

ISSN 2658-6533

НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

12(1) 2026

16+

Сайт журнала:
rrmedicine.ru

сетевой научный рецензируемый журнал
online scholarly peer-reviewed journal



НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH RESULTS IN BIOMEDICINE

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации Эл. № ФС 77-74739 от 29 декабря 2018 г.

The Journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor)
Mass media registration certificate El. № FS 77-74739 of December 29, 2018



Том 12, №1. 2026

СЕТЕВОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 2014 г.

ISSN 2658-6533



Volume 12, №1. 2026

ONLINE SCHOLARLY PEER-REVIEWED JOURNAL

First published online: 2014

ISSN 2658-6533

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: Чурносов М.И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: Юров И.Ю., член-корреспондент Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, РФ

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Александровский Ю.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского», Москва, РФ
Ван Т.С.К., PhD, профессор, госпиталь принца Уэльса Китайского университета Гонконга, Гонконг, Китай
Галенко-Ярошевский П.А., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, РФ
Жернакова Н.И., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Иллиг Т., доктор естественных наук, профессор, Ганноверский объединенный биобанк Медицинской школы Ганновера, Ганновер, Германия
Кубешова Х.М., MD, PhD, профессор, Масариков университет, Брно, Чехия
Малерба Дж., PhD, профессор медицинской генетики, Университет Вероны, Верона, Италия
Милкович Б., PhD, профессор, Белградский университет, Белград, Сербия
Нкенке Э., MD, DMD, MA, доктор медицинских наук, профессор, Венский медицинский университет, Вена, Австрия
Покровский М.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Полоников А.В., доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, РФ
Процаев К.И., доктор медицинских наук, профессор, АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «ГЕРОНТОЛОГИЯ»», Москва, РФ
Радзинский В.Е., академик Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ
Руженкова В.В., доктор медицинских наук, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ
Сорокин А.В., кандидат медицинских наук, Национальный институт сердца, легких и крови, Бетесда, США
Степанов В.А., академик Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор, НИИ медицинской генетики

EDITORIAL TEAM:

EDITOR-IN-CHIEF: M.I. Churnosov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF: I.Yu. Iourov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology), Professor, Mental Health Research Center, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD:

Yu.A. Aleksandrovsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Moscow, Russia
T.S.K. Wan, PhD, Professor, Prince of Wales Hospital of the Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China
P.A. Galenko-Yaroshevsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia
N.I. Zhernakova, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
T. Illig, Dr. rer. nat., Professor, Hanover Unified Biobank of Hannover Medical School, Hannover, Germany
H.M. Kubeshova, MD, PhD, Professor, Masaryk University, Brno, Czech Republic
G. Malerba, PhD, Professor of Medical Genetics, University of Verona, Verona, Italy
B. Miljkovic, PhD, Professor, University of Belgrade, Belgrade, Serbia
E. Nkenke, MD, DMD, MA, Dr. rer. medic., Full Professor, Medical University of Vienna, Vienna, Austria
M.V. Pokrovsky, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
A.V. Polonikov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Kursk State Medical University, Kursk, Russia
K.I. Prashchayeu, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Research Medical Center "Gerontology", Moscow, Russia
V.E. Radzinsky, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
V.V. Ruzhenkova, Doct. Sci. (Medicine), Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
A.V. Sorokin, Cand. Sci. (Medicine), National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, USA
V.A. Stepanov, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Biology), Professor, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
M.B. Freydin, Doct. Sci. (Biology), Queen Mary University of London, London, UK
M.B. Khamoshina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
E.K. Khusnutdinova, Corresponding Member of the Russian Academy of Education, Doct. Sci. (Biology), Professor, Institute of Biochemistry

Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, Томск, РФ

Фрейдлин М.Б., доктор биологических наук, Лондонский университет королевы Марии, Лондон, Великобритания

Хамошина М.Б., доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, РФ

Хуснутдинова Э.К., член-корреспондент Российской академии образования, доктор биологических наук, профессор, Институт биохимии и генетики Уфимского Федерального

исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, РФ

Цыганков Б.Д., член-корреспондент Российской академии наук, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва, РФ

Эберт А.Д., PhD, доктор медицинских наук, профессор, Клиника женского здоровья, гинекологии и акушерства, Берлин, Германия

and Genetics of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

B.D. Tsygankov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doct. Sci. (Medicine), Professor, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

A.D. Ebert, PhD, Dr. med. habil., Professor, Practice for Women's Health, Gynecology & Obstetrics, Berlin, Germany

РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА:

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: **Малютина А.Ю.**, кандидат фармацевтических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

РЕДАКТОР АНГЛИЙСКИХ ТЕКСТОВ: **Ляшенко И.В.**, кандидат филологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

ТЕХНИЧЕСКИЙ СЕКРЕТАРЬ: **Рудых Н.А.**, кандидат биологических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, РФ

EDITORIAL BOARD:

EXECUTIVE SECRETARY: **A.Yu. Malyutina**, Cand. Sci. (Pharmacy), Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

ENGLISH TEXT EDITOR: **I.V. Lyashenko**, Cand. Sci. (Philology), Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

TECHNICAL SECRETARY: **N.A. Rudykh**, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Издатель: НИУ «БелГУ». Адрес издателя: 308015 г. Белгород, ул. Победы, 85.

Журнал выходит 4 раза в год

Founder: Federal State Autonomous Educational Establishment of Higher Education «Belgorod State National Research University»

Publisher: Belgorod State National Research University

Address of publisher: 85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia

Publication frequency: 4 /year

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ГЕНЕТИКА

GENETICS

А.Р. Хакимов, Л.А. Мусина, А.И. Лебедева, С.Р. Хабибуллина Современные достижения генной терапии пигментного ретинита с применением аденоассоциированного вируса (обзор)	5	Albert R. Khakimov, Lyalya A. Musina, Anna I. Lebedeva, Safia R. Khabibullina Current advances in gene therapy for retinitis pigmentosa using adeno-associated virus (review)	5
Haider A. Alhour, Rafid A. Abdulkareem, Hamzah H.K. Al-Shukri Investigation of <i>NFKB1</i> Gene Expression and rs28362491 Polymorphism in Relation to Diabetic Nephropathy and Glycemic Dysregulation in Iraqi T2DM Patients	24	Haider A. Alhour, Rafid A. Abdulkareem, Hamzah H.K. Al-Shukri Investigation of <i>NFKB1</i> Gene Expression and rs28362491 Polymorphism in Relation to Diabetic Nephropathy and Glycemic Dysregulation in Iraqi T2DM Patients	24
С.Н. Жабин, В.А. Лазаренко, Ю.Э. Азарова, Е.Ю. Клёсова, Д.А. Башкатов, С.И. Кононов, М.А. Солодилова, А.В. Полоников Миссенс-вариант rs11556924 в гене <i>ZC3HC1</i> характеризуется протективным эффектом в отношении риска развития облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей у женщин	37	Sergey N. Zhabin, Victor A. Lazarenko, Iuliia E. Azarova, Elena Yu. Klyosova, Daniil A. Bashkatov, Stanislav I. Kononov, Maria A. Solodilova, Alexey V. Polonikov The missense variant rs11556924 in <i>ZC3HC1</i> has a protective effect against the risk of peripheral artery disease in women	37

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACOLOGY

Ninieki Budiarti, Loeki E. Fitri, Handono Kalim, Nuning Winaris, Aulia R. Pawestri, Dewi Santosaningsih, Aristika Dinaryanti, Siti Q. Khairunisa, Nasronudin <i>Neisseria gonorrhoeae</i> LOS Decreased NF-κB and IRF3 Expression but Had No Effect in IFN-β Expression and HIV Replication on Naïve-HIV Lymphocytes	52	Ninieki Budiarti, Loeki E. Fitri, Handono Kalim, Nuning Winaris, Aulia R. Pawestri, Dewi Santosaningsih, Aristika Dinaryanti, Siti Q. Khairunisa, Nasronudin <i>Neisseria gonorrhoeae</i> LOS Decreased NF-κB and IRF3 Expression but Had No Effect in IFN-β Expression and HIV Replication on Naïve-HIV Lymphocytes	52
Riaz Hossain, Nishan Shorif, Sifat Foysal, Mohammad N. Islam Evaluation of efficacy of selective phenolic compounds of olive leaves in chronic myeloid leukemia: an in-silico approach	64	Riaz Hossain, Nishan Shorif, Sifat Foysal, Mohammad N. Islam Evaluation of efficacy of selective phenolic compounds of olive leaves in chronic myeloid leukemia: an in-silico approach	64
Tran T.P. Nhung, Le P.T. Quoc Mitigation of indomethacin-induced gastric inflammation in mice through the administration of ethanol extract from <i>Hedyotis capitellata</i> Wall. leaves	81	Tran T.P. Nhung, Le P.T. Quoc Mitigation of indomethacin-induced gastric inflammation in mice through the administration of ethanol extract from <i>Hedyotis capitellata</i> Wall. leaves	81

Е.Д. Козлов, А.В. Зорькина Антиаритмический эффект амиодарона на модели адреналовых желудочковых аритмий у крыс с гипергликемией и сочетанием гипергликемии с гиперхолестеринемией	100	Evgeniy D. Kozlov, Angelina V. Zorkina Antiarrhythmic effect of amiodarone on epinephrine-induced ventricular arrhythmias in rats with experimental hyperglycemia and its combination with hypercholesterolemia	100
---	------------	---	------------

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

MEDICINE

В.В. Коноплёва, С.В. Шамарин Кардиотокография с элементами искусственного интеллекта (обзор)	112	Violeta V. Konopleva, Stanislav V. Shamarin Artificial intelligence models in cardiotocography (review)	112
И.Л. Кляритская, К.Г. Бондарь Возрастные диагностические и дефицитарные особенности пациентов с метаболически- ассоциированной жировой болезнью печени	139	Irina L. Klyaritskaya, Kristina G. Bondar Age-related diagnostic and deficiency features patients with metabolic-associated fatty liver disease	139
В.А. Чинарев, Е.В. Малинина, М.Д. Обухова Валидизация русскоязычной версии шкалы Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) для оценки восстановления после первого психотического эпизода	154	Vitaly A. Chinarev, Elena V. Malinina, Maria D. Obukhova Validation of the Russian version of the Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) to assess recovery after the first psychotic episode	154

ГЕНЕТИКА
GENETICS

DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-1

УДК 616-085

Современные достижения генной терапии пигментного ретинита с применением аденоассоциированного вируса (обзор)

А.Р. Хакимов¹ , Л.А. Мусина¹ , А.И. Лебедева¹ , С.Р. Хабибуллина² 

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», ул. Зорге, д. 67/1, г. Уфа, 450075, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет», ул. Ленина, д.3, г. Уфа, 450008, Российская Федерация

Автор для переписки: А.Р. Хакимов (*shershakov2015a@mail.ru*)

Резюме

Актуальность: Пигментный ретинит представляет собой группу наследственных заболеваний сетчатки, характеризующихся прогрессирующей дегенерацией фоторецепторов и пигментного эпителия. Это приводит к необратимой потере зрения, что существенно снижает качество жизни пациентов. Современные методы лечения, включая витаминную терапию, антиоксиданты и имплантацию электронных устройств, не способны остановить прогрессирование заболевания, а лишь частично компенсируют его последствия. В связи с этим разработка эффективных методов лечения, направленных на устранение первопричины заболевания, остается актуальной задачей современной офтальмологии. Генетическая терапия с использованием вирусных векторов открывает новые перспективы в лечении наследственных дегенеративных заболеваний сетчатки. **Цель исследования:** Обзор современных подходов к лечению пигментного ретинита с использованием генетической терапии, анализ эффективности и безопасности доставки терапевтических генов в клетки сетчатки, а также оценка перспектив дальнейших исследований в данной области. **Материалы и методы:** Проведен анализ данных научных исследований и клинических испытаний, посвященных использованию аденоассоциированных вирусов для доставки генетического материала в клетки сетчатки. Поиск источников осуществлялся в базах данных рецензируемой литературы по ключевым словам, связанным с генетической терапией пигментного ретинита. **Результаты:** Эффективность генной терапии при пигментном ретините зависит от серотипа AAV-вектора, типа клетки-мишени и способа введения. Наиболее стабильную экспрессию генов *RHO*, *RPGR*, *RP2*, *PDE6a* и *PDE6b* обеспечивают серотипы AAV2/5 и AAV8 при субретинальном введении. Для подавления мутантного *RHO* и его замещения эффективны двойные векторы с кшРНК и резистентной к ней кДНК, а для *RPGR* доказана необходимость кодон-оптимизации изоформы *RPGR*^{ORF15}. В случае *RP2* использование самокомплементарного AAV обеспечивало экспрессию в 90% фоторецепторов

и восстанавливало структуру наружного ядерного слоя, однако высокая доза вызывала токсический эффект. При терапии *PDE6a* и *PDE6b* показана эффективность не только векторной доставки, но и систем редактирования CRISPR и прайм-редактирования. **Заключение:** Генетическая терапия с использованием аденоассоциированных вирусов является перспективным направлением в лечении наследственных заболеваний сетчатки. Однако остаются нерешенные вопросы, связанные с длительностью эффекта, возможностью иммунного ответа и ограниченной вместимостью вирусных векторов. Дальнейшие исследования направлены на улучшение методов доставки, повышение эффективности экспрессии терапевтических генов и разработку новых подходов, позволяющих лечить широкий спектр наследственных ретинопатий.

Ключевые слова: сетчатка; пигментный ретинит; дегенерация; генная терапия; аденоассоциированный вирус; вирусный вектор

Для цитирования: Хакимов АР, Мусина ЛА, Лебедева АИ, и др. Современные достижения генной терапии пигментного ретинита с применением аденоассоциированного вируса (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(1):5-23. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-1

Current advances in gene therapy for retinitis pigmentosa using adeno-associated virus (review)

Albert R. Khakimov¹ , Lyalya A. Musina¹ , Anna I. Lebedeva¹ ,
Safia R. Khabibullina² 

¹ Russian Center for Eye and Plastic Surgery,
67/1 Zorge St., Ufa, 450075, Russia

² Bashkir State Medical University,
3 Lenin St., Ufa, 450008, Russia

Corresponding author: Albert R. Khakimov (shershakov2015a@mail.ru)

Abstract

Background: Retinitis pigmentosa is a group of inherited retinal disorders characterized by progressive degeneration of photoreceptors and the retinal pigment epithelium. This leads to irreversible vision loss, significantly reducing patients' quality of life. Current treatment methods, including vitamin therapy, antioxidants, and electronic implant devices, do not halt disease progression but only partially compensate for its consequences. Therefore, developing effective therapies targeting the underlying causes of the disease remains a pressing challenge in modern ophthalmology. Gene therapy using viral vectors presents new opportunities for treating hereditary degenerative retinal diseases. **The aim of the study:** To review current approaches to treating retinitis pigmentosa through gene therapy, analyze the efficiency and safety of therapeutic gene delivery to retinal cells, and assess future research prospects in this field. **Materials and methods:** A review of scientific studies and clinical trials was conducted, focusing on the use of adeno-associated viruses for delivering genetic material to retinal cells. Sources were selected from peer-reviewed literature databases using keywords related to gene therapy for retinitis pigmentosa. **Results:** The effectiveness of gene therapy for retinitis pigmentosa depends on the AAV vector serotype, the target cell type, and the method of administration. The most stable gene expression for *RHO*, *RPGR*, *RP2*, *PDE6a*, and

PDE6 β is achieved using AAV2/5 and AAV8 serotypes with subretinal injection. For suppressing mutant *RHO* and its replacement, dual vectors containing shRNA and resistant cDNA are effective, while codon optimization of the *RPGR*^{ORF15} isoform is necessary for *RPGR*. In the case of *RP2*, the use of self-complementary AAV achieved expression in 90% of photoreceptors and restored the structure of the outer nuclear layer; however, high doses led to toxic effects. For *PDE6 α* and *PDE6 β* therapy, not only viral vector delivery but also CRISPR and prime editing systems have shown effectiveness. **Conclusion:** Gene therapy using adeno-associated viruses is a promising approach for treating hereditary retinal diseases. However, challenges remain regarding the duration of therapeutic effects, potential immune responses, and the limited carrying capacity of viral vectors. Future research aims to enhance delivery methods, improve therapeutic gene expression efficiency, and develop new strategies for treating a wide range of inherited retinopathies.

Keywords: retina; retinitis pigmentosa; degeneration; gene therapy; adeno-associated virus; viral vector

For citation: Khakimov AR, Musina LA, Lebedeva AI, et al. Current advances in gene therapy for retinitis pigmentosa using adeno-associated virus (review). Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):5-23. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-1

Введение. Возрастные и генетически обусловленные заболевания сетчатки – одна из основных причин ухудшения зрения и слепоты в мире [1, 2]. Пигментный ретинит (RP) – тяжелое заболевание сетчатки, поражающее более 1,5 миллионов человек ежегодно и значительно снижающее качество их жизни. Эта форма дистрофии сетчатки относится к наследственным гетерогенным ретинопатиям и характеризуется гибелью фоторецепторов и дегенерацией пигментного эпителия, приводя к куриной слепоте и туннельному зрению [3, 4, 5]. RP проявляется в трех типах наследования: аутосомно-доминантном (ADRP), аутосомно-рецессивном (ARRP) и X-сцепленном (XLRP). Выявлено более 60 генов, связанных с RP, но точные механизмы дегенерации сетчатки до конца не изучены [6].

Традиционные методы лечения, включая хирургию и фармакотерапию, чаще всего лишь замедляют прогрессирование болезни, не устраняя ее причину [7]. В связи с этим генная терапия становится перспективным направлением для лечения генетических заболеваний сетчатки [8].

Аденоассоциированный вирус (AAV) зарекомендовал себя, как один из наиболее безопасных и эффективных инструментов

доставки генетического материала в клетки-мишени [9]. Этот вирус обладает уникальными характеристиками, такими, как низкая иммуногенность, способность к долгосрочной экспрессии целевых генов и возможность инфицировать как делящиеся, так и неделящиеся клетки [10]. Более того, многочисленные модификации AAV позволили значительно улучшить их специфичность, тропизм и эффективность доставки, что делает их во многом идеальным вектором для генной терапии заболеваний сетчатки [11, 12].

За последние годы накоплен значительный объем данных о применении AAV в лечении многих наследственных заболеваний, таких, как дистрофия Штаргардта, врожденный амавроз Лебера и других нарушений, связанных с генетическими мутациями. Клинические исследования продемонстрировали успешную доставку трансгенов в клетки сетчатки, восстановление их функции и значительное улучшение зрения у некоторых пациентов [13].

Цель исследования. Целью данного обзора является анализ современных подходов к генной терапии пигментного ретинита с использованием аденоассоциированных вирусов, оценка их эффективности и безопасности, а также выявление перспективных направлений

дальнейших исследований. В работе рассматриваются механизмы действия различных терапевтических стратегий, включая подавление экспрессии мутантных генов, их замещение функциональными аналогами и редактирование генома. Особое внимание уделяется сравнительному анализу вирусных векторов, применяемых в клинических испытаниях, а также ограничениям, связанным с их упаковочной емкостью и иммунным ответом организма.

Материалы и методы исследования. Настоящий обзор обобщает результаты исследований и клинических данных по использованию AAV в генной терапии RP. Рассматриваются методы использования AAV для подавления и редактирования генов-мишеней, напрямую ассоциированных с развитием различных форм данного заболевания, а также новые подходы и разработки в этой области. Поиск публикаций проводился в базе данных электронных информационных ресурсов PubMed и Google Scholar по ключевым словам AAV, adeno-associated virus, gene therapy, retinitis pigmentosa,

RHO, RP2, RPGR, PDE6. В анализ включены научные статьи в рецензируемых журналах, опубликованные в период с 1997 по 2025 годы. Нижняя граница временного интервала обусловлена тем, что именно в этот период были ранние попытки генной терапии ретинопатий с использованием AAV.

