядке и оформлены по следующим правилам, без соблюдения которых они рассматриваться не будут. Авторы несут ответственность за точность и достоверность предоставленных выходных и персональных данных, корректность их перевода на английский язык, за достоверность используемых научных материалов, точность цитат, правильность ссылок на них.

#### Информационный лист

Представленные материалы предваряют информационным листом. На нем указывают название работы, инициалы и фамилии авторов, полное название учреждения, откуда выходит работа.

Информационный лист должен быть подписан всеми авторами. На нем следует указать их адреса, номера телефонов и телефаксов, а также адреса электронной почты (E-mail), фамилии, имена и отчества авторов (полностью), ученые степени и звания. Отдельно следует пометить координаты того автора, с которым редакция сможет при необходимости связаться.

На информационном листе обязательно следует указать рубрику для помещения публикации в журнале.

#### Основной текст статьи

Начало статьи должно быть оформлено по следующему образцу:

Индекс статьи по Универсальной десятичной классификации (УДК); Авторы; Название; Полные названия учреждений, в которых выполнялось исследование. Если статья написана авторами из разных учреждений, это должно быть отмечено верхними цифровыми индексами. Например:

УДК 612.337

*И. И. ИВАНОВ<sup>1</sup>, П. П. ПЕТРОВ<sup>1,2</sup>*

#### СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный университет», г. Минск, Республика Беларусь

Статья должна быть написана лаконично и четко. В рукописи (распечатке) на левом поле карандашом отмечается место, где должен быть помещен рисунок (таблица). Ссылки на литературу в тексте даются в квадратных скобках арабскими цифрами – [1–3, 5]. Формулы указываются в тексте четко, с аккуратным обозначением индексов. Особенно тщательно следует указывать знаки, сходные по начертанию. Ферменты при первом упоминании должны обозначаться полным названием с цифровым индексом согласно Международной классификации ферментов (Комиссия по ферментам IUB). При повторном упоминании может применяться общепринятое тривиальное название. Автор(ы) гарантирует(ют), что эксперименты выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными.

#### **Редакция оставляет за собой право сокращать статьи.**

Текст статьи должен содержать рубрики: введение, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение.

#### Резюме (Summary)

Резюме (на русском и английском языках отдельно), на 0,5 с. «машинописного» текста (не более 250 слов) должно быть выполнено в виде одного абзаца с указанием фамилии и инициалов авторов, заглавия статьи. В конце отдельной строкой следует указать не более шести ключевых слов.

### **Иллюстрации**

К полноформатной статье может быть приложено не более 5 рисунков. Комбинирование в одном рисунке нескольких кадров, требующих изготовления разных клише (тоновые рисунки и графика), не допускается. Размер рисунков должен быть таков, чтобы в сумме они занимали не более 2 журнальных страниц формата А4. Максимальный размер рисунка не должен превышать 16 см (по ширине). Рисунки прикладываются в 2 экземплярах. Рисунки должны быть представлены в виде, исключающем их доработку. Графики должны быть распечатаны на лазерном принтере. На обороте каждого рисунка пишется карандашом фамилии авторов, номер рисунка, указывается верх рисунка, если правильное расположение его в тексте может вызвать затруднение. В подписях должен быть дан заголовок рисунка и расшифрованы буквенные и цифровые обозначения на нем, указана последовательность расположения иллюстративного материала и т.п. Для микрофотографий указывают увеличение, для электронограмм – масштаб. Прочие объяснения должны приводиться в тексте. Подписи к рисункам нужно печатать отдельно от основного текста статьи (на отдельных листах).

В электронной версии помимо размещения в статье, рисунки представляются в виде отдельных файлов в формате TIF или в форматах, созданных в пакетах Adobe PhotoShop, CorelDraw, Adobe Illustrator.

### **Таблицы**

Таблицы должны быть отпечатаны через два интервала, иметь порядковые номера (арабские, например: табл. 1). Таблица должна иметь общий заголовок. Все графы без исключения должны иметь заголовки. Сокращения слов (кроме общепринятых) в таблицах не допускаются.

**Текст статьи не должен дублировать содержание иллюстративного материала.**

**Список литературы** должен быть оформлен на отдельном листе (листах) бумаги. Список составляется только по работам, цитированным в тексте. Все работы, упомянутые в тексте, должны быть включены в список.

**Список литературы составляется в порядке упоминания источников.**

Библиографические данные оформляются следующим образом:

*1. Книга (монография), одностомное издание:*

[1]. *Гурин В.Н.* Центральные механизмы терморегуляции. Мн.: Беларусь, 1980. 127 с.

*2. Статья из книги:*

[2]. *Властов Б.В., Матекин П.В.* Жизнь животных. М., 1988. Т. 2. С. 20–64.

[3]. *Moroz L.L.* Signal molecules and behaviour. Eds. W. Winlow, O.S. Vinogradova, D.A. Sakharov. Manchester: Manchester University Press, 1991. P. 101–123.

*3. Статья из журнала:*

[4]. *Katz B., Miledi R.* The effect of temperature on the synaptic delay at the neuromuscular junction // J. Physiol. 1965. Vol. 181. P. 656–670.

Номер журнала (через запятую после номера тома) необходимо указывать, только если нумерация страниц начинается в каждом номере.

*4. Автореферат диссертации:*

[5]. *Васим Т.В.* Транспорт нейротрансмиттеров в анизоосмотических условиях пресинаптическими нервными окончаниями мозга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Мн.: Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, 2009. 23 с.

*5. Тезисы доклада:*

[6]. *Стукач Ю.П., Досина М.О., Тимошенко А.Х. и др.* // Интенсивность продукции монооксида азота в миокарде крыс после моделирования геморрагического и ишемического инсульта // сб. VI Всероссийской с международным участием школы-конференции. Москва. 2016. С.149–150.

За правильность и полноту представления библиографических данных редакция ответственности не несет.

**Если по формальным признакам список составлен небрежно, статья возвращается для доработки.**

## **ВСЕ ПРЕДСТАВЛЯЕМЫЕ НАУЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ПОДВЕРГАЮТСЯ ОБЯЗАТЕЛЬНОМУ РЕЦЕНЗИРОВАНИЮ**

### **Доработка**

Для доработки в соответствии с замечаниями рецензента статья возвращается автору на срок не более трех месяцев. После доработки автор должен вернуть в редакцию и старый и доработанный варианты статьи. После доработки статья направляется на повторное рецензирование. Если через три месяца автор не возвратил доработанную статью, она исключается из редакционного портфеля.

### **Корректурa**

Корректурa высылается автору *в случае необходимости* для исправления опечаток или искажений первоначального текста. Никакие изменения и дополнения не допускаются и в текст вносятся не будут. Корректурa, тщательно выверенная и подписанная автором, должна быть возвращена в редакцию не позднее двух суток со дня ее получения.

## **НОВОСТИ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2024, Т. 24, № 4**

**Набор и верстка** *Ерофеева А.-М. В., Филипович Т.А.*  
**Дизайн обложки** *Саркисов С.В.*

Подписано в печать с готового оригинал-макета заказчика 20.12.2024. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 11,86. уч. изд. л. 10,8. Тираж 75 экз. заказ 267

Государственное научное учреждение «Институт физиологии НАН Беларуси».  
ЛИ №02330/0494405 от 16.03.2009. Ул. Академическая, 28. 220072, г. Минск.

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука». Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013. ЛП №02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40. 220084, г. Минск