Критерии отбора статей включали: публикации в рецензируемых научных журналах; наличие оригинальных экспериментальных данных *in vivo*; фокус на генной терапии пигментного ретинита с использованием AAV-векторов; указание на конкретные гены-мишени.

Результаты и их обсуждение

Вектор AAV как платформа для доставки трансгена

На сегодняшний день наиболее успешными вирусными векторами в генной терапии являются ретровирусы, лентивирусы и аденовирусы (Табл. 1). Многие из них имеют ряд недостатков, таких, как высокий риск иммунного ответа и генетических мутаций. В этом отношении AAV считается самой безопасной платформой для доставки трансгенов *in vivo* [14].

Таблица 1

Сравнение наиболее используемых вирусных векторов [14, 15]

Table 1

Comparison of the most commonly used viral vectors [14, 15]

Вирусный вектор	Аденоассоциированный вирус	Аденовирус	Лентивирус	Ретровирус
Размер генома	4 700 п.н.	36 000 п.н.	9 000 п.н.	8 500 п.н.
Размер вириона	20-26 нм	70-90 нм	80-100 нм	80-100 нм
Проникающая способность	Высокая	Средняя	Низкая	Низкая
Тип нуклеиновой кислоты	ДНК	ДНК	РНК	РНК
Тип клеток-мишеней	Делящиеся и неделящиеся	Делящиеся и неделящиеся	Делящиеся и неделящиеся	Делящиеся
Способ интеграции гена	Специфическая интеграция	Эписомная репликация	Псевдоспецифическая интеграция	Неспецифическая интеграция
Экспрессия экзогенного гена	Стабильная	Преходящая	Стабильная	Преходящая или стабильная
Эффективность трансдукции генов	Средняя	Высокая	Средняя	Высокая
Иммуногенность	Низкая	Высокая	Средняя	Средняя
Диапазон клеточной специфичности и его зависимость от серотипа	Средний, сильная зависимость от серотипа	Широкий, сильная зависимость от серотипа	Широкий, слабая зависимость от серотипа	Узкий, слабая зависимость от серотипа

Одной из ключевых особенностей AAV является его непатогенность, связанная с неспособностью к репликации в клетке-хозяине без вируса-сателлита, например, аденовируса [16, 17]. Неизвестны штаммы AAV, самостоятельно вызывающие заболевания у человека, и научное сообщество пришло к консенсусу по этому вопросу [17]. Однако в 2023 году была обнаружена связь коинфекции AAV2 с гепатотропными вирусами и тяжелым течением острого гепатита у детей. Авторы подчеркивают, что прямая причинно-следственная связь не подтверждена, и требуются дальнейшие исследования [17].

Вирусная частица AAV имеет капсид диаметром 20-26 нм, что облегчает ее проникновение в клетки-мишени. Дикий тип AAV способен интегрироваться в геном клетки в локус *AAVSI* 19-й хромосомы благодаря сходству последовательностей *AAVSI* и инвертированных концевых повторов вируса. После инфицирования AAV переходит в латентное состояние [18]. Геном AAV содержит две открытые рамки считывания, кодирующие гены *REP* и *CAP*. Ген *REP* обеспечивает синтез четырех белков для репликации вируса, а *CAP* кодирует три субъединицы капсида: VP1, VP2 и VP3. В этом же участке, но в другой рамке считывания, кодируется белок AAR, участвующий в сборке вирусных частиц [15]. В 2019 году был идентифицирован

белок МААР, облегчающий инкапсуляцию генетического материала в вирион [19].

Размер одноцепочечного генома AAV составляет около 4 700 п.н. [16]. Компактность генома обеспечивается альтернативным сплайсингом и перекрывающимися рамками считывания. Это ограничивает использование AAV как вектора, так как малая емкость генома требует тщательного проектирования трансгена и регуляторных элементов, а также делает невозможной доставку генов размером более 4 800 п.н. в одиночном векторе [10]. Решением проблемы может стать расщепление кодирующей последовательности на различные векторы AAV [4]. Для одновременного подавления гена и его замещения трансгеном используются двойные векторы, увеличивая упаковочный лимит до 8 900 п.н. [20]. На данный момент большие успехи в генной терапии RP касаются лишь генов с кДНК, не превышающей 4 700 п.н.

Тканевая специфичность AAV зависит от его серотипа, который в большей степени определяется особенностями молекулярного взаимодействия капсида и рецепторов клетки-мишени (Табл. 2). На данный момент выделено 13 природных серотипов с различным тканевым тропизмом. Векторы природных серотипов AAV обладают более низкой специфичностью по сравнению с rAAV [15].

Таблица 2

Эффективность трансдукции различных серотипов в зависимости от клетки-мишени сетчатки у мышей [15]

Table 2

Transduction efficiency of various serotypes depending on the retinal target cell in mice [15]

Тип вектора	Пигментцит	Фоторецептор	Ганглиозная клетка	Радиальный глиоцит
AAV1	+	-	-	+
AAV2	+	++	++	+
AAV2/5	+++	+++	-	+
AAV2/8	++	+++	+	+
AAV3	+	+	+	+
AAV4	++	-	-	+
AAV5	+	+	-	+
AAV6	++	+	++	+
AAV7	++	++	+	+
AAV8	+	+++	+	+
AAV9	-	+++	+	+

Примечание: (-) – отсутствие трансдукции, (+, ++, +++) – степени эффективности трансдукции

Note: (-) – no transduction, (+, ++, +++) – levels of transduction efficiency

Благодаря высокой тропности некоторых серотипов (например, AAV2, AAV5 и AAV8) к клеткам пигментного эпителия и фоторецепторам их использование позволяет доставлять трансгены непосредственно в клетки сетчатки [12]. Разработка векторов с оптимизированным тропизмом, а также их доставка путем интравитреального или субретинального введения, остаются важными аспектами клинических исследований в области генной терапии сетчатки [11].

В генной терапии RP эталонными векторами считаются AAV5 и AAV8. В двойных векторах в капсиды AAV5 и AAV8, как правило, инкапсулируется геном AAV2, аналогично специфичный к пигментному эпителию. Кроме того, AAV2 – один из наиболее изученных векторов для генной терапии ретинопатий и других наследственных заболеваний [21].

Вектор AAV5 наиболее генетически отличается от всех других серотипов, поскольку был выделен непосредственно из клинических образцов человека. Капсид AAV5 в сочетании с векторным геномом AAV2 обеспечивает эффективную трансдукцию в фоторецепторах и долговременную экспрессию в течение жизненного цикла клетки [15]. Выделенный из ткани макака-резуса вектор AAV8, напротив, обладает высокой степенью гомологичности с другими серотипами – к примеру, структурное сходство между капсидами AAV8 и AAV2 составляет 83% [14].

Подавление и замена гена родопсина *RHO*

Мутации в гене родопсина человека *RHO* являются причиной наибольшей части наследственных дегенераций сетчатки [22]. Одной из наиболее частых причин ADRP у людей является мутация *RHO*^{P23H}. При этом у пациентов с одной и той же формой RP и генетической мутацией скорость прогрессирования заболевания может значительно различаться [4, 23]. Размеры кДНК *RHO* по данным GenScript равняются 1 400 п.н.

Первые эксперименты по подавлению мутантного гена *RHO* проводились на модели мышей *RHO*^{P23H}. Для этого использовался двойной вектор AAV2/5, включающий кшРНК, что обеспечило подавление мутантного гена более чем на 85%. Замещающий *RHO* экспрессировался с использованием кДНК, устойчивой к кшРНК [24]. Несмотря на увеличение толщины наружного ядерного слоя сетчатки (ONL), восстановление ее функции не было достигнуто, что можно объяснить низкой экспрессией замещающего гена. Более поздние исследования *in vivo* подтвердили эффективность подхода [25, 26].

Современные исследования модифицируют двойные векторы для повышения их эффективности. Разработан вектор AAV-RS301, содержащий кДНК *RHO* и кшРНК для дегградации мутантной мРНК *RHO*. Эксперименты на мышах *RHO*^{P23H} показали сохранение структуры и функции сетчатки [27]. На модели собак с той же мутацией аналогичный подход с использованием AAV2/5 привел к значительному подавлению мутантного гена, стабилизации фоторецепторов и восстановлению их функции. Долгосрочный эффект подтвержден через 8 месяцев [28].

Недавно был предложен мутационно-независимый подход к редактированию *RHO* с использованием AAV-Cas9 и технологии Homology-Independent Targeted Integration (HITI) [29]. В этом методе редактирование гена осуществляется в 5'-нетранслируемой области *RHO*, что позволяет избежать влияния на кодирующую последовательность белка.

Исследователи использовали две гидовые РНК, нацеленные на Kozak-последовательность, и систему SpCas9 для редактирования генома фоторецепторов. Инъекции двойных AAV2/8-векторов, несущих SpCas9 и донорную последовательность, привели к эффективной интеграции нового гена в 5'-нетранслируемой области у 43% клеток сетчатки и значительному улучшению

структуры и функции фоторецепторов у мышей $RHO^{P23H/wt}$. ЭРГ показала повышение амплитуды α - и β -волн на поздних стадиях дегенерации, что свидетельствует о сохранении фоточувствительности палочек. Долгосрочные наблюдения (до P480) подтвердили стойкий терапевтический эффект с сохранением экспрессии RHO в сетчатке даже спустя 16 месяцев после введения вектора [29]. Такой подход позволяет подавлять экспрессию мутантного RHO без риска синтеза нефункционального белка, что делает его крайне перспективной стратегией для генной терапии ADRP.

Генная терапия $RPGR$ -ассоциированного RP

Мутации в гене $RPGR$ (кДНК 2 500 п.н.) являются причиной развития XLRP в 70-90% случаев и 10% всех случаев заболевания [20]. Белок $RPGR$ существует в нескольких изоформах: $RPGR^{ex1-19}$, который участвует в развитии фоторецепторов, и $RPGR^{ORF15}$, распространенная в сетчатке форма, участвующая в поддержании целостности и стабильности наружных сегментов палочек и колбочек. Мутации в изоформе $RPGR^{ORF15}$ ответственны за 80% случаев развития XLRP [30].

Первые исследования генной терапии XLRP были проведены в 2012 году с использованием вектора AAV2/5-hRPGR у собак с моделями заболевания XLPRA1 и XLPRA2. После субретинальной инъекции вектора отмечалась сохранность ONL, фоторецепторных сегментов и нормализация экспрессии $RPGR$ в палочках и колбочках. У модели XLPRA1 сетчатка демонстрировала относительную целостность, у XLPRA2 дегенерация была равномерной, но более выраженной в центральной сетчатке. Уменьшалась глиозная реакция, предотвращались изменения в наружном плексиформном слое, характерные для поздних стадий заболевания [31].

Одной из ключевых проблем в разработке генной терапии для $RPGR^{ORF15}$

является его сложная посттранскрипционная обработка, включающая множественные варианты сплайсинга. Эписомальные трансгены AAV, как правило, лишены интронов, что может приводить к непреднамеренному сплайсингу на уровне первичного транскрипта РНК. Дополнительной проблемой является субтерапевтическая экспрессия трансгенов после доставки в сетчатку, что может ограничивать эффективность терапии [32]. Для решения этих проблем была оптимизирована кодирующая последовательность $RPGR^{ORF15}$ и создан стабильный и эффективный вектор для генной терапии XLRP. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* подтвердили, что оптимизированный вектор обеспечивает высокую экспрессию $RPGR^{ORF15}$ без потери функциональности белка. Тестирование на мышах $RPGR^{-/-}$ и C57BL/6J^{td9} показало значительное восстановление функции фоторецепторов, что подтверждается данными ЭРГ. Анализ безопасности продемонстрировал отсутствие токсических эффектов от использования оптимизированного вектора [32].

Практически в то же время был исследован вектор AAV2/5-GRK1-hRPGR с промотором GRK1, активный как в палочках, так и в колбочках. Введение вектора собакам с мутацией $RPGR$ на 5-й и 12-й неделе способствовало долговременному сохранению фоторецепторов в течение более 2 лет. Результаты подтвердили более высокую эффективность больших доз вектора. Сравнение стабилизированной версии hRPGR_{stb} и кодон-оптимизированной версии hRPGR_{co} показало, что оба варианта предотвращали дегенерацию сетчатки, но hRPGR_{co} продемонстрировал небольшое преимущество. Подтверждением этому является нормальная морфология фоторецепторов и локализация $RPGR$ в наружных сегментах палочек. Долгосрочные наблюдения не выявили серьезных побочных эффектов, а функция сетчатки сохранялась более 2 лет,

подтверждая перспективность AAV2/5-GRK1-hRPGR для клинического применения при RPGR-ассоциированном XLRP [33].

В настоящее время проводится сразу несколько клинических испытаний различных векторов для терапии RPGR (Табл. 3). В фазе III клинического испытания, спонсируемого MeiraGTx, тестируется препарат Botaretigene

Sparaparvovex с вектором AAV2/5-GRK1-RPGR^{ORF15}, содержащим укороченную версию трансгена и промотор GRK1. В 2020 году MeiraGTx представила промежуточные результаты фаз I/II (на 6, 9 и 12 месяцах). Параллельно 4D Molecular Therapeutics в 2020 году запустила испытания фаз I/II для оценки безопасности и переносимости вектора [34].

Таблица 3

Клинические исследования RPGR-ассоциированного XLRP [34, 35, 36]

Table 3

Clinical studies of RPGR-associated XLRP [34, 35, 36]

Генная терапия	Дизайн исследования	Число участников	Год начала / окончания	Спонсор	Номер NCT
Субретинальное введение rAAV2tYF-GRK1-coRPGR ^{ORF15}	Нерандомизированное, открытое исследование фазы 1/2 с увеличением дозы, с рандомизированным, контролируемым, маскированным расширением дозы в фазе 2	Фаза 1/2: 30 участников / Фаза 2: 12 участников	Апрель 2018 / Август 2026	Applied Genetic Technologies Corp.	NCT03316560
rAAV2tYF-GRK1-hRPGRco (AGTC-501)	Фаза 2/3, рандомизированное, контролируемое, маскированное, многоцентровое исследование	63 участника	Август 2021 / Март 2029	Applied Genetic Technologies Corp.	NCT04850118
4D-125	Открытое исследование фазы 1/2	43 участника	Июнь 2020 / Май 2029	4D Molecular Therapeutics	NCT04517149
AAV5-RPGR	Последующее рандомизированное, контролируемое исследование фазы 3	66 участников	Март 2021 / Июль 2027	MeiraGTx UK II Ltd, Janssen Research & Development, LLC	NCT04794101
Субретинальное введение AAV8-hRKcoRPGR ^{ORF15}	Долгосрочное последующее исследование фазы 3	440 участников	Июнь 2018 / Март 2027	NightstaRx Ltd, Biogen Inc.	NCT03584165

Дополнительно разработан вектор AAV2/8-GRK1-coRPGR^{ORF15}, созданный NightstaRx Therapeutics Ltd. (ныне Biogen Inc.) и Оксфордским университетом [35]. Он содержит оптимизированную версию RPGR^{ORF15} под контролем промотора GRK1 и упакован в капсид AAV8, что обеспечивает быструю и эффективную экспрессию в фоторецепторах после субретинального введения. Первое

клиническое исследование с этим вектором началось в 2017 году, а его первоначальные результаты были опубликованы в 2020 году [35]. Клинические испытания имели весьма впечатляющий результат – терапевтический эффект в виде улучшения поля зрения наблюдался через месяц после введения AAV8-coRPGR и сохранялся на протяжении 6 месяцев. При более высоких дозах у некоторых пациентов возникали

воспалительные реакции, разрешавшиеся после курса кортикостероидов [34, 35].

Компания Applied Genetic Tech Corp разработала генно-терапевтический вектор на основе оптимизированного кодонами человеческого $RPGR^{ORF15}$, который демонстрирует 99% идентичность последовательности, используемой Biogen Inc. Этот ген экспрессируется под контролем промотора GRK1 и упаковывается в вариант капсида AAV2. Стратегия оптимизации кодонов обеспечивает стабильность последовательности в ходе производственного процесса, предотвращая внесение мутаций, которые могли бы изменить или нарушить функцию белка $RPGR$ [36]. Кроме того, Applied Genetic Tech Corp разработала усовершенствованный вектор $gAAV2tYF$ с модифицированным капсидом, который повышает эффективность трансдукции.

Первые попытки терапии $RP2$ -ассоциированного RP

В 10-15% случаев за развитие XLRP отвечают мутации в $RP2$ (кДНК 1 050 п.н.). Ген $RP2$ участвует в регуляции цилиарного транспорта фоторецепторов, и его мутации приводят к раннему апоптозу палочек и колбочек, что вызывает прогрессирующую потерю зрения. $RP2$ -ассоциированный RP преимущественно проявляется в детском возрасте и характеризуется быстрой дегенерацией сетчатки, поражением желтого пятна и полной потерей эллипсоидов палочек и колбочек [4, 21].

Первые работы, посвященные генной терапии $RP2$ -ассоциированного XLRP, были опубликованы относительно недавно. В 2015 году был создан самокомплементарный вектор AAV с кодирующей последовательностью $RP2$ и впервые продемонстрировали способность индуцировать экспрессию $RP2$ в фоторецепторах мышей модели с нокаутом целевого гена. Сохранение функции колбочек достигалось при широком диапазоне доз в течение 18 месяцев, о чем свидетельствует фотопическая ЭРГ. Терапевтический эффект был достигнут даже у мышей, получавших лечение на

поздней стадии заболевания. Установлено, что самая высокая доза $AAV-RP2$ 1×10^9 vg/глаз оказывает токсичный эффект на сетчатку, что характеризовалось истончением или полным исчезновением ONL [37].

Дальнейшие исследования подтвердили эффективность AAV -опосредованной генной терапии $RP2$. В эксперименте [38] на культурах стволовых клеток сетчатки с нокаутом $RP2$ показано, что введение $AAV2/5-CAGp-RP2$ индуцирует экспрессию $RP2$ в 90% фоторецепторов, включая палочки и колбочки. Иммуногистохимический анализ подтвердил локализацию белка на плазматической мембране, а уровень мРНК $RP2$ увеличивался в 55 раз по сравнению с контролем. Генная терапия также приводила к значительному утолщению ONL и восстановлению экспрессии родопсина, что соответствует сохранению функции фоторецепторов. Эффективность $AAV2/5$ в доставке $RP2$ в фоторецепторы сопровождалась минимальным проникновением в другие слои сетчатки.

Введение вектора до начала истончения ONL предотвращало дегенерацию фоторецепторов, однако остается открытым вопрос о необходимости экспрессии $RP2$ в пигментном эпителии. Если в ходе дальнейших исследований выяснится, что для лучшего терапевтического эффекта необходима экспрессия $RP2$ в пигментоцитах и фоторецепторах одновременно, то векторную конструкцию нужно модифицировать так, чтобы обеспечивалась экспрессия в обоих типах клеток. Эффективность терапии $RP2$ -ассоциированного XLRP может повысить и оптимизация стратегии доставки, включая выбор промотора и времени введения, но на данный момент исследования в этом направлении крайне малочисленны или отсутствуют вовсе.

Генная терапия $PDE6$ -ассоциированного RP

Гены $PDE6\alpha$ и $PDE6\beta$ (размеры обоих кДНК 2 600 п.н.) кодируют соответственно

α - и β -субъединицы фосфодиэстеразы 6 — ключевого фермента фототрансдукционного каскада, который регулирует уровень циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в фоторецепторах. Мутации приводят к накоплению цГМФ в фоторецепторах, что приводит к их постепенной дегенерации и развитию одной из наиболее агрессивных форм RP, на долю которого приходится до 5% всех случаев заболевания [39, 40]. Установлено, что оба гена ферментативно эквивалентны друг другу, а результаты последних исследований подтверждают, что один ген может компенсировать дефицит другого [41].

Ранние попытки генной терапии были направлены на восстановление экспрессии *PDE6 β* . После интравитреального введения AAV2- β -PDE у мышей модели rd1 наблюдалась повышенная экспрессия иммунореактивного белка в фоторецепторных клетках, дегенерация сетчатки лишь незначительно замедлилась по сравнению с контрольной группой. Основным ограничением исследования оказался низкий титр AAV2 в модели быстро прогрессирующей дегенерации сетчатки [42].

Дальнейший прогресс в инженерии капсидов и методах очистки векторов позволил создать AAV с высоким титром и улучшенной трансдукцией. Субретинальное введение оптимизированных векторов AAV5-smCBA-PDE β предотвращает дегенерацию сетчатки у мышей модели rd10 и обеспечивает выживаемость фоторецепторов [43]. Но ни один из ранних подходов терапии *PDE6 β* -ассоциированной RP не привел к устойчивому и долгосрочному сохранению функции сетчатки у мышинных моделей, включая rd1 и rd10. Основным ограничением в данном контексте является крайне узкое «терапевтическое окно», в рамках которого необходимо добиться достаточно высокого уровня экспрессии трансгена в фоторецепторах, прежде чем последствия дегенерации станут необратимыми [44].

Более поздние исследования терапии *PDE6 β* доказали высокую эффективность самых различных векторов — AAV8, AAV2/8 и AAV2/5, AAV2/1 и AAV2 [43-49]. Но высокая скорость дегенерации и общая агрессивность заболевания до сих пор накладывает серьезные ограничения. Потенциальную эффективность демонстрирует генная терапия HORA-PDE6 β с использованием AAV2/5, несущего кДНК человеческого *PDE6 β* . На данный момент эта терапия проходит клиническое испытание I/II фазы, промежуточные результаты которого свидетельствуют о реактивации фототрансдукции в палочках у пациентов, получивших высокую дозу вектора [50].

В исследовании [51] продемонстрирована высокая терапевтическая эффективность вектора rAAV8-PDE6 α на мышинной модели RP43. Обнаружено, что вектор приводит к стабильной и высокой экспрессии белка в палочках и существенной выживаемости фоторецепторов в течение не менее 6 месяцев [51]. Частичное восстановление функции палочек и сохранение структуры сетчатки наблюдались на мышинных моделях и собаках с различными мутациями *PDE6 α* после введения rAAV8 [52]. Установлена связь между геном *NRL* и развитием *PDE6 α* -ассоциированного RP. После инактивации *NRL* с помощью конструкции AAV2-SaCas9 наблюдалось улучшение выживаемости фоторецепторов и восстановление функции сетчатки у мышей с дефицитом *PDE6 α* [53].

Дополнительно перспективной стратегией коррекции мутаций в *PDE6 α* является использование технологий редактирования генома, таких, как прайм-редактирование. В работе [54] прайм-система, доставленная с помощью двойного AAV, продемонстрировала высокую точность и некоторую эффективность в редактировании патогенной мутации *PDE6 α* в модели RP43. Коррекция была достигнута с эффективностью 9,4% без явных побочных мутаций, что позволило восстановить

экспрессию белка, сохранить фоторецепторы и частично восстановить зрительную функцию. Несмотря на небольшой процент успешной коррекции целевого гена, по нашему мнению, прайм-редактирование имеет потенциал как альтернативный метод терапии *PDE6a*-ассоциированного RP ввиду отсутствия наблюдаемых побочных эффектов.

Параллельно рассматривается новый подход, основанный на CRISPR-опосредованной активации транскрипции. В недавнем исследовании [41] использовалась система CRISPR-dCasMINI, доставляемая с помощью AAV, для активации экспрессии гена *PDE6β* с целью компенсации дефицита *PDE6a* у мышей. У животных зафиксировано сохранение структуры сетчатки и улучшение зрительных функций. Значительное повышение мРНК и уровня экспрессии *PDE6β* было обеспечено оптимальной гидовой РНК. Таким образом, мутационно-независимый метод CRISPR-опосредованной активации является многообещающим терапевтическим лечением *PDE6*-ассоциированного RP.

Разработка новых технологий

Генные терапевтические агенты могут вводиться в глаз двумя основными способами: субретинальной или интравитреальной инъекцией. Интравитреальная инъекция является менее инвазивной процедурой, при которой вектор доставляется в стекловидное тело, преимущественно инфицируя ганглиозные клетки сетчатки. Метод технически проще и сопряжен с меньшими хирургическими рисками, но имеет ограниченную эффективность трансдукции фоторецепторов и может вызывать более выраженный иммунный ответ из-за системного распространения вектора.

Субретинальная инъекция позволяет доставить вектор непосредственно в пигментный эпителий и фоторецепторам, обеспечивая точечную и локализованную трансдукцию [16, 55, 56]. Данный метод более инвазивен и требует тщательного контроля над формированием

субретинального пузыря, чтобы избежать таких осложнений, как отслоение сетчатки или формирование макулярных отверстий. Перспективные результаты в автоматизации подобных операций демонстрируют роботизированная система IRISS, разработанная в Институте Джулса Стейна и Калифорнийском университете, и R2D2 Оксфордского университета [20, 57].

Несмотря на высокую эффективность субретинальных инъекций, традиционные серотипы AAV ограничены в способности распространяться латерально, и клетки, находящиеся за пределами области инъекции, получают лишь незначительное количество вектора. Это создаёт необходимость в создании новых rAAV-векторов, обеспечивающих трансдукцию обширных участков сетчатки и пригодных для менее инвазивных методов доставки, таких как интравитреальная инъекция [18, 58].

В последние годы были разработаны новые инженерные стратегии для оптимизации rAAV с целью повышения эффективности доставки в сетчатку. В одном из таких подходов сочеталась системная доставка библиотеки AAV с локальным выделением AAV-геномов из клеток-мишеней сетчатки, что позволило создать высокий селекционный прессинг [59]. В результате трехэтапного скрининга *in vivo*, проведенных на мышах C57BL6/J, были получены два новых варианта капсидов: AAV2.GL и AAV2.NN. Векторы обеспечивают широкую трансдукцию сетчатки после единственной интравитреальной инъекции, демонстрируют высокую устойчивость к нейтрализующим антителам в сыворотке человека и эффективно инфицируют фоторецепторы у мышей, собак и нечеловекообразных приматов. Эксперименты на мышинной модели ахроматопсии *CNGA3^{-/-}* подтвердили терапевтическую эффективность векторов при интравитреальной доставке гена в колбочки [58].

Разработан новый серотип AAV44.9 и его модифицированная версия

AAV44.9(E531D), демонстрирующие высокую эффективность трансдукции фоторецепторов. Исследования показали, что после субретинального введения оба вектора обеспечивают более эффективную трансдукцию по сравнению с эталонными векторами AAV5 и AAV8. Введение AAV44.9(E531D) в сетчатку макак привело к трансдукции до 98% фовеальных колбочек, сохранившихся при заболевании, а также эффективному заражению парафовеальных и перифовеальных фоторецепторов. Кроме того, модифицированный вектор обеспечивал более широкое латеральное распространение векторного материала, что позволило расширить терапевтическую зону при введении. Эксперименты на модели дегенерации сетчатки у мышей подтвердили способность AAV44.9(E531D) восстанавливать функцию фоторецепторов [59], что делает его перспективным кандидатом для лечения наследственных ретинопатий, требующих трансдукции большого числа клеток.

Как уже было упомянуто ранее, значительным ограничением AAV является его небольшая упаковочная емкость, что делает невозможной доставку полноразмерных генов, таких, как *RPGR*^{ORF15}, или кассет редактирования CRISPR/Cas [20]. Для решения этой проблемы исследуются возможности расширения емкости до тройных векторов с потенциальным объемом до 14 000 п.н. и создания усеченных версий генов, кодирующих укороченные, но функциональные белки [60]. Данный подход был успешно реализован в терапии мышечной дистрофии Дюшенна с использованием усеченного дистрофина, который, несмотря на уменьшенный размер, сохраняет частичную функциональность и ослабляет тяжесть заболевания. Аналогичные стратегии разрабатываются для лечения дисферлинопатии и врожденного амавроза Лебера [6]. Однако усечение гена требует глубокого понимания структуры и функции белка, что делает этот метод специфичным

для каждого отдельного гена и трудоемким в использовании.

Альтернативный подход заключается в использовании двух AAV-векторов, несущих разные половины гена, которые рекомбинируют внутри клетки, воссоздавая полную последовательность. Для усиления этого процесса могут использоваться оптимизированные рекомбинационные последовательности, механизмы транс-сплайсинга, аналогичные сплайсингу мРНК. Перспективным направлением является интеин-опосредованный транс-сплайсинг белка, который позволяет точно соединять две половины белка после экспрессии. Данный метод продемонстрировал свою эффективность для восстановления дистрофина и доставки Cas9, но остается на стадии доклинических испытаний [61]. Оптимизация рекомбинационных последовательностей и усовершенствование сплит-интеинов могут значительно повысить эффективность данного подхода и расширить его клиническое применение.

Заключение. Генная терапия пигментного ретинита с использованием AAV-векторов, таких как AAV2/5 и AAV8, доказала клиническую эффективность, особенно для *RPGR*- и *PDE6*-ассоциированных форм, обеспечивая устойчивую экспрессию генов и восстановление зрительных функций. Технологии CRISPR/Cas и прайм-редактирования, применяемые в доклинических и клинических исследованиях, открывают перспективы для лечения наследственных ретинопатий.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Heutinck PAT, van den Born LI, Vermeer M, et al. Frequency and Genetic Spectrum of Inherited Retinal Dystrophies in a Large Dutch Pediatric Cohort: The RD5000 Consortium. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2024;65(10):40. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.65.10.40>
2. Hanany M, Shalom S, Ben-Yosef T, et al. Comparison of Worldwide Disease Prevalence and Genetic Prevalence of Inherited Retinal Diseases and Variant Interpretation Considerations. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2024;14(2):a041277. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041277>
3. Xue Y, Wang SK, Rana P, et al. AAV-Txnp prolongs cone survival and vision in mouse models of retinitis pigmentosa. *eLife*. 2021;10:e66240. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.66240>
4. Liu Y, Zong X, Cao W, et al. Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa: Current Challenges and New Progress. *Biomolecules*. 2024;14(8):903. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom14080903>
5. Sobh M, Lagali PS, Ghiasi M, et al. Safety and Efficacy of Adeno-Associated Viral Gene Therapy in Patients With Retinal Degeneration: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Translational Vision Science and Technology*. 2023;12(11):24. DOI: <https://doi.org/10.1167/tvst.12.11.24>
6. He X, Fu Y, Ma L, et al. AAV for Gene Therapy in Ocular Diseases. *Research*. 2023;6:0291. DOI: <https://doi.org/10.34133/research.0291>
7. Liu W, Liu S, Li P, et al. Retinitis Pigmentosa: Progress in Molecular Pathology and Biotherapeutic Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(9):4883. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23094883>
8. Ducloyer JB, Le Meur G, Cronin T, et al. Gene therapy for retinitis pigmentosa. *Medicine/Sciences*. 2020;36(6-7):607-615. DOI: <https://doi.org/10.1051/medsci/2020095>
9. Усман НЮ, Ребриков ДВ. Рекомбинантные аденоассоциированные вирусы как средство доставки генов для использования в молекулярной медицине. *Вестник РГМУ*. 2021;5:5-11. DOI: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2021.051>
10. Jain R, Daigavane S. Advances and Challenges in Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophies: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2024;16(9):e69895. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.69895>
11. Casey GA, Papp KM, MacDonald IM. Ocular Gene Therapy with Adeno-associated Virus Vectors: Current Outlook for Patients and Researchers. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. 2020;15(3):396-399. DOI: <https://doi.org/10.18502/jovr.v15i3.7457>
12. Xia X, Guo X. Adeno-associated virus vectors for retinal gene therapy in basic research and clinical studies. *Frontiers in Medicine*. 2023;10:1310050. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1310050>
13. Alsalloum A, Gornostal E, Mingaleva N, et al. A Comparative Analysis of Models for AAV-Mediated Gene Therapy for Inherited Retinal Diseases. *Cells*. 2024;13(20):1706. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13201706>
14. Zhao L, Yang Z, Zheng M, et al. Recombinant adeno-associated virus 8 vector in gene therapy: Opportunities and challenges. *Genes and Diseases*. 2023;11(1):283-293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.010>
15. Lopez-Gordo E, Chamberlain K, Riyad JM, et al. Natural Adeno-Associated Virus Serotypes and Engineered Adeno-Associated Virus Capsid Variants: Tropism Differences and Mechanistic Insights. *Viruses*. 2024;16(3):442. DOI: <https://doi.org/10.3390/v16030442>
16. Dhungel B, Winburn I, da Fonseca Pereira C, et al. Understanding AAV vector immunogenicity: from particle to patient. *Theranostics*. 2024;14(3):1260-1288. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.89380>
17. Servellita V, Sotomayor Gonzalez A, Lamson DM, et al. Adeno-associated virus type 2 in US children with acute severe hepatitis. *Nature*. 2023;617(7961):574-580. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05949-1>
18. Hayashi H, Kubo Y, Izumida M, et al. Efficient viral delivery of Cas9 into human safe harbor. *Scientific Reports*. 2020;10(1):21474. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78450-8>
19. Ogden PJ, Kelsic ED, Sinai S, et al. Comprehensive AAV capsid fitness landscape reveals a viral gene and enables machine-guided design. *Science*. 2019;366(6469):1139-1143. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaw2900>
20. Akil O. Dual and triple AAV delivery of large therapeutic gene sequences into the inner ear. *Hearing Research*. 2020;394:107912. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2020.107912>

21. Mansouri V. X-Linked Retinitis Pigmentosa Gene Therapy: Preclinical Aspects. *Ophthalmology and Therapy*. 2022;12(1):7-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40123-022-00602-y>
22. Massengill MT, Lewin AS. Gene Therapy for Rhodopsin-associated Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *International Ophthalmology Clinics*. 2021;61(4):79-96. DOI: <https://doi.org/10.1097/IIO.0000000000000383>
23. Li S, Datta S, Brabbit E, et al. Nr2e3 is a genetic modifier that rescues retinal degeneration and promotes homeostasis in multiple models of retinitis pigmentosa. *Gene Therapy*. 2021;28(5):223-241. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-020-0134-z>
24. O'Reilly M, Palfi A, Chadderton N, et al. RNA interference-mediated suppression and replacement of human rhodopsin in vivo. *American Journal of Human Genetics*. 2007;81(1):127-135. DOI: <https://doi.org/10.1086/519025>
25. Meng D, Ragi SD, Tsang SH. Therapy in Rhodopsin-Mediated Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *Molecular Therapy*. 2022;30(7):2633. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.08.012>
26. Sp S, Mitra RN, Zheng M, et al. Gene augmentation for autosomal dominant retinitis pigmentosa using rhodopsin genomic loci nanoparticles in the P23H[±] knock-in murine model. *Gene Therapy*. 2023;30(7-8):628-640. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-023-00394-1>
27. Orlans HO, McClements ME, Barnard AR, et al. Mirtron-mediated RNA knockdown/replacement therapy for the treatment of dominant retinitis pigmentosa. *Nature Communications*. 2021;12(1):4934. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25204-3>
28. Aguilà M, Bellingham J, Athanasiou D, et al. AAV-mediated ERdj5 overexpression protects against P23H rhodopsin toxicity. *Human Molecular Genetics*. 2020;29(8):1310-1318 DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa049>
29. Hoang DA, Liao B, Zheng Z, et al. Mutation-independent gene knock-in therapy targeting 5'UTR for autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8:100. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01308-0>
30. Napoli D, Biagioni M, Billeri F, et al. Retinal Pigment Epithelium Remodeling in Mouse Models of Retinitis Pigmentosa. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(10):5381. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22105381>
31. Beltran WA, Cideciyan AV, Lewin AS, et al. Gene therapy rescues photoreceptor blindness in dogs and paves the way for treating human X-linked retinitis pigmentosa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(6):2132-2137. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1118847109>
32. McClements ME, Butt A, Piottter E, et al. An analysis of the Kozak consensus in retinal genes and its relevance to gene therapy. *Molecular Vision*. 2021;27:233-242.
33. Gumerson JD, Alsufyani A, Yu W, et al. Restoration of RPGR expression in vivo using CRISPR/Cas9 gene editing. *Gene Therapy*. 2022;29(1-2):81-93. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-021-00258-6>
34. De la Camara CMF, Cehajic-Kapetanovic J, MacLaren RE, et al. Emerging gene therapy products for RPGR-associated X-linked retinitis pigmentosa. *Expert Opinion on Emerging Drugs*. 2022;27(4):431-443. DOI: <https://doi.org/10.1080/14728214.2022.2152003>
35. Cehajic-Kapetanovic J, Xue K, Martinez-Fernandez de la Camara C, et al. Retinal gene therapy in X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR: Results at 6 months in a first in human clinical trial. *Nature Medicine*. 2020;26(3):354-359. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0763-1>
36. Song C, Dufour VL, Cideciyan AV, et al. Dose Range Finding Studies with Two RPGR Transgenes in a Canine Model of X-Linked Retinitis Pigmentosa Treated with Subretinal Gene Therapy. *Human Gene Therapy*. 2020;31(13-14):743-755. DOI: <https://doi.org/10.1089/hum.2019.337>
37. Mookherjee S, Hiriyanna S, Kaneshiro K, et al. Long-term rescue of cone photoreceptor degeneration in retinitis pigmentosa 2 (RP2)-knockout mice by gene replacement therapy. *Human Molecular Genetics*. 2015;24(22):6446-6458. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv354>
38. Lane A, Jovanovic K, Shortall C, et al. Modeling and Rescue of RP2 Retinitis Pigmentosa Using iPSC-Derived Retinal Organoids. *Stem Cell Reports*. 2020;15(1):67-79. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.05.007>
39. Schilardi G, Kleinlogel S. Two Functional Classes of Rod Bipolar Cells in the Healthy and Degenerated Optogenetically Treated Murine Retina. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2022;15:809531 DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.809531>
40. Jentsch MC, Tsang SH, Koch SF A New Preclinical Model of Retinitis Pigmentosa Due to Pde6g Deficiency. *Ophthalmology Science*.

- 2023;3(4):100332. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xops.2023.100332>
41. Wang Q, Xu X, Chen S, et al. dCasMINI-mediated therapy rescues photoreceptors degeneration in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Science advances*. 2024;10(51):eadn7540. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.adn7540>
42. Jomary C, Vincent KA, Grist J, et al. Rescue of photoreceptor function by AAV-mediated gene transfer in a mouse model of inherited retinal degeneration. *Gene Therapy*. 1997;4(7):683-690. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3300440>
43. Kuehlewein L, Zobor D, Stingl K, et al. Clinical Phenotype of PDE6B-Associated Retinitis Pigmentosa. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(5):2374. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22052374>
44. Cheng SY, Punzo C. Update on Viral Gene Therapy Clinical Trials for Retinal Diseases. *Human Gene Therapy*. 2022;33(17-18):865-878. DOI: <https://doi.org/10.1089/hum.2022.159>
45. Su J, She K, Song L, et al. In vivo base editing rescues photoreceptors in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Molecular Therapy Nucleic Acids*. 2023;31:596-609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.02.011>
46. Khaparde A, Mathias GP, Poornachandra B, et al. Gene therapy for retinal diseases: From genetics to treatment. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2024;72(8):1091-1101. DOI: https://doi.org/10.4103/IJO.IJO_2902_23
47. Wu Y, Wan X, Zhao D, et al. AAV-mediated base-editing therapy ameliorates the disease phenotypes in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Nature Communications*. 2023;14(1):4923. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40655-6>
48. Han IC, Wiley LA, Ochoa D, et al. Characterization of a novel Pde6b-deficient rat model of retinal degeneration and treatment with adeno-associated virus (AAV) gene therapy. *Gene Therapy*. 2023;30(3-4):362-368. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-022-00365-y>
49. Qiu R, Yang M, Jin X, et al. AAV2-PDE6B restores retinal structure and function in the retinal degeneration 10 mouse model of retinitis pigmentosa by promoting phototransduction and inhibiting apoptosis. *Neural Regeneration Research*. 2025;20(8):2408-2419. DOI: <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-23-01301>
50. Ducloyer JB, Le Meur G, Lebranchu P, et al. 12-Month Safety and Efficacy Evaluation of HORA-PDE6B, a Gene Therapy Targeting Patients with Retinitis Pigmentosa Due to Biallelic PDE6B Gene Mutation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2024;65(7):2134.
51. Bujakowska KM, Comander J. Moving Towards PDE6A Gene Supplementation Therapy. *JAMA Ophthalmology*. 2020;138(12):1251-1252. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2020.4216>
52. Kuehlewein L, Straßer T, Blumenstock G, et al. Central Visual Function and Genotype-Phenotype Correlations in PDE6A-Associated Retinitis Pigmentosa. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2022;63(5):9. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.63.5.9>
53. Liu Z, Chen S, Lo CH, et al. All-in-one AAV-mediated Nrl gene inactivation rescues retinal degeneration in Pde6a mice. *JCI Insight*. 2024;9(24):e178159. DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.178159>
54. Liu Z, Chen S, Davis AE, et al. Efficient Rescue of Retinal Degeneration in Pde6a Mice by Engineered Base Editing and Prime Editing. *Advanced Science*. 2024;11(42):2405628. DOI: <https://doi.org/10.1002/advs.202405628>
55. Lewin AS, Smith WC. Gene Therapy for Rhodopsin Mutations. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2022;12(9):a041283. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041283>
56. Botto C, Rucli M, Tekinsoy MD, et al. Early and late stage gene therapy interventions for inherited retinal degenerations. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2022;86:100975. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2021.100975>
57. He B, de Smet MD, Sodhi M, et al. A review of robotic surgical training: establishing a curriculum and credentialing process in ophthalmology. *Eye*. 2021;35(12):3192-3201. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41433-021-01599-7>
58. Pavlou M, Schön C, Occelli LM, et al. Novel AAV capsids for intravitreal gene therapy of photoreceptor disorders. *EMBO Molecular Medicine*. 2021;13(4):e13392. DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.202013392>
59. Boye SL, Choudhury S, Crosson S, et al. Novel AAV44.9-Based Vectors Display Exceptional Characteristics for Retinal Gene Therapy. *Molecular Therapy*. 2020;28(6):1464-1478. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.04.002>
60. Crane R, Conley SM, Al-Ubaidi MR, et al. Gene Therapy to the Retina and the Cochlea. *Frontiers in Neuroscience*. 2021;15:652215. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.652215>

61. Pupo A, Fernández A, Low SH, et al. AAV vectors: The Rubik's cube of human gene therapy. *Molecular Therapy*. 2022;30(12):3515-3541. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.09.015>

References

1. Heutinck PAT, van den Born LI, Vermeer M, et al. Frequency and Genetic Spectrum of Inherited Retinal Dystrophies in a Large Dutch Pediatric Cohort: The RD5000 Consortium. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2024;65(10):40. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.65.10.40>
2. Hanany M, Shalom S, Ben-Yosef T, et al. Comparison of Worldwide Disease Prevalence and Genetic Prevalence of Inherited Retinal Diseases and Variant Interpretation Considerations. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2024;14(2):a041277. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041277>
3. Xue Y, Wang SK, Rana P, et al. AAV-Txnp prolongs cone survival and vision in mouse models of retinitis pigmentosa. *eLife*. 2021;10:e66240. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.66240>
4. Liu Y, Zong X, Cao W, et al. Gene Therapy for Retinitis Pigmentosa: Current Challenges and New Progress. *Biomolecules*. 2024;14(8):903. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom14080903>
5. Sobh M, Lagali PS, Ghiasi M, et al. Safety and Efficacy of Adeno-Associated Viral Gene Therapy in Patients With Retinal Degeneration: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Translational Vision Science and Technology*. 2023;12(11):24. DOI: <https://doi.org/10.1167/tvst.12.11.24>
6. He X, Fu Y, Ma L, et al. AAV for Gene Therapy in Ocular Diseases. *Research*. 2023;6:0291. DOI: <https://doi.org/10.34133/research.0291>
7. Liu W, Liu S, Li P, et al. Retinitis Pigmentosa: Progress in Molecular Pathology and Biotherapeutic Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(9):4883. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23094883>
8. Ducloyer JB, Le Meur G, Cronin T, et al. Gene therapy for retinitis pigmentosa. *Medicine/Sciences*. 2020;36(6-7):607-615. DOI: <https://doi.org/10.1051/medsci/2020095>
9. Usman NY, Rebrikov DV. Recombinant adeno-associated viruses as a gene delivery tool for molecular medicine. *Bulletin of RSMU*. 2021;5:5-11. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2021.051>
10. Jain R, Daigavane S. Advances and Challenges in Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophies: A Comprehensive Review. *Cureus*. 2024;16(9):e69895. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.69895>
11. Casey GA, Papp KM, MacDonald IM. Ocular Gene Therapy with Adeno-associated Virus Vectors: Current Outlook for Patients and Researchers. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. 2020;15(3):396-399. DOI: <https://doi.org/10.18502/jovr.v15i3.7457>
12. Xia X, Guo X. Adeno-associated virus vectors for retinal gene therapy in basic research and clinical studies. *Frontiers in Medicine*. 2023;10:1310050. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1310050>
13. Alsalloum A, Gornostal E, Mingaleva N, et al. A Comparative Analysis of Models for AAV-Mediated Gene Therapy for Inherited Retinal Diseases. *Cells*. 2024;13(20):1706. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells13201706>
14. Zhao L, Yang Z, Zheng M, et al. Recombinant adeno-associated virus 8 vector in gene therapy: Opportunities and challenges. *Genes and Diseases*. 2023;11(1):283-293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.010>
15. Lopez-Gordo E, Chamberlain K, Riyad JM, et al. Natural Adeno-Associated Virus Serotypes and Engineered Adeno-Associated Virus Capsid Variants: Tropism Differences and Mechanistic Insights. *Viruses*. 2024;16(3):442. DOI: <https://doi.org/10.3390/v16030442>
16. Dhungel B, Winburn I, da Fonseca Pereira C, et al. Understanding AAV vector immunogenicity: from particle to patient. *Theranostics*. 2024;14(3):1260-1288. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.89380>
17. Servellita V, Sotomayor Gonzalez A, Lamson DM, et al. Adeno-associated virus type 2 in US children with acute severe hepatitis. *Nature*. 2023;617(7961):574-580. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05949-1>
18. Hayashi H, Kubo Y, Izumida M, et al. Efficient viral delivery of Cas9 into human safe harbor. *Scientific Reports*. 2020;10(1):21474. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78450-8>
19. Ogden PJ, Kelsic ED, Sinai S, et al. Comprehensive AAV capsid fitness landscape reveals a viral gene and enables machine-guided design. *Science*. 2019;366(6469):1139-1143. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaw2900>

20. Akil O. Dual and triple AAV delivery of large therapeutic gene sequences into the inner ear. *Hearing Research*. 2020;394:107912. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2020.107912>
21. Mansouri V. X-Linked Retinitis Pigmentosa Gene Therapy: Preclinical Aspects. *Ophthalmology and Therapy*. 2022;12(1):7-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40123-022-00602-y>
22. Massengill MT, Lewin AS. Gene Therapy for Rhodopsin-associated Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *International Ophthalmology Clinics*. 2021;61(4):79-96. DOI: <https://doi.org/10.1097/IIO.0000000000000383>
23. Li S, Datta S, Brabbit E, et al. Nr2e3 is a genetic modifier that rescues retinal degeneration and promotes homeostasis in multiple models of retinitis pigmentosa. *Gene Therapy*. 2021;28(5):223-241. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-020-0134-z>
24. O'Reilly M, Palfi A, Chadderton N, et al. RNA interference-mediated suppression and replacement of human rhodopsin in vivo. *American Journal of Human Genetics*. 2007;81(1):127-135. DOI: <https://doi.org/10.1086/519025>
25. Meng D, Ragi SD, Tsang SH. Therapy in Rhodopsin-Mediated Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa. *Molecular Therapy*. 2022;30(7):2633. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.08.012>
26. Sp S, Mitra RN, Zheng M, et al. Gene augmentation for autosomal dominant retinitis pigmentosa using rhodopsin genomic loci nanoparticles in the P23H[±] knock-in murine model. *Gene Therapy*. 2023;30(7-8):628-640. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-023-00394-1>
27. Orlans HO, McClements ME, Barnard AR, et al. Mirtron-mediated RNA knockdown/replacement therapy for the treatment of dominant retinitis pigmentosa. *Nature Communications*. 2021;12(1):4934. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25204-3>
28. Aguilà M, Bellingham J, Athanasiou D, et al. AAV-mediated ERdj5 overexpression protects against P23H rhodopsin toxicity. *Human Molecular Genetics*. 2020;29(8):1310-1318 DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa049>
29. Hoang DA, Liao B, Zheng Z, et al. Mutation-independent gene knock-in therapy targeting 5'UTR for autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8:100. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01308-0>
30. Napoli D, Biagioni M, Billeri F, et al. Retinal Pigment Epithelium Remodeling in Mouse Models of Retinitis Pigmentosa. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(10):5381. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22105381>
31. Beltran WA, Cideciyan AV, Lewin AS, et al. Gene therapy rescues photoreceptor blindness in dogs and paves the way for treating human X-linked retinitis pigmentosa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(6):2132-2137. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1118847109>
32. McClements ME, Butt A, Piottter E, et al. An analysis of the Kozak consensus in retinal genes and its relevance to gene therapy. *Molecular Vision*. 2021;27:233-242.
33. Gumerson JD, Alsufyani A, Yu W, et al. Restoration of RPGR expression in vivo using CRISPR/Cas9 gene editing. *Gene Therapy*. 2022;29(1-2):81-93. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-021-00258-6>
34. De la Camara CMF, Cehajic-Kapetanovic J, MacLaren RE, et al. Emerging gene therapy products for RPGR-associated X-linked retinitis pigmentosa. *Expert Opinion on Emerging Drugs*. 2022;27(4):431-443. DOI: <https://doi.org/10.1080/14728214.2022.2152003>
35. Cehajic-Kapetanovic J, Xue K, Martinez-Fernandez de la Camara C, et al. Retinal gene therapy in X-linked retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR: Results at 6 months in a first in human clinical trial. *Nature Medicine*. 2020;26(3):354-359. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0763-1>
36. Song C, Dufour VL, Cideciyan AV, et al. Dose Range Finding Studies with Two RPGR Transgenes in a Canine Model of X-Linked Retinitis Pigmentosa Treated with Subretinal Gene Therapy. *Human Gene Therapy*. 2020;31(13-14):743-755. DOI: <https://doi.org/10.1089/hum.2019.337>
37. Mookherjee S, Hiriyanna S, Kaneshiro K, et al. Long-term rescue of cone photoreceptor degeneration in retinitis pigmentosa 2 (RP2)-knockout mice by gene replacement therapy. *Human Molecular Genetics*. 2015;24(22):6446-6458. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv354>
38. Lane A, Jovanovic K, Shortall C, et al. Modeling and Rescue of RP2 Retinitis Pigmentosa Using iPSC-Derived Retinal Organoids. *Stem Cell Reports*. 2020;15(1):67-79. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.05.007>
39. Schilardi G, Kleinlogel S. Two Functional Classes of Rod Bipolar Cells in the

- Healthy and Degenerated Optogenetically Treated Murine Retina. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2022;15:809531. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.809531>
40. Jentsch MC, Tsang SH, Koch SF. A New Preclinical Model of Retinitis Pigmentosa Due to Pde6g Deficiency. *Ophthalmology Science*. 2023;3(4):100332. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xops.2023.100332>
41. Wang Q, Xu X, Chen S, et al. dCasMINI-mediated therapy rescues photoreceptors degeneration in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Science advances*. 2024;10(51):eadn7540. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.adn7540>
42. Jomary C, Vincent KA, Grist J, et al. Rescue of photoreceptor function by AAV-mediated gene transfer in a mouse model of inherited retinal degeneration. *Gene Therapy*. 1997;4(7):683-690. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3300440>
43. Kuehlewein L, Zobor D, Stingl K, et al. Clinical Phenotype of PDE6B-Associated Retinitis Pigmentosa. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(5):2374. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22052374>
44. Cheng SY, Punzo C. Update on Viral Gene Therapy Clinical Trials for Retinal Diseases. *Human Gene Therapy*. 2022;33(17-18):865-878. DOI: <https://doi.org/10.1089/hum.2022.159>
45. Su J, She K, Song L, et al. In vivo base editing rescues photoreceptors in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Molecular Therapy Nucleic Acids*. 2023;31:596-609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.02.011>
46. Khaparde A, Mathias GP, Poornachandra B, et al. Gene therapy for retinal diseases: From genetics to treatment. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2024;72(8):1091-1101. DOI: https://doi.org/10.4103/IJO.IJO_2902_23
47. Wu Y, Wan X, Zhao D, et al. AAV-mediated base-editing therapy ameliorates the disease phenotypes in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Nature Communications*. 2023;14(1):4923. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40655-6>
48. Han IC, Wiley LA, Ochoa D, et al. Characterization of a novel Pde6b-deficient rat model of retinal degeneration and treatment with adeno-associated virus (AAV) gene therapy. *Gene Therapy*. 2023;30(3-4):362-368. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41434-022-00365-y>
49. Qiu R, Yang M, Jin X, et al. AAV2-PDE6B restores retinal structure and function in the retinal degeneration 10 mouse model of retinitis pigmentosa by promoting phototransduction and inhibiting apoptosis. *Neural Regeneration Research*. 2025;20(8):2408-2419. DOI: <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-23-01301>
50. Ducloyer JB, Le Meur G, Lebranchu P, et al. 12-Month Safety and Efficacy Evaluation of HORA-PDE6B, a Gene Therapy Targeting Patients with Retinitis Pigmentosa Due to Biallelic PDE6B Gene Mutation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2024;65(7):2134.
51. Bujakowska KM, Comander J. Moving Towards PDE6A Gene Supplementation Therapy. *JAMA Ophthalmology*. 2020;138(12):1251-1252. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2020.4216>
52. Kuehlewein L, Straßer T, Blumenstock G, et al. Central Visual Function and Genotype-Phenotype Correlations in PDE6A-Associated Retinitis Pigmentosa. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2022;63(5):9. DOI: <https://doi.org/10.1167/iovs.63.5.9>
53. Liu Z, Chen S, Lo CH, et al. All-in-one AAV-mediated Nrl gene inactivation rescues retinal degeneration in Pde6a mice. *JCI Insight*. 2024;9(24):e178159. DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.178159>
54. Liu Z, Chen S, Davis AE, et al. Efficient Rescue of Retinal Degeneration in Pde6a Mice by Engineered Base Editing and Prime Editing. *Advanced Science*. 2024;11(42):2405628. DOI: <https://doi.org/10.1002/advs.202405628>
55. Lewin AS, Smith WC. Gene Therapy for Rhodopsin Mutations. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2022;12(9):a041283. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041283>
56. Botto C, Rucli M, Tekinsoy MD, et al. Early and late stage gene therapy interventions for inherited retinal degenerations. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2022;86:100975. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2021.100975>
57. He B, de Smet MD, Sodhi M, et al. A review of robotic surgical training: establishing a curriculum and credentialing process in ophthalmology. *Eye*. 2021;35(12):3192-3201. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41433-021-01599-7>
58. Pavlou M, Schön C, Occelli LM, et al. Novel AAV capsids for intravitreal gene therapy of photoreceptor disorders. *EMBO Molecular Medicine*. 2021;13(4):e13392. DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.202013392>

59. Boye SL, Choudhury S, Crosson S, et al. Novel AAV44.9-Based Vectors Display Exceptional Characteristics for Retinal Gene Therapy. *Molecular Therapy*. 2020;28(6):1464-1478. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.04.002>

60. Crane R, Conley SM, Al-Ubaidi MR, et al. Gene Therapy to the Retina and the Cochlea. *Frontiers in Neuroscience*. 2021;15:652215. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.652215>

61. Pupo A, Fernández A, Low SH, et al. AAV vectors: The Rubik's cube of human gene therapy. *Molecular Therapy*. 2022;30(12):3515-3541. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.09.015>

Статья поступила в редакцию 19 марта 2025 г.
Поступила после доработки 5 мая 2025 г.
Принята к печати 2 июня 2025 г.

Received 19 March 2025
Revised 5 May 2025
Accepted 2 June 2025

Информация об авторах

Альберт Рузилевич Хакимов, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: shershakov2015a@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9667-1516>.

Ляля Ахияровна Мусина, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail:

morphoplant@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0003-1237-9284>.

Анна Ивановна Лебедева, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий научно-исследовательского отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: jeol02@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9170-2600>.

Сафия Рустемовна Хабибуллина, студент ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Российская Федерация, E-mail: habibullinasafia@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8447-5650>.

Information about the authors

Albert R. Khakimov, Junior Researcher at the Department of Morphology Research, Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Ufa, Russia, E-mail: shershakov2015a@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9667-1516>.

Lyalya A. Musina, Doct. Sci. (Biology), Lead Researcher at the Department of Morphology Research, Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Ufa, Russia, E-mail: morphoplant@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1237-9284>.

Anna I. Lebedeva, Doct. Sci. (Biology), Lead Researcher, Head of the Department of Morphology Research, Russian Center for Eye and Plastic Surgery, Ufa, Russia, E-mail: jeol02@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9170-2600>.

Safia R. Khabibullina, Student, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, E-mail: habibullinasafia@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8447-5650>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-2

УДК 575

Investigation of *NFKB1* Gene Expression and rs28362491 Polymorphism in Relation to Diabetic Nephropathy and Glycemic Dysregulation in Iraqi T2DM Patients

Haider A. Alhour^{1,2} , Rafid A. Abdulkareem¹ , Hamzah H.K. Al-Shukri³ 

¹ University of Baghdad,

Al-Jadriya Campus, Baghdad, 10071, Iraq

² Ministry of Agriculture, Veterinary Department in Karbala,
Karbala, 56001, Iraq

³ Al-Qasim Green University,
Babylon, 51013, Iraq

Corresponding author: Hamzah H.K. Al-Shukri (hamza14shukri72@gmail.com)

Abstract

Background: Diabetic nephropathy is a microvascular complication that can occur in people type 2 diabetes nephropathy (T2DN). **The aim of the study:** To investigate the correlation between *NFKB1* gene expression and *NFKB1* (rs28362491) SNP with glycemic profile in Iraqi patients with diabetic nephropathy (T2DN). **Materials and methods:** For this study, 150 volunteers were split into three groups: 50 in the control group, 50 in the T2DM group, and 50 in the T2DN group. According to the kit's instructions, spectrophotometric analysis was used to determine the HbA1c (%) and FBG (mg/dl), blood urea (UR) and creatinine (CR) (mg/dl) parameters. The ELIAS kit was used to determine the fasting insulin ($\mu\text{u/ml}$). RT-qPCR was used for estimation of *NFKB1* gene expression. Using specific primer sequences and the polymerase chain reaction method known as restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), the *NFKB1* (rs28362491) SNP was evaluated. **Results:** When compared to controls, the T2DM and T2DN groups' HbA1c%, FBG (mg/dl), INS ($\mu\text{u/ml}$), and HOMA-IR% indices of glycemic control were significantly higher ($P\text{-value}<0.05$), highest insulin levels, blood urea, and serum creatinine levels ($P\text{-value}<0.05$). For *NFKB1* (rs28362491) SNP, the I/I genotype was present in 11.0% of the Control group, 21.3% of the T2DM group, and 25.8% of the T2DNP group. The p-value for this genotype was <0.001 , indicating significant differences in its distribution across the groups. The results of this study revealed that there is a significant difference ($P<0.001$) in AFC (Average Fold Change) of *NFKB1* gene expression were (1.0197 ± 0.7) , (4.448 ± 1.08) , and (8.704 ± 2.14) in control, T2DM, and T2DN, respectively. **Conclusion:** Differed expression of *NFKB1* between the control group and T2DN patients indicates functional involvement of *NF- κ B* signaling in the development of DN. These results suggest that the regulatory role of *NFKB1* expression and the associated effect on inflammation and renal function of T2DM need to be proven with further studies. Although this gene might serve as a potential biomarker prospect in the future, larger-scale studies are necessary for the verification of predictive susceptibility or guiding therapeutic treatments.

Keywords: *NFKB1*; gene expression; diabetic nephropathy; T2DM; rs28362491 SNP

For citation: Alhour HA, Abdulkareem RA, Al-Shukri HHK. Investigation of NFKB1 Gene Expression and rs28362491 Polymorphism in Relation to Diabetic Nephropathy and Glycemic Dysregulation in Iraqi T2DM Patients. Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):24-36. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-2

Introduction. A common and dangerous side effect of diabetes mellitus is diabetic nephropathy (DN), which is characterized by increasing kidney deterioration that eventually results in end-stage renal disease (ESRD) [1]. Persistent urinary protein (albumin excretion rate (AER) > 300 mg/24 h) in diabetic patients without other renal disease and urinary tract infection is defined as DN [2]. Hyperglycemia is the main cause of kidney damage in the complex pathophysiology of diabetic kidney disease. Therefore, it is still essential to comprehend the underlying biological pathways in order to create effective therapies, especially the impact of inflammation and hereditary variables [3]. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (*NF-κB*) is a transcription factor that plays a pivotal role in regulating the immune response and inflammation. The *NFKB1* gene encodes the p50 subunit of *NF-κB*, which is integral to the formation of the active *NF-κB* heterodimer. In the context of DN, the activation of *NF-κB* leads to the expression of pro-inflammatory cytokines, chemokines, and adhesion molecules, contributing to renal inflammation and fibrosis [4].

In order to identify short-term diabetes complications (diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state), intermediate-term diabetes complications (infections), and immediate complications of glucose-lowering medications (hypoglycemia), glucose control is essential [5]. Insights into unique glucose patterns are also provided by glucose monitoring, enabling customized patient care [6]. Additionally, the kidneys are in charge of insulin metabolism and the excretion of numerous drugs that lower blood sugar. With a tendency for both hyperglycemia from decreased excretion and consumption and fasting hypoglycemia from decreased capacity for gluconeogenesis and extended half-life of glucose-lowering

medications, the overall impact of this interaction between the kidneys, glucose metabolism, and medication clearance can vary greatly amongst individual patients [7, 8].

Recent studies have demonstrated that elevated levels of glucose can activate the *NF-κB* signaling pathway, promoting an inflammatory state within renal tissues. For instance, hyperglycemia-induced oxidative stress has been shown to enhance *NFKB1* expression, further perpetuating inflammatory responses and accelerating nephron damage [9]. Furthermore, polymorphisms in the *NFKB1* gene have been associated with susceptibility to DN, suggesting a genetic predisposition that may exacerbate the renal complications in diabetic patients [10]. Effective glycemic control is critical in mitigating the risk of DN. Studies have shown that maintaining optimal blood glucose levels can significantly reduce the incidence and progression of nephropathy among diabetic patients. A study demonstrated that every 1% reduction in HbA1c levels corresponds to a 37% reduction in the risk of microvascular complications, including nephropathy [11].

Moreover, continuous glucose monitoring and newer therapeutic modalities such as sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors have emerged as promising strategies. SGLT2 inhibitors not only improve glycemic control but also exert direct renal protective effects by reducing hyperfiltration and promoting natriuresis [12]. Recent evidence suggests that these agents may modulate inflammatory pathways, including *NF-κB*, thereby further protecting against DN progression [13]. The understanding of DN has evolved significantly, with ongoing research focusing on molecular targets and novel therapeutic approaches. The development of agents that specifically inhibit *NF-κB* signaling could potentially provide a dual benefit: controlling inflammation and protecting renal function.

Additionally, therapies aimed at enhancing the gut microbiomes and modulating systemic inflammation are being explored as adjunctive treatments for diabetic patients at risk of nephropathy [14].

Furthermore, gene therapy approaches targeting *NFKB1* expression are being investigated, which may offer a future avenue for personalized medicine in DN management. Given the strong association between genetic predisposition, inflammation, and glycemic control, a multidimensional approach that encompasses pharmacological, lifestyle, and genetic factors will likely yield the most effective outcomes in combating diabetic nephropathy [15]. The *NFKB1* gene plays a crucial role in mediating renal inflammation, while glycemic management remains the cornerstone of DN prevention and treatment [16].

The aim of the study. The aim of this research to investigation of the correlation between *NFKB1* gene expression and glycemic profile in Iraqi patients with diabetic nephropathy (T2DN).

Materials and methods

Study design

One hundred and fifty participants were divided up into three groups for this study, Control group (N=50), T2DM group (N=50), and T2DN group (N=50). All subjects had blood drawn for molecular and biochemical examinations. With mean ages of 50.56 ± 8.14 years for the Control group, 54.8 ± 10.63 years for the T2DM group, and 52.86 ± 11.07 years for the T2DNP group, the participants' ages ranged from 25 to 70 years. 50 patients with type 2 diabetes (T2DM), 50 patients with diabetic nephropathy (T2DN), and 50 participants in good health were included in this cross-sectional investigation.

The rs28362491 polymorphism in the *NFKB1* gene was selected for its known functional significance and its association with inflammatory and immune-related diseases. This promoter polymorphism, which is a 4 bp ATTG indel, has been demonstrated to affect

NFKB1 gene transcriptional activity leading to an impact on the NF- κ B signaling pathway as a major pathway in inflammation, immunity, and cellular stress responses [17]. The associations of rs28362491 with over a dozen types of diseases, such as cancer, cardiovascular diseases, and autoimmune diseases, have been reported in studies [18, 19]. Given the functional potential of this variant and the multitude of associated diseases, this SNP was chosen to be a potentially representative and biologically relevant genetic marker for an investigation of contribution to susceptibility in the phenotyped population.

Assessment of glycemic profile

HbA1c (%) and FBG (mg/dl) parameters were assessed depending on kits instructions by spectrophotometric analysis. Fasting insulin (μ U/ml) was assessed depending on ELIAS kit depending on kit protocol.

HOMA-IR was calculated depending on the formula includes fasting insulin (mU/L) multiplied by fasting glucose (mg/dl) then divided by 405.

Assessment of kidney markers

Blood Urea (UR) and Creatinine (CR) (mg/dl) parameters were assessed depending on kits instructions by spectrophotometric analysis.

Assessment of *NFKB1* gene expression

The GoTaq 1-Step RT-qPCR System, which combines GoScrip Reverse Transcriptase and GoTaq qPCR Master Mix in a single-step real-time amplification reaction, is optimized for RT-qPCR and includes a proprietary fluorescent DNA binding dye called Sybr Green Dye. According to the GoTaq® 1-Step RT-qPCR component, total RNA, primers, and Nuclease-free water were all thawed on ice and each solution was thoroughly mixed. The RT-qPCR reactions were carried out using the cycling program displayed in Table 1 [20, 21].

The *NFKB1* gene primers were used in this study were provided by (Macrogen Company, Korea) as shown in Table 2.

Table 1

One-step RT-qPCR program

Steps	Temp. (C°)	Duration	Cycles
Reverse transcription	37	15 min	1
RTinactivation/Hot-start Activation	95	10 min	1
Denaturation	95	10 sec	45
Annealing	58	30 sec	
Extension	72	30 sec	
Melting curve	60-95	3min	1

Table 2

The PCR Primers with their Sequence

Genes	Primers Sequence
<i>NFKBI</i>	F: 5'- TACCGACAGACAACCTCACC -3'
	R: 5'- CAGCTTGTCTCGGGTTTCTG-3'
<i>GAPDH</i>	F: 5'-GATCATCAGCAATGCCTCCT-3'
	R: 3'-GACTGTGGTCATGAGTCCTTC-5'

Absolute and relative quantification are the two methods used to analyze qPCR results. The input gene amount is determined by absolute quantification using a standard curve developed by Livak and Schmittgen [22]. The relative quantification, on the other hand, assesses variations in gene expression in comparison to a reference gene sample. It is also possible to prevent standard curve creation errors brought on by standard dilutions. Furthermore, precise DNA/RNA molecular counts are not always as interesting as the relative gene abundance between two

$$\Delta CT = CT (\text{gene of interest}) - CT (\text{reference gene})$$

The difference between the CT values of the reference gene and the gene of interest for a particular sample is known as ΔCT .

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT (\text{treated sample}) - \Delta CT (\text{untreated sample (control)})$$

After calculating $\Delta\Delta CT$ for all samples, the final equation is taken to calculate the gene expression (fold change) as follows:

$$\text{Fold gene expression RQ} = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

***NFKBI* (rs28362491) SNP analysis**

treatment groups. As a result, relative quantification is frequently used. The Pfaffl equation was used to determine gene expression, gene fold, or RQ (Relative Quantification) value:

$$RQ = 2^{-(\Delta\Delta CT)}$$

For each triplicated sample, the gene fold was first determined by obtaining the average CT (CT-cycle threshold) value using a real-time PC device. Next, the ΔCT value was computed for each sample in the manner described below.:

Normalizing the gene of interest to a gene that is unaffected by the experiment is crucial.

The following is the result of calculating the $\Delta\Delta CT$ value:

The *NFKBI* (rs28362491) SNP was assessed by using the polymerase chain reaction technique known as restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) with specified primer sequences, as indicated in Table 3.

Table 3

The primers sequence for PCR-RFLP of *NFKBI* (rs28362491) SNP

<i>NFKBI</i> SNP	Primer 5'→3'	length	Tm	GC%
(rs28362491)	F: TGGGCACAAGTCGTTTATGA	20	59.1	45
	R: TGGAGCCGGTAGGGAAG	17	63.2	64

The PCR product was digested using one unit of the restriction enzyme *PfIMI* (10 U/μL) in order to identify two distinct alleles: the 45

bp and 240 (I allele) and the 285 bp (D allele). The PCR product-enzyme mixture was incubated for the entire night at 37 °C before

being electrophoresed for 45 minutes at 90 V in a 2% agarose gel. Different lengths of heterozygous DI (3 bands: 285 & 240 & 45 bp), homozygous II (2 bands: 45 & 240 bp), and homozygous DD (1 band: 285 bp) were used to represent the three DNA fragments.

***NFKB1* gene expression analysis**

By using quantitative RT-PCR analysis and estimating the average fold change

expression (AFC) of this gene's expression across all research groups, the current study examined the expression of *NFKB1* mRNA. The results of the molecular analysis showed that the amplification plot values of the target gene, *NFKB1* mRNA, and the house-keeping gene, *GAPDH*, varied significantly, as shown in Fig. 1.

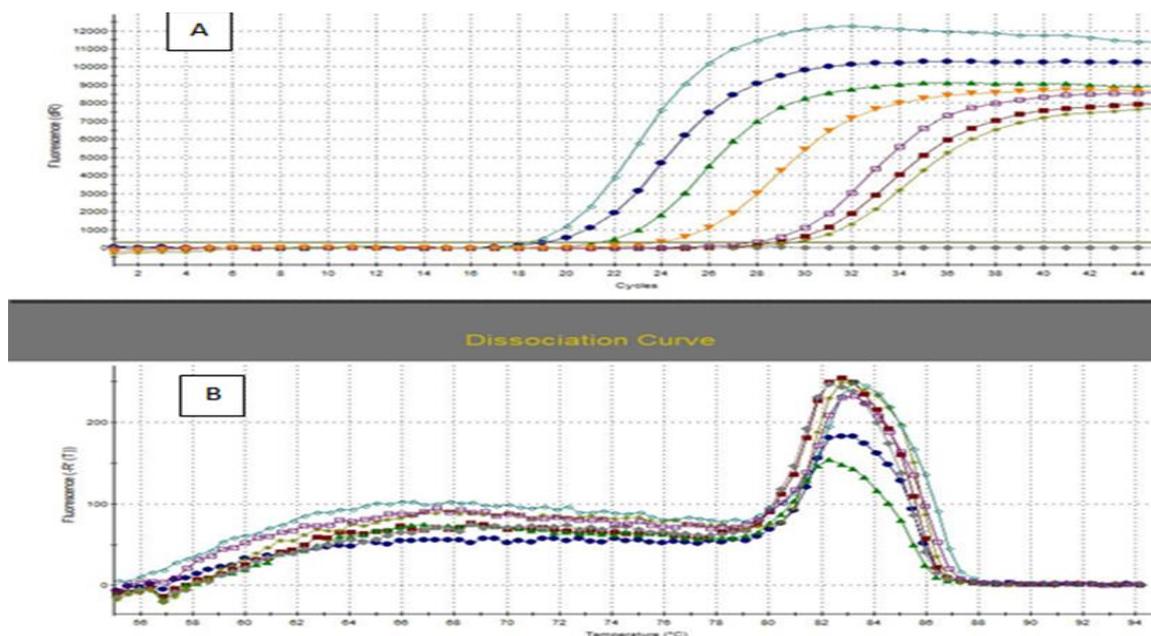


Fig. 1. *NFKB1* mRNA and *GAPDH* gene amplification plots (A) and melting curves (B) produced by the Mx3005P Stratagene system

Statistical Analysis

Statistical analysis will be conducted utilizing the Graphpad Prism for Windows statistical software, version 6.0. Data will be presented as means \pm S.D. The impact of treatments will be statistically assessed using the one-way analysis of variance (one-way ANOVA) followed by Turkey's post-hoc test to adjust for multiple comparison treatments. Statistical significance will be established at the $p < 0.05$ level.

Results

Biochemical analysis

The HbA1c%, FBG (mg/dl), INS (μ u/ml), and HOMA-IR% indices of glyemic control were significantly higher both in the T2DM and T2DN groups compared with controls, indicating poor glyemic control and insulin resistance in diabetes individuals, especially in the T2DN group with the highest levels of insulin as shown in Table 4.

Table 4

Glycemic markers in studied groups

Parameter	Control (n=50)	T2DM (n=50)	T2DN (n=50)	p-value (Control vs T2DM)	p-value (Control vs T2DN)
HbA1c (%)	5.13 \pm 0.58	8.38 \pm 1.4	7.95 \pm 1.38	0.002*	0.003*
FBG (mg/dl)	97.4 \pm 7.72	226.91 \pm 41.45	221.82 \pm 31.09	0.001*	0.001*
INS (μ u/ml)	6 \pm 2.78	27.53 \pm 4.94	29.28 \pm 6.7	0.001*	0.001*
HOMA-IR (%)	1.05 \pm 0.12	16.07 \pm 4.02	19.96 \pm 4.14	0.001*	0.001*

Note: * $p < 0.05$ indicates statistical significance.

The results of present study shown no significant differences in blood urea and serum creatinine when T2DM patients with nephropathy were compared with the T2DM subjects without nephropathy (Table 5) compares to the control group. The Control group had UR levels of 26.16 ± 0.73 mg/dl, while the T2DM group had 32.53 ± 4.71 mg/dl and the T2DN group had 120.57 ± 9.67 mg/dl.

For CR, the Control group showed 0.64 ± 0.04 mg/dl, the T2DM group had 1 ± 0.28 mg/dl, and the T2DN group had 5.37 ± 0.86 mg/dl. Both UR and CR levels were significantly higher in the T2DM and T2DN groups compared to the Control group ($p < 0.001$). The T2DN group exhibited the highest levels of UR and CR, indicating more pronounced renal impairment in this group compared to the T2DM group.

Table 5

Kidney test markers in studied groups

Parameter	Control (n=50)	T2DM (n=50)	T2DN (n=50)	p-value (Control vs T2DM)	p-value (Control vs T2DN)
UR (mg/dl)	26.16 ± 0.73	32.53 ± 4.71	120.57 ± 9.67	0.001*	0.001*
CR (mg/dl)	0.64 ± 0.04	1 ± 0.28	5.37 ± 0.86	0.001*	0.001*

Note: * $p < 0.05$ indicates statistical significance.

NFKB1 (rs28362491) SNP analysis

Figure 2 and Table 6 presents the genotype frequencies of the *NFKB1* (rs28362491) gene polymorphism across the

three groups: Control (N=50), (T2DM, N=50), and (T2DN, N=50). The analysis reveals significant differences in the distribution of genotypes and alleles among the groups.

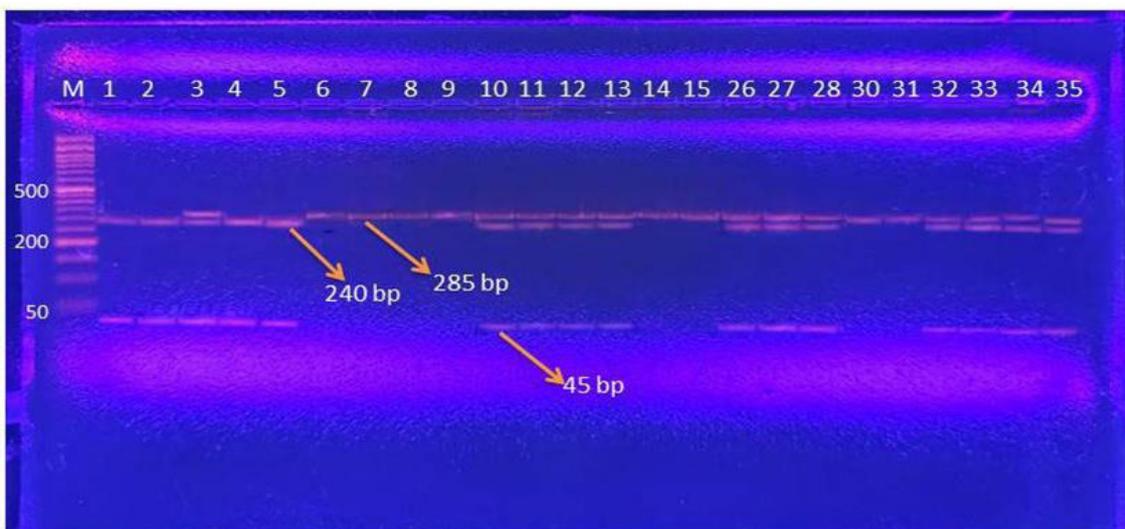


Fig. 2. Gel electrophoresis of amplified *NFKB1* (rs28362491) SNP

Table 6

Genotype Frequencies of *NFKB1* (rs28362491) SNP in the Studied Groups

Genotype	Control (n=50)	T2DM (n=50)	T2DN (n=50)	p-value (Control vs T2DM)	p-value (Control vs T2DN)
I/I	8 (11.0%)	19 (21.3%)	24 (25.8%)	0.001*	<0.001*
I/D	15 (20.5%)	20 (22.5%)	19 (20.4%)	ns	ns
D/D	27 (37.0%)	11 (12.4%)	7 (7.5%)	<0.001*	<0.001*
I allele (%)	31 (31.0%)	58 (72.5%)	67 (60.9%)	<0.001*	<0.001*
D allele (%)	69 (69.0%)	22 (27.5%)	43 (39.1%)	Ref.	Ref.

Note: * $p < 0.05$ indicates statistical significance; ns – not significant; Ref. – reference allele or genotype.

The I/I genotype was present in 11.0% of the Control group, 21.3% of the T2DM group, and 25.8% of the T2DNP group. The p-value for this genotype was <0.001, indicating significant differences in its distribution across the groups. This suggests that the I/I genotype is more prevalent in individuals with T2DM and T2DN compared to the control group. In contrast, the I/D genotype was found in 20.5% of the control group, 22.5% of the T2DM group, and 20.4% of the T2DN group. The p-value for this genotype did not indicate significant differences, suggesting that the I/D genotype is similarly distributed across all three groups. The D/D genotype was present in 37.0% of the control group, 12.4% of the T2DM group, and 7.5% of the T2DNP group.

The p-value for this genotype was <0.001, showing significant differences. This indicates that the D/D genotype is more common in the control group compared to the T2DM and T2DN groups.

In terms of allele frequencies, the I allele was significantly more frequent in the T2DM group compared to the control group, with an OR of 5.868 (95% CI: 3.068-11.223) and a p-value of <0.001 (Table 7). Similarly, the I allele was significantly more frequent in the T2DN group compared to the control group, with an OR of 3.468 (95% CI: 1.959-6.140) and a p-value of <0.001. However, there was no significant difference in the frequency of the I allele between the T2DN and T2DM groups, with a p-value of 0.098.

Table 7

Multinomial Regression Analysis of NFKB1 Gene Polymorphism Association with T2DM and T2DN (Control as Reference)

Groups	NFKB1/Genotype	p-value	OR	95% CI	
T2DM/ Cont. ^a	I/I	0.001	5.83	1.973	17.225
	I/D	0.017	3.28	1.241	8.628
	I/I+I/D: D/D	0.001	4.12	1.744	9.935
	DD	Ref.	1		
T2DN/ Cont. ^a	I/I	<0.001	11.56	3.650	36.685
	I/D	0.004	4.89	1.672	14.273
	I/I+I/D: D/D	<0.001	7.21	2.724	19.087
	DD	Ref.	1		
T2DN/T2DM ^b	I/I	0.231	1.99	0.646	6.100
	I/D	0.490	1.49	0.479	4.653
	I/I+I/D/ D/D	0.301	1.73	0.611	4.912
	DD	Ref.	1		
Alleles Frequencies					
T2DM/Cont.	I	<0.001	5.87	3.068	11.223
	D		1		
T2DN/ Cont. ^a	I	<0.001	3.47	1.959	6.140
	D	Ref.	1		
T2DN/T2DM ^b	I	0.098	0.59	0.317	1.101
	D	Ref.	1		

Note: The reference category is a: Control, b: T2DM. CI: 95% Confidence Interval. * p<0.05 indicates statistical significance; ns – not significant; Ref. – reference allele or genotype.

Chi-square test for I/I, I/D, D/D comparison used 2 degrees of freedom.

Grouped genotype comparisons (I/I + I/D vs. D/D) used 1 degree of freedom (Fig. 3).

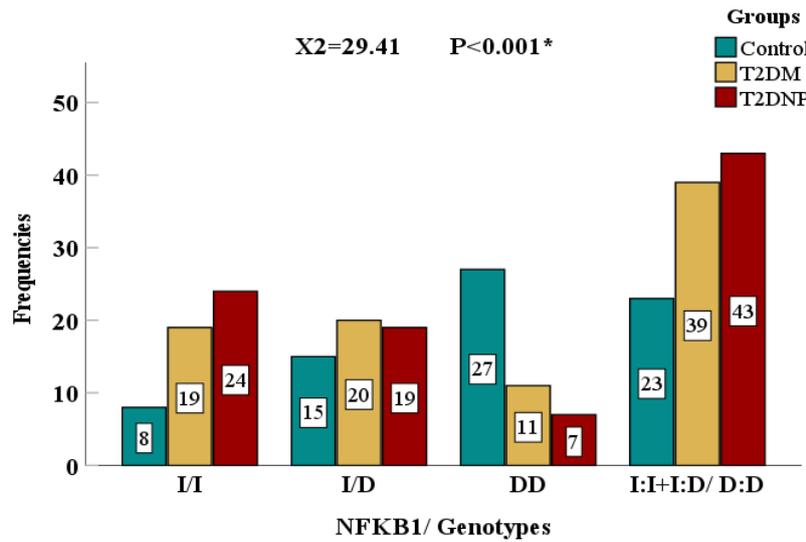


Fig. 3. Frequencies of NFKB1 genotypes in the studied groups (expressed as percentages)

NFKB1 gene expression analysis

The results of the current study suggested that there is a significant difference ($P<0.001$) in Average Fold Change (AFC)

between (*NFKB1*/CONT) group (1.0197 ± 0.7) (*NFKB1*,T2DM)(4.448 ± 1.08 , and (*NFKB1*,T2DDN)(8.704 ± 2.14), respectively, as shown in Figure 4.

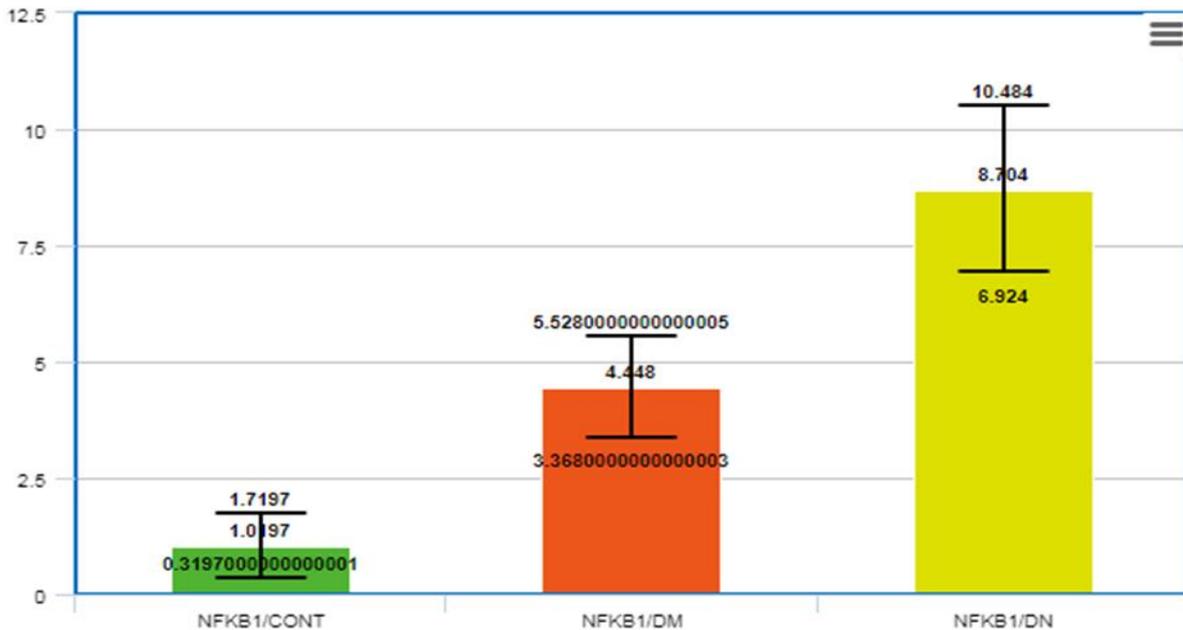


Fig. 4. AFC in study groups at the end of experiment (indicated highly significant differences at $p<0.001$)

The results shown the effects of *NFKB1* rs28362491 genotypes (I/I, I/D, D/D) on *NFKB1* gene expression in T2DN group. This study shown significant statistical differences ($p\text{-value}<0.05$) between I/I and I/D genotypes

and between D/D compare to I/D genotypes, and this indicate that patients with I/I *NFKB1* rs28362491 genotypes has more risk factor for increase of the AFC of *NFKB1* gene expression, as shown in Figure 5.

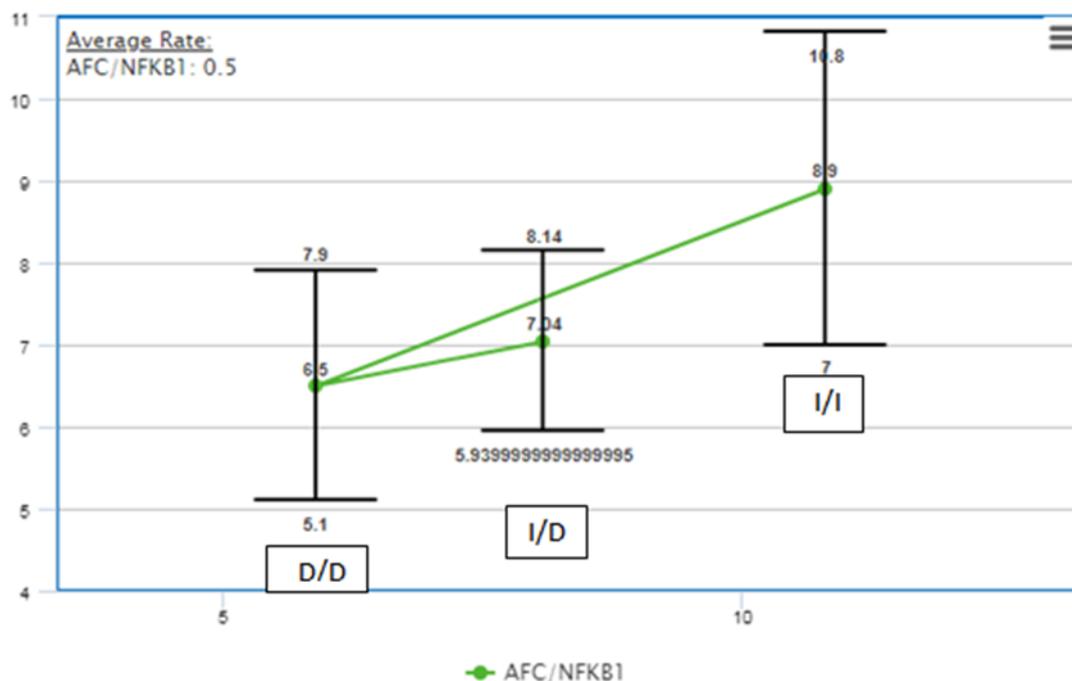


Fig. 5. Effects of *NFKB1* rs28362491 genotypes (I/I, I/D, D/D) on the *NFKB1* gene expression in T2DN group

Discussion. This study indicates the potential mechanistic link between *NFKB1* gene expression and dysregulated glycemic control, indicating that chronic hyperglycaemia may be an upstream inducer of *NF-κB* signalling. The *NFKB1* increase in T2DN patients is very high which corroborates the idea that the hyperglycemia-induced oxidative stress and inflammation worsen renal injury via transcriptional *NFKB1* upregulation. These results are in line with previous data related to increased renal *NF-κB* activity in the diabetic situation, where it leads to nephron inflammation and fibrosis. The rs28362491 polymorphism in the promoter region of *NFKB1* is particularly intriguing, as it appears to modulate gene transcription. While this investigation demonstrates a strong correlation between the I/I genotype and increased *NFKB1* expression in T2DN cases, there is a notable lack of power to generalize the utility of interpopulation genotype comparisons. However, based on the high expression profile in subjects with the I/I genotype, a biological effect of this polymorphism is indicated that may increase promoter activity, resulting in an increase in inflammatory responses.

One of the main causes of morbidity and death among diabetic patients, diabetic nephropathy (T2DN), has a significant negative impact on both health and the economy [23]. The prevalence of diabetic nephropathy in DM patients has not been thoroughly studied, despite the fact that the number of people with DM in Iraq is rising [24]. Thus, the purpose of this study was to determine the prevalence and determinants of DN in T2DM patients from Iraq. The study investigates the metabolic profiles of individuals with T2DM and T2DN compared to a healthy control group, focusing on key parameters such as glycemic profile including the fasting insulin, fasting blood glucose levels and HOMA-IR. From a researcher's perspective, these findings point out insulin resistance as the fulcrum upon which the development of diabetes mellitus and its complications revolves. The higher HOMA-IR% in the T2DN group probably points to insulin resistance being causative of nephropathy, hence justifies further research in specific therapies that will enhance insulin sensitivity [25].

In one such study designed to explore the association of *NFKB1* expression and

polymorphism and IL-17A polymorphism in diabetic mellitus with or without renal disease, the levels of HbA1c%, FBG, INS, and HOMA-IR% were found to be significantly higher in both T2DM and T2DNP groups than that in the control group. Among diabetic patients, those with nephropathy presented higher inflammatory markers (e.g., IL-7, *NF-κB*), which play an important role in the pathogenesis of diabetic nephropathy [26]. The results underline the interaction between genetic predisposition, inflammation, and metabolic parameters that occurs in the development of diabetes and its complications [27].

Growth factors and cytokines are among the numerous genes whose expression is regulated by the transcription factor nuclear factor kappa B (*NF-κB*). Consequently, *NF-κB* is essential for many biological functions, and pathogenic processes would result from its dysregulation [28]. Because they regulate the expression of several pro-inflammatory genes, *NF-κB* and its inhibitors may play a major role in the pathophysiology of type 2 diabetes, diabetic nephropathy, diabetic retinopathy, and diabetic cardiomyopathy [29]. According to Ziyadh et al., this study is valid with a p-value of less than 0.05. The groups with diabetes mellitus and diabetic nephropathy had significantly greater FBG, PPBG, and HBA1C than the control group. lipid profile for each of the three groups [30].

The frequencies of *NFKB1* gene polymorphisms are displayed in Table 6. In the control, T2DM, and diabetic nephropathy groups, the insertion/insertion polymorphism rates are 11%, 12.4%, and 25.8%, respectively. In the control, T2DM, and T2DN groups, the deletion/deletion polymorphisms are 37%, 12.4%, and 7.5%, respectively. In the control, type 2 DM, and diabetic nephropathy groups, the insertion/deletion polymorphisms are 2.5%, 22.5%, and 20.4%, respectively. The relationship between oxidative stress and inflammation biomarkers and the risk of chronic kidney disease in people with Type 2 diabetes mellitus in the North Indian population was investigated by Gautam, A. et al. [31]. Using the PCR-RFLP technique,

Senol Tuncay et al. (2012) investigated the detection of *NFκappaB1* and *NF-kappaBI* Alpha polymorphisms in a Turkish population [32]. However, in genotype and allele frequencies, no significant differences between T2DNP and T2DM were detected; thus, the *NFKB1* polymorphism cannot differentiate both diabetic conditions. Therefore, it is speculated that, although the *NFKB1* polymorphisms increase the risk of developing diabetes with its complications, they are not specifically responsible for the transition from T2DM to T2DN. This might indicate to researchers that other genetic, environmental, or metabolic factors could play a more critical role in progression to nephropathy and hence, are worth further investigation.

Several studies have established clear correlations between *NFKB1* gene expression and glycemic parameters in diabetic conditions. Darwish et al. found a marked positive correlation between *NFKB1* gene expression and both fasting blood glucose (FBG) and glycated hemoglobin (HbA1c) in type 2 diabetes (T2D) patients without nephropathy. Additionally, in patients with diabetic nephropathy (DN), HbA1c showed positive correlations with all profibrotic genes, including *NFKB1* [33]. These findings suggest that chronic hyperglycemia, as reflected by HbA1c levels, may drive *NFKB1* upregulation, particularly in patients with nephropathy.

Accompanied by current results, Mohamed et al. (2023) have reported that *NF-κB1* D/D genotyping frequency was higher in the control group than T2DM without nephropathy and T2DM with nephropathy, accounting for 76% > 38% > 27%, respectively, while for *NFκβ1* I/I genotyping, it was higher among T2DM with nephropathy than T2DM without nephropathy than the control group, accounting for 70% and 49% > 24%, respectively [34]. They also stated that regarding *NF-κB1* alleles, the frequency of the (Deletion) allele was higher in the control group compared to T2DM without nephropathy and T2DM with nephropathy, while the (Insertion) allele took the opposite pattern among the studied groups. This is also

agreed with Behera et al. (2020) in the East Indian population. Our study agreed with some findings and disagreed in others with the research of Gautam et al. (2017), who found in control and T2DM people without nephropathy, that the frequency distribution of I/D was the highest followed by I/I, with the least frequency distribution of D/D in the same subjects. The results listed in Table 7, the individuals with diabetes who have the ins/ins *NFKB1* gene polymorphism are 3.4 times more likely to develop diabetic nephropathy. According to Gautam et al. (2017) individuals with diabetes mellitus who have the ins/del polymorphism have a 1.90 fold increased chance of developing nephropathy, and patients with type 2 diabetes who have the ins/ins genotype similarly have a higher risk [35]. Patients with diabetes who have a deletion/deletion *NFKB1* gene polymorphism are 1.03 times more likely to develop diabetic nephropathy. Beyond direct glucose parameters, *NFKB1* expression has been linked with inflammatory markers in diabetes. Increased expressions of interleukin (IL)-1 β and *NFKB1*, along with enhanced macrophage infiltration, have been observed in pancreatic islets of T2DM patients. Patients with diabetes who have an insertion/deletion polymorphism in the *NFKB1* gene are 0.6 times more likely to develop diabetic nephropathy. The favorable link between I/D *NFKB1* (rs28362491) SNP and other glycemic markers, along with the higher levels of *NFKB1* gene expression fold, suggest that these markers may be crucial for the early diagnosis of T2DN. These results also demonstrate that these indications are more diagnostically valuable than microalbuminuria in the early detection of T2DN [36, 37, 38].

Conclusion. According to the current study's findings, patients with diabetes who have the *NFKB1* I/D SNP are more likely to develop nephropathy (T2DN). This SNP can be regarded as a genetic marker for T2DM patients' propensity to develop nephropathy. Consequently, more analysis with a large sample size is required to search for the potential of these polymorphisms as genetic markers in the near future. This would make it

easier to find type 2 diabetic patients who could be more susceptible to nephropathy.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Mora-Fernández C, Domínguez-Pimentel V, de Fuentes MM, et al. Diabetic kidney disease: From physiology to therapeutics. *Journal of Physiology*. 2014;592(18):3997-4012. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.272328>
2. Wu T, Ding L, Andoh V, et al. The mechanism of hyperglycemia-induced renal cell injury in diabetic nephropathy disease: An update. *Life*. 2023;13(2):539. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13020539>
3. Kumar M, Dev S, Khalid MU, et al. The bidirectional link between diabetes and kidney disease: Mechanisms and management. *Cureus*. 2023;15(9):e45615. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.45615>
4. Wang Z, Chen Z, Wang X, et al. Sappanone a prevents diabetic kidney disease by inhibiting kidney inflammation and fibrosis via the NF-KB Signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:953004. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.953004>
5. American Diabetes Association. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes Care*. 2021;44(Suppl 1):S73-S84. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc21-S006>
6. Harding JL, Pavkov ME, Magliano DJ, et al. Global trends in diabetes complications: A review of current evidence. *Diabetologia*. 2018;62(1):3-16. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4711-2>
7. Mather A, Pollock C. Glucose handling by the kidney. *Kidney International*. 2011;120:S1-6. DOI: <https://doi.org/10.1038/ki.2010.509>
8. Gerich JE. Role of the kidney in normal glucose homeostasis and in the hyperglycaemia of diabetes mellitus: Therapeutic implications. *Diabetic Medicine*. 2010;27(2):136-142. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2009.02894.x>
9. Guijarro C, Egido J. Transcription factor-KB (NF-KB) and renal disease. *Kidney*

- International. 2001;59(2):415-424. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.059002415.x>
10. Karin M, Greten FR. NF- κ B: Linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature Reviews Immunology*. 2005;5(10):749-759. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri1703>
11. Liu P, Zhang Z, Li Y. Relevance of the pyroptosis-related inflammasome pathway in the pathogenesis of diabetic kidney disease. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:603416. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.603416>
12. Stepanova N. SGLT2 inhibitors in peritoneal dialysis: A promising frontier toward improved patient outcomes. *Renal Replacement Therapy*. 2024;10(1):5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41100-024-00523-5>
13. Lu Y, Liu D, Feng Q, et al. Diabetic nephropathy: Perspective on extracellular vesicles. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:943. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00943>
14. Navarro-González JF, Mora-Fernández C, de Fuentes MM, et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nature Reviews Nephrology*. 2011;7(6):327-340. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneph.2011.51>
15. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2008;19(3):433-442. DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2007091048>
16. Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Ramos AM, et al. NF- κ B in renal inflammation. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010;21(8):1254-1262. DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2010020218>
17. Karban AS, Okazaki T, Panhuysen CIM, et al. Functional annotation of a novel NFKB1 promoter polymorphism that increases risk for ulcerative colitis. *Human Molecular Genetics*. 2004;13(1):35-45. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh008>
18. Nowak H, Vornweg S, Rump K, et al. The NFKB1 promoter polymorphism (-94ins/delATTG) is associated with susceptibility to cytomegalovirus infection after kidney transplantation and should have implications on CMV prophylaxis regimens. *Cells*. 2021;10(2):380. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10020380>
19. Wang D, Xie T, Xu J, et al. Genetic association between NFKB1-94 ins/del ATTG Promoter Polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 42 case-control studies. *Scientific Reports*. 2016;6(1):30220. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep30220>
20. Al-Gazally ME, Al-Awad AS, Kzar HH. Evaluating the superoxide dismutase-1 status in wild type and mutant at codons 12 and 13 of KRAS gene spectrum for the patients with sporadic colorectal cancer. *International Journal of PharmTech Research*. 2016;9(3):272-279.
21. Al-Gazally ME, Al-Awad AS, Kzar HH. Assessment of antioxidant status in different genotypes/phenotypes at codon 72 of TP53 gene for patients with sporadic colorectal cancer in Babylon province. *International Journal of PharmTech Research*. 2016;9(3):280-286.
22. Dalman MR, Deeter A, Nimishakavi G, et al. Fold change and p-value cutoffs significantly alter microarray interpretations. *BMC Bioinformatics*. 2012;13(S2):S11. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-S2-S11>
23. Natesan V, Kim SJ. Diabetic nephropathy - a review of risk factors, progression, mechanism, and dietary management. *Biomolecules and Therapeutics*. 2021;29(4):365-372. DOI: <https://doi.org/10.4062/biomolther.2020.204>
24. Abusaib M, Ahmed M, Nwayyir HA, et al. Iraqi Experts Consensus on the Management of Type 2 Diabetes/Prediabetes in Adults. *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*. 2020;13:1179551420942232. DOI: <https://doi.org/10.1177/1179551420942232>
25. Lee J, Kim MH, Jang JY, et al. Assessment HOMA as a predictor for new onset diabetes mellitus and diabetic complications in non-diabetic adults: a KoGES prospective cohort study. *Clinical Diabetes and Endocrinology*. 2023;9(1):7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40842-023-00156-3>
26. Mohamed SH, Kamel AA, Allam HM, et al. Association of NF- κ B1 Gene Polymorphism with Diabetic Kidney Disease Risk in Type 2 Diabetics. *Zagazig University Medical Journal*. 2023;29(5):1251-1259. DOI: <https://doi.org/10.21608/zumj.2022.159087.2632>
27. Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nature Reviews Nephrology*. 2020;16(7):377-390. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5>
28. Coto E, Díaz-Corte C, Tranche S, et al. Gene variants in the NF- κ B pathway (NFKB1, NFKBIA, NFKBIZ) and their association with type 2 diabetes and impaired renal function. *Human Immunology*. 2018;79(6):494-498. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.03.008>

29. Behera S, Lamare AA, Rattan R, et al. Association of NFKB1 gene polymorphism with inflammatory markers in patients of type 2 diabetes mellitus with or without renal involvement in eastern India. *Journal of Diabetes Mellitus*. 2020;10:169-181. DOI: <https://doi.org/10.4236/jdm.2020.103014>

30. Palazhy S, Viswanathan V. Lipid abnormalities in type 2 diabetes mellitus patients with overt nephropathy. *Diabetes and Metabolism Journal*. 2017;41:128-134. DOI: <https://doi.org/10.4093/dmj.2017.41.2.128>

31. Gupta S, Gambhir JK, Kalra O, et al. Association of biomarkers of inflammation and oxidative stress with the risk of chronic kidney disease in type 2 diabetes mellitus in north Indian population. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2013;27(6):548-552. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2013.07.005>

32. Darwish NM, Elnahas YM, AlQahtany FS. Diabetes induced renal complications by leukocyte activation of nuclear factor κ -B and its regulated genes expression. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021;28(1):541-549. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.039>

33. Senol Tuncay S, Okyay P, Bardakci F. Identification of NF-KB1 and NF-kb1 α polymorphisms using PCR-RFLP assay in a Turkish population. *Biochemical Genetics*. 2009;48(1-2):104-112. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-009-9302-y>

34. Raza W, Guo J, Qadir MI, et al. QPCR analysis reveals association of Differential Expression of SRR, NFKB1, and PDE4B genes with type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;12:774696. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.774696>

35. Gautam A, Gupta S, Mehndiratta M, et al. Association of NFKB1 gene polymorphism (rs28362491) with levels of inflammatory biomarkers and susceptibility to diabetic nephropathy in Asian Indians. *World Journal of Diabetes*. 2017;8(2):66-73. DOI: <https://doi.org/10.4239/wjd.v8.i2.66>

36. Younus AH, Al-Faisal AHM. Correlation between TCF7L2 gene expression and certain biochemical parameters in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 2024;19(3):575-584. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2024.04.005>

37. Farhan RR, Mohammed BJ. Effect of Blood sugar level on TNF α gene expression and its serum level relation with liver disorders in sample of Iraqi diabetic patients. *Acta Biomedica*. 2023;94(2):e2023125. DOI: <https://doi.org/10.23750/abm.v94i2.15534>

38. Mustafa S, Younus D. Association of TCF7L2 rs7903146 Polymorphism with the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Among Kurdish Population in Erbil Province, Iraq. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2020;36(3):312-318. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12291-020-00904-7>

Received 25 March 2025

Revised 6 May 2025

Accepted 4 July 2025

Information about the authors

Haider A. Alhour, PhD Student, Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, University of Baghdad, Baghdad; Researcher, Ministry of Agriculture, Veterinary Department in Karbala, Karbala, Iraq, E-mail: haiderabd-alhour1977@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5139-5813>.

Rafid A. Abdulkareem, PhD, Professor at the Department of Genetic Engineering, Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, University of Baghdad, Baghdad, Iraq, E-mail: rafid.ige@uobaghdad.edu.iq, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5105-7865>.

Hamzah H.K. Al-Shukri, PhD, Professor, Veterinary Medicine College, Al-Qasim Green University, Babylon, Iraq, E-mail: hamza14shukri72@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6215-3681>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-3

УДК 575.174.015.3:616.137.83/87-004.6-007.271-055.2

Миссенс-вариант rs11556924 в гене *ZC3HC1* характеризуется протективным эффектом в отношении риска развития облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей у женщин

С.Н. Жабин¹ , В.А. Лазаренко¹ , Ю.Э. Азарова¹ , Е.Ю. Клёсова¹ ,
Д.А. Башкатов² , С.И. Кононов¹ , М.А. Солодилова¹ ,
А.В. Полоников¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», ул. Льва Толстого, д. 6-8, г. Санкт-Петербург, 197022, Российская Федерация
Автор для переписки: С.Н. Жабин (79038771993@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей (ОАСНК) представляет собой одну из самых распространенных форм заболеваний периферических сосудов нижних конечностей. Принимая во внимание потенциальное участие полиморфных вариантов гена, реализуемое через регулирование пролиферации гладкомышечных клеток, эти участки ДНК могут рассматриваться как генетические маркеры предрасположенности к атеросклерозу. **Цель исследования:** Изучение взаимосвязи однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), ассоциированных по результатам полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) с риском развития ишемической болезни сердца, с предрасположенностью к ОАСНК. **Материалы и методы:** В исследование было включено 1278 пациентов, включая 630 больных ОАСНК и 648 относительно здоровых лиц. Проведено генотипирование четырех SNP rs9818870, rs17087335, rs11556924 и rs9982601 с использованием геномного масс-спектрометра MassARRAY-4. Анализ ассоциации аллелей и генотипов с ОАСНК проводился с использованием программы PLINK, v1.9. Адаптивный пермутационный тест использовался для расчета уровня статистической значимости ассоциаций (Pperm). **Результаты:** Установлено, что аллель rs11556924-T (OR=0,81 95% CI 0,69-0,95, Pperm=0,02) и генотип rs11556924-T/T (OR=0,60 95% CI 0,43-0,82, Pperm=0,006) гена *ZC3HC1* ассоциированы с пониженным риском развития ОАСНК. Однако, стратифицированный по полу анализ показал, что SNP rs11556924 ассоциирован с пониженным риском развития ОАСНК исключительно у женщин (OR=0,56 95% CI 0,39-0,81, Pperm=0,002). Также установлено, что SNP rs11556924 ассоциирован с повышением уровнем триглицеридов крови у больных ОАСНК ($\beta=0,131$

$P_{perm}=0,03$). Другие исследованные SNP показали ассоциации с триглицеридами, ЛПНП, ангиографическими показателями у больных ОАСНК. В частности, полиморфизм rs9982601 гена *MRPS6* ассоциировался с поражением атеросклеротическими бляшками подвздошных артерий ($P_{perm}=0,001$). **Заключение:** Настоящее исследование впервые установило, что полиморфизм rs11556924 гена *ZC3HC1* является новым генетическим маркером предрасположенности к облитерирующему атеросклерозу сосудов нижних конечностей и характеризуется протективным эффектом в отношении риска развития болезни у женщин.

Ключевые слова: облитерирующий атеросклероз; генетические биомаркеры; степень стеноза артерий; патогенез; однонуклеотидный полиморфизм

Для цитирования: Жабин СН, Лазаренко ВА, Азарова ЮЭ, и др. Миссенс-вариант rs11556924 в гене *ZC3HC1* характеризуется протективным эффектом в отношении риска развития облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей у женщин. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(1):37-51. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-3

The missense variant rs11556924 in *ZC3HC1* has a protective effect against the risk of peripheral artery disease in women

Sergey N. Zhabin¹ , Victor A. Lazarenko¹ , Iuliia E. Azarova¹ ,
Elena Yu. Klyosova¹ , Daniil A. Bashkatov² , Stanislav I. Kononov¹ ,
Maria A. Solodilova¹ , Alexey V. Polonikov¹ 

¹ Kursk State Medical University,

3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University,

6-8 Leo Tolstoy St., Saint Petersburg, 197022, Russia

Corresponding author: Sergey N. Zhabin (79038771993@yandex.ru)

Abstract

Background: Peripheral artery disease (PAD) is one of the most common forms of diseases of the peripheral vessels of the lower extremities. Taking into account the potential participation of polymorphic variants of the *ZC3HC1* gene in the atherosclerotic process, realized through the regulation of smooth muscle cell proliferation, these DNA regions can be considered as genetic markers of predisposition to atherosclerosis. **The aim of the study:** To examine the association between single nucleotide polymorphisms (SNP) and the risk of coronary heart disease and susceptibility to PAD according to the Genome-wide association studies (GWAS). **Materials and methods:** The study involved 1278 subjects, including 630 patients with PAD and 648 healthy controls. Four SNPs (rs9818870, rs17087335, rs11556924, and rs9982601) were genotyped using the MassARRAY-4 system. Association analysis between PAD risk and SNPs was performed using an open-source whole-genome association analysis toolset (PLINK program v1.9). An adaptive permutation test (P_{perm}) was used to calculate the statistical significance of the associations. **Results:** The allele rs11556924-T (OR=0.81, 95%CI 0.69-0.95, $P_{perm}=0.02$) and genotype rs11556924-T/T (OR=0.60, 95%CI 0.43-0.82, $P_{perm}=0,006$) of *ZC3HC1* were associated with a decreased risk of PAD. However, sex-stratified analysis showed that SNP rs11556924 was associated with a decreased

disease risk exclusively in women (OR=0.56, 95% CI 0.39-0.81, Pperm = 0.002). It was also found that the SNP rs11556924 was associated with an increase in blood triglyceride levels in patients with PAD ($\beta=0.131$, Pperm=0.03). Other SNPs studied were associated with laboratory and instrumental parameters in patients (triglycerides, LDL, angiographic parameters). In particular, the rs9982601 polymorphism of *MRPS6* was associated with atherosclerotic plaque formation in iliac arteries (Pperm = 0.001). **Conclusion:** This study is the first to establish that the rs11556924 polymorphism of the *ZC3HC1* gene is a new genetic marker of susceptibility to peripheral artery disease and is characterized by a protective effect on disease risk in women.

Keywords: peripheral arterial disease; genetics biomarkers; degree of arterial stenosis; pathogenesis; single nucleotide polymorphism

For citation: Zhabin SN, Lazarenko VA, Azarova IuE, et al. The missense variant rs11556924 in *ZC3HC1* has a protective effect against the risk of peripheral artery disease in women. Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):37-51. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-3

Введение. Заболевания периферических артерий (ЗПА) занимают одно из лидирующих мест в развитии заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых патологий. ЗПА характеризуются развитием стеноза или окклюзий любой локализации на всем протяжении участка от аорто-подвздошного сегмента до подошвенных артерий. Сегодня ЗПА подвержены около 236 миллионов человек, что ставит их на одну ступень с ишемической болезнью сердца (ИБС) и цереброваскулярными заболеваниями и дает право называть ЗПА самостоятельным заболеванием [1, 2].

Облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей (ОАСНК) – ведущее по значимости и распространенности заболевание артерий нижних конечностей, которое приводит к развитию синдрома хронической ишемии [3, 4]. Существует ряд исследований, указывающих на мультифакториальную природу ОАСНК, что означает вовлеченность, как средовых, так и генетических факторов в его развитие [5, 6]. Несмотря на данный факт, база исследовательских работ, результаты которых доказывают четкую связь между разными вариантами генов и риском прогрессирования облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей, малочисленна в сравнении с той, что посвящена изучению связи между генетической предрасположенностью к

развитию атеросклероза коронарных и церебральных артерий.

Результаты пяти крупных исследований, опубликованных в базе данных каталога полногеномных ассоциативных исследований (GWAS, genome-wide association study), выявили 260 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), связанных с повышенным риском развития заболеваний периферических артерий [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/home>]. В тоже самое время, значительная часть последующих исследований, выполненных в независимых популяциях мира, показала относительно низкую воспроизводимость выявленных в результате GWAS ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNP) с заболеваниями периферических артерий. Согласно данным недавно опубликованного мета-анализа, 112 статей, описывающих 231 ДНК-полиморфизм, ассоциированный с заболеваниями периферических артерий, установлено лишь 19 ассоциированных с болезнью вариантов, которые были воспроизведены в нескольких крупных когортах пациентов [7].

Опираясь на приведенные выше факты и учитывая межэтническую генетическую гетерогенность и территориальные различия во влияниях средовых факторов, требуется валидация результатов GWAS в отдельных популяциях мира с целью отбора генетических

маркеров, которые могли бы использоваться для молекулярной диагностики болезни и персонализированных подходов к её лечению и профилактике.

Цель исследования. В рамках этого предварительного исследования была поставлена цель выявить взаимосвязи между разными вариантами генов, обнаруженных в исследованиях полногеномных ассоциаций с риском прогрессирования облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей. Исследование фокусировалось на жителях центральной России.

Материалы и методы исследования. При проведении исследования были учтены основные принципы медицинской этики и общие положения Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации. Было получено одобрение регионального этического комитета Курского государственного медицинского университета (№9 от 10.12.2019). Перед началом работы все пациенты исследованной группы предоставили письменное информированное согласие на добровольное участие, а также понимание целей и всех проведенных процедур.

Проведен сбор клинического материала, включающего 1278 неродственных лиц славянского происхождения, в том числе 630 больных ОАСНК и 648 относительно здоровых лиц, с отсутствием хронических заболеваний.

Больные ОАСНК проходили стационарное лечение на базе отделения сосудистой хирургии Курской областной клинической больницы. Диагноз ОАСНК был установлен на основе критериев, изложенных в Национальных рекомендациях по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей (2019 г.). Для оценки степени поражения периферических артерий у пациентов с ОАСНК использовались методы ультразвукового дуплексного сканирования и ангиографии артерий нижних конечностей. Эти методы обеспечивают точную визуализацию артерий и позволяют определить наличие и степень сужения или

закупорки сосудов [8].

Каждому пациенту было произведено вычисление лодыжечно-плечевой индекс (Ankle Brachial Index или ABI) – показателя, который отражает состояние кровотока в нижних конечностях. Критериями включения пациентов в группу больных ОАСНК были: наличие клинически значимого стеноза одной или более артерий нижних конечностей согласно классификации Фонтейна, а также значение 0,6 и ниже лодыжечно-плечевого индекса. Степень атеросклеротического поражения артерий по результатам инструментального исследования выражали значениями: 1 (стеноз $\leq 50\%$), 2 (стеноз 51-70%) и 3 (стеноз $\geq 71\%$). Все участники исследования проходили анкетирование относительно факторов риска болезни с использованием валидированного опросника [9]. Для молекулярно-генетических исследований у каждого участника исследования проводился забор /5 мл венозной крови в пробирки с 0,5М этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Геномную ДНК извлекали с использованием стандартного метода фенольно-хлороформной экстракции с последующей преципитацией этанолом. Для этого исследования были выбраны четыре однонуклеотидных полиморфизма (SNP) из различных генов, ранее связанных с риском развития коронарного атеросклероза в полногеномных ассоциативных исследованиях (GWAS). Для исследования из каталога GWAS (GWAS Catalog, <https://www.ebi.ac.uk/gwas/home>) были отобраны следующие локусы: полиморфизм rs9818870 гена в 3'-нетранслируемой области гена *MRAS* (muscle RAS oncogene homolog), rs17087335 в области интрона гена *NOA1* (nitric oxide associated 1), rs11556924 в экзоне гена *ZC3HC1* (zinc finger C3HC-type containing 1) и rs9982601 в интроне гена *MRPS6* (mitochondrial ribosomal protein S6). Данные по числу успешно прогенотипированных образцов ДНК участников исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1
Данные по числу успешно прогенотипированных образцов ДНК участников исследования

Table 1
Data on the number of successfully genotyped DNA samples of study participants

Ген (SNP ID)	Контрольная группа	Больные ОАСНК	Общий объем выборки	SNP call rate
<i>MRAS</i> (rs9818870)	647	627	1274	99,7
<i>NOAI</i> (rs17087335)	648	630	1278	100
<i>ZC3HC1</i> (rs11556924)	633	621	1254	98,1
<i>MRPS6</i> (rs9982601)	648	628	1276	99,8

Настоящее исследование было проведено в соответствии с руководящими принципами STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA). Статистическая мощность была оценена с использованием калькулятора мощности исследования генетических ассоциаций (GAS) (https://csg.sph.umich.edu/abecasis/gas_power_calculator/). Ассоциативный анализ ($\alpha=0,05$) позволил выявить относительный риск генотипа (OR) 1,30-1,50 с мощностью 88-99% в целом (630 больных ОАСНК и 648 представителей контрольной группы) и показателем OR 1,40-1,7 с мощностью 80-99%. в подгрупповом анализе. В рамках нашего исследования мы использовали статистические методы для анализа ассоциаций между вариантами генов и риском развития облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей. Для оценки частот генотипов и аллелей мы применили точный тест Фишера и критерий хи-квадрат, в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга (HWE), сравнивались различные частоты аллелей и генотипов в исследуемых группах, чтобы выявить потенциальные ассоциации между ними и риском ОАСНК. использовалось программное обеспечение SNPStats. (<https://www.snpstats.net/start.htm>) и PLINK, v1.9.

Для оценки силы ассоциаций между генетическими вариантами и риском развития ОАСНК рассчитывались показатели отношения шансов (OR) и их 95-процентные доверительные интервалы (95% CI). Для анализа взаимосвязи исследованных полиморфных локусов на количественные показатели пациентов с

ОАСНК (липидный состав крови, лодыжечно-плечевой индекс) использовался метод линейного регрессионного анализа. Уровень значимости (P_{perm}) ассоциаций оценивали с помощью адаптивного пермутационного теста с использованием программы PLINK. Для оценки влияния ДНК полиморфизма на количественные показатели использовали метод линейного регрессионного анализа, который предусматривает нормальное распределение количественных предикторов. В связи с тем, что все количественные показатели ЛПИ, липидный состав, данные УЗИ и ангиографии показали распределение отличное от нормального (тест Колмогорова-Смирнова), данные признаки были трансформированы методом обратного рангового преобразования. Учитывая то, что в полногеномных ассоциативных исследованиях для оценки ассоциаций ДНК-маркеров с фенотипами тестируется, как правило, аддитивная модель, все выполненные нами расчеты проводились исключительно в рамках данной генетической модели.

Функциональная аннотация генетического варианта rs11556924, связанного с риском развития ОАСНК, была проведена с использованием биоинформатических ресурсов и инструментов Ensembl Genome Browser. [<https://www.ensembl.org/index.html>], VannoPortal [<http://www.mulinlab.org/vportal/index.html>], QTLbase2 [<http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.html>] и HaploReg v4.2 [<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>].

Результаты и их обсуждение.

Результаты клинических и лабораторных исследований участников исследования были детально описаны в нашем предыдущем исследовании [5]. Частоты генотипов изучаемых полиморфных вариантов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$), что указывает на

отсутствие отклонений от ожидаемых частот генотипов в популяции. Результаты анализа ассоциаций между этими полиморфными вариантами и риском развития облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей представлены в таблице 2.

Таблица 2

Ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей

Table 2

Associations of polymorphic gene variants with the development of peripheral artery disease

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Частоты генотипов, N (%) и аллелей, %		P _{perm} ¹	OR (95% CI) ²
		Контрольная группа	Больные ОАСНК		
MRAS (rs9818870)	C/C	473 (73,1)	461 (73,5)	0,55	1,08 (0,86-1,36)
	C/T	162 (25,0)	145 (23,1)		
	T/T	12 (1,9)	21 (3,3)		
	T	14,4	14,9	0,86	1,04 (0,84-1,30)
NOA1 (rs17087335)	G/G	373 (57,6)	376 (59,7)	0,86	0,98 (0,81-1,19)
	G/T	243 (37,5)	217 (34,4)		
	T/T	32 (4,9)	37 (5,9)		
	T	23,7	23,1	0,75	0,97 (0,81-1,16)
ZC3HC1 (rs11556924)	C/C	251 (39,7)	268 (43,2)	0,02	0,82 (0,69-0,97)
	C/T	271 (42,8)	283 (45,6)		
	T/T	111 (17,5)	70 (11,3)		
	T	38,9	34,1	0,02	0,81 (0,69-0,95)
MRPS6 (rs9982601)	C/C	456 (70,4)	453 (72,1)	0,86	1,03 (0,82-1,31)
	C/T	186 (28,7)	163 (26,0)		
	T/T	6 (0,9)	12 (1,9)		
	T	15,3	14,9	0,86	0,97 (0,78-1,21)

Примечание: ¹ Уровень значимости ассоциации аллеля/генотипа с риском развития ОАСНК (P_{perm} рассчитан посредством адаптивного пермутационного теста с помощью программы PLINK v1.9); ² Отношение шансов и 95%-доверительный интервал ассоциации (аддитивная модель) с риском развития ОАСНК с коррекцией по полу, возрасту, ИМТ, наличию коморбидных сердечно-сосудистых заболеваний (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь).

Note: ¹ Level of significance of the association of the allele/genotype with the risk of developing PAD (P_{perm} was calculated using an adaptive permutation test using the PLINK v1.9 program); ² Odds ratio and 95% confidence interval of association (additive model) with the risk of developing PAD with correction by gender, age, BMI, the presence of comorbid cardiovascular diseases (coronary heart disease, hypertension).

Таблица 2 содержит следующую информацию: аллель rs11556924-T (OR=0,81 95%CI 0,69-0,95, P_{perm}=0,02) и генотип rs11556924-T/T (OR=0,60 95%CI 0,43-0,82, P_{perm}=0,006, рецессивная модель) были ассоциированы с пониженным риском развития ОАСНК. Для остальных изученных генетических локусов не наблюдалось статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов между группами пациентов с ОАСНК и здоровыми лицами. Это

указывает на отсутствие ассоциаций между этими локусами и риском развития ОАСНК в исследованной популяции.

Проведен стратифицированный анализ ассоциаций SNP с риском развития ОАСНК отдельно у мужчин и женщин. Результаты анализа ассоциации полиморфных вариантов генов с риском развития облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (ОАСНК) у мужчин и женщин представлены в таблицах 3 и 4 соответственно.

Таблица 3

Ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (мужчины)

Table 3

Associations of polymorphic gene variants with the development of peripheral artery disease (men)

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Частоты генотипов, N (%) и аллелей, %		P _{perm} ¹	OR (95% CI) ²
		Контрольная группа	Больные ОАСНК		
MRAS (rs9818870)	C/C	287 (73,0)	405 (75,3)	0,64	0,97 (0,75-1,25)
	C/T	97 (24,7)	113 (21,0)		
	T/T	9 (2,3)	20 (3,7)	0,69	0,97 (0,24-1,26)
	T	14,6	14,2		
NOA1 (rs17087335)	G/G	233 (59,1)	325 (60,1)	0,99	1,02 (0,82-1,26)
	G/T	142 (36,0)	182 (33,6)		
	T/T	19 (4,8)	34 (6,3)	0,99	1,01 (0,82-1,26)
	T	22,8	23,1		
ZC3HC1 (rs11556924)	C/C	155 (40,8)	225 (42,1)	0,34	0,92 (0,76-1,11)
	C/T	168 (44,2)	243 (45,5)		
	T/T	57 (15,0)	66 (12,4)	0,46	0,92 (0,76-11,11)
	T	37,1	35,1		
MRPS6 (rs9982601)	C/C	287 (72,8)	392 (72,7)	0,69	1,05 (0,80-1,38)
	C/T	104 (26,4)	137 (25,4)		
	T/T	3 (0,8)	10 (1,9)	0,86	1,05 (0,81-1,37)
	T	14,0	14,6		

Примечание: ¹ Уровень значимости ассоциации аллеля/генотипа с риском развития ОАСНК (P_{perm} рассчитан посредством адаптивного пермутационного теста с помощью программы PLINK v1.9); ² В ходе исследования мы провели статистический анализ, для оценки отношения шансов и 95%-доверительный интервал ассоциации (аддитивная модель) между риском ОАСНК и коррекцией по нескольким факторам. В частности, мы учитывали влияние пола, возраста, индекса массы тела (ИМТ) и наличия коморбидных сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца и гипертоническая болезнь.

Note: ¹ Level of significance of the association of the allele/genotype with the risk of developing PAD (P_{perm} was calculated using an adaptive permutation test using the PLINK v1.9 program); ² Odds ratio and 95% confidence interval of association (additive model) with the risk of developing PAD with correction by gender, age, BMI, the presence of comorbid cardiovascular diseases (coronary heart disease, hypertension).

Таблица 4 (начало)

Ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (женщины)

Beginning of Table 4

Associations of polymorphic gene variants with the development of peripheral artery disease (women)

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Частоты генотипов, N (%) и аллелей, %		P _{perm} ¹	OR (95% CI) ²
		Контрольная группа	Больные ОАСНК		
MRAS (rs9818870)	C/C	186 (73,2)	56 (62,9)	0,12	1,52 (0,94-2,44)
	C/T	65 (25,6)	32 (36,0)		
	T/T	3 (1,2)	1 (1,1)	0,09	1,45 (0,93-2,28)
	T	14,0	19,1		
NOA1 (rs17087335)	G/G	140 (55,1)	51 (57,3)	0,78	0,89 (0,59-1,35)
	G/T	101 (39,8)	35 (39,3)		
	T/T	13 (5,1)	3 (3,4)	0,55	0,90 (0,60-1,34)
	T	25,0	23,0		
ZC3HC1 (rs11556924)	C/C	96 (37,9)	43 (49,4)	0,002	0,56 (0,39-0,81)
	C/T	103 (40,7)	40 (46,0)		

Таблица 4 (окончание)

Ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей (женщины)

End of Table 4

Associations of polymorphic gene variants with the development of peripheral artery disease (women)

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Частоты генотипов, N (%) и аллелей, %		P _{perm} ¹	OR (95% CI) ²
		Контрольная группа	Больные ОАСНК		
	T/T	54 (21,3)	4 (4,6)	0,002	0,53 (0,37-0,78)
	T	41,7	27,6		
MRPS6 (rs9982601)	C/C	169 (66,5)	61 (68,5)	0,99	0,96 (0,60-1,56)
	C/T	82 (32,3)	26 (29,2)		
	T/T	3 (1,2)	2 (2,2)	0,86	0,97 (0,61-1,52)
	T	17,3	16,9		

Примечание: ¹ Уровень значимости ассоциации аллеля/генотипа с риском развития ОАСНК (P_{perm} рассчитан посредством адаптивного пермутационного теста с помощью программы PLINK v1.9); ² Отношение шансов и 95%-доверительный интервал ассоциации (аддитивная модель) с риском развития ОАСНК с коррекцией по полу, возрасту, ИМТ, наличию коморбидных сердечно-сосудистых заболеваний (ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь).

Note: ¹ Level of significance of the association of the allele/genotype with the risk of developing PAD (P_{perm} was calculated using an adaptive permutation test using the PLINK v1.9 program); ² Odds ratio and 95% confidence interval of association (additive model) with the risk of developing PAD with correction by gender, age, BMI, the presence of comorbid cardiovascular diseases (coronary heart disease, hypertension).

В ходе исследования не было обнаружено статистически значимых ассоциаций между исследованными локусами и ОАСНК у мужчин. Однако, при анализе данных у женщин было установлено, что полиморфный вариант rs11556924 гена ZC3HC1 имеет защитный эффект, ассоциируясь с пониженным риском развития ОАСНК. Эта находка будет иметь принципиальное значение для разработки новых подходов к

профилактике и лечению ОАСНК у женщин, учитывая роль гена ZC3HC1 в регуляции процессов, связанных с развитием этого заболевания.

Анализ ассоциации, стратифицированный по статусу курения, не выявил статистически значимых различий во взаимосвязи исследуемых полиморфных вариантов генов с риском развития ОАСНК (Таблица 5)/

Таблица 5 (начало)

Клинические и лабораторные характеристики и показатели участников исследования

Beginning of Table 5

Clinical and laboratory characteristics and parameters of study participants

Характеристики/показатели	Здоровые представители контрольной группы (N=648)	Пациенты с заболеванием периферических артерий (N=630)	P-value (p-значение)
Возраст, среднее значение ± стандартное отклонение	66,34±7,69	62,14±9,47	0,001
Пол	М, N (%)	394 (60,8)	540 (85,7)
	Ж, N (%)	254 (39,2)	90 (14,3)
ИМТ (кг/м ²) значение ± стандартное отклонение	27,07 ± 4,54	26,59 ± 6,36	0,7
Курящие ^a , N (%)	295 (45,5)	354 (56,2)	-
ИБС, N (%)	-	193 (30,6)	-
Гипертония, N (%)	-	371 (58,9)	-
ОХС (ммоль/л), Me (Q1; Q3)	NA	5,07 (4,40; 5,60)	-

Таблица 5 (окончание)

Клинические и лабораторные характеристики и показатели участников исследования
End of Table 5

Clinical and laboratory characteristics and parameters of study participants

Характеристики/показатели	Здоровые представители контрольной группы (N=648)	Пациенты с заболеванием периферических артерий (N=630)	P-value (p-значение)
ХС-ЛПНП (ммоль/л), Me (Q1; Q3)	NA	3,20 (2,10; 4,50)	-
ХС-ЛПВП (ммоль/л), Me (Q1; Q3)	NA	1,18 (1,00; 1,57)	-
ТГ (ммоль/л), Me (Q1; Q3)	NA	1,50 (1,11; 2,20)	-

Примечание: ¹ ИБС, заболевания периферических артерий; ОХС, общий холестерин; ХС-ЛПНП, холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС-ЛПВП, холестерин липопротеидов высокой плотности; ТГ, триглицериды; Курящие ^a у 18 пациентов контрольной группы отсутствовали данные о курении; Статистически значимые значения выделены жирным шрифтом. NA – данные не доступны;

Note: ¹ IHD, peripheral arterial disease; TC, total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; ^a 18 data on smoking status were not available from 18 subjects from the control group; statistically significant p-values are bolded. NA – not available.

Исследованы ассоциации полиморфных вариантов с лабораторными и инструментальными (ультразвуковое исследование и ангиография периферических артерий) данными пациентов с ОАСНК. Установлено, что SNP rs11556924 был ассоциирован с повышением уровнем триглицеридов крови у больных ОАСНК ($\beta=0,131$ $P_{perm}=0,03$). Полиморфизм rs9818870 гена *MRAS* показал статистически значимые ассоциации с усредненным показателем АВІ или лодыжечно-плечевым индексом ($\beta=-0,019$ $P_{perm}=0,04$), уровнем ЛПНП ($\beta=0,377$ $P_{perm}=0,05$), ТГ ($\beta=-0,255$ $P_{perm}=0,02$), а также с наличием стеноза аорто-подвздошного сегмента слева ($P_{perm}=0,04$). Полиморфизм rs9982601 гена *MRPS6* был ассоциирован с поражением атеросклеротическими бляшками подвздошных артерий или синдромом Лериша ($P_{perm}=0,001$).

Таким образом, не смотря на половой диморфизм, нами впервые выявлена ассоциация rs11556924 гена *ZC3HC1* с предрасположенностью к ОАСНК. Согласно результатам крупнейших международных геномных исследований, аллель rs11556924-T гена *ZC3HC1* ассоциирован с пониженным риском развития ишемической болезни сердца [11],

инфаркта миокарда [12], положительно коррелирует с уровнем лейкоцитов [13] и тромбоцитов [14] и отрицательно с уровнем гемоглобина крови [13]. Кроме того, аллель rs11556924-T ассоциирован со снижением уровня диастолического и систолического артериального давления [9], а также увеличением уровня тестостерона крови [15]. В контексте полового диморфизма выявленной нами ассоциации rs11556924 с ОАСНК у женщин заслуживают результаты крупного исследования у женщин европеоидного происхождения (N=189473), свидетельствующие о том, что аллель rs11556924-T тесно положительно коррелирует с уровнем глобулина, связывающего и транспортирующего половые гормоны [15, 16], преимущественно тестостерон и дигидротестостерон, и повышение уровня которых увеличивает риск метаболических заболеваний у мужчин и снижает их риск у женщин.

Ген *ZC3HC1* кодирует важнейший компонент лигазного комплекса E3 SCF-типа, SCF (NIPA), комплекса, который контролирует вход в митоз, опосредуя убиквитинирование и последующую деградацию циклина B1 (CCNB1). В свою очередь, CCNB1 участвует в пролиферации гладкомышечных клеток и, согласно

Silvestre-Roig C et al, 2013, снижение его экспрессии и, как следствие уменьшение выработки циклина В1, приводит к уменьшению пролиферации гладкомышечных клеток и разрастанию неоинтимы. Данный механизм взаимодействия продуктов гена *ZC3HC1* и атеросклеротических процессов подтверждается и в работе Linseman T et al., 2017, направленной на изучение антиатерогенного эффекта изучаемого нами гена [17, 18]. В литературе опубликованы исследования, которые направлены на оценку влияния экспрессии гена *ZC3HC1* на изменение комплекса интима-медиа. В работе Lopez-Mejias R et al., 2013 приведены данные,

подтверждающие ассоциацию изучаемого нами полиморфизма с субклиническим атеросклерозом у лиц, страдающих ревматоидным артритом. При этом в качестве основного признака наличия атеросклеротического поражения, ассоциируемого с полиморфизмом, является увеличение показателя комплекса интима-медиа, что также позволяет установить связь между продуктами гена и атеросклерозом через вовлеченность в процессы клеточной пролиферации и ангиогенеза [19].

В таблице 6 представлены данные функционального аннотирования rs11556924 гена *ZC3HC1* с использованием данных Ensembl Genome Browser.

Таблица 6

Функциональное аннотирование SNP rs11556924 гена ZC3HC1 с использованием данных Ensembl Genome Browser

Table 6

Functional annotation of the SNP rs11556924 of the ZC3HC1 gene using Ensembl Genome Browser data

Ген (Ensembl gene ID)	Транскрипт (цепь)	Аллель (в транскрипте)	Тип мутации	Положение в белке	Аминокислотная замена	SIFT	PolyPhen
<i>ZC3HC1</i> (ENSG00000091732)	ENST00000311873.9 (-) белок-кодирующий	T (A)	Миссенс	342 (из 481)	R/H (Arg342His)	Патогенный (0.05)	Вероятно патогенный (0.981)
<i>ZC3HC1</i> (ENSG00000091732)	ENST00000358303.9 (-) белок-кодирующий	T (A)	Миссенс	363 (из 502)	R/H (Arg363His)	Патогенный (0.04)	Вероятно патогенный (0.958)
<i>ZC3HC1</i> (ENSG00000091732)	ENST00000481503.5 (-) белок-кодирующий	T (A)	Миссенс	320 (из 459)	R/H (Arg320His)	Патогенный (0.05)	Вероятно патогенный (0.958)

Нуклеотидная замена C>T (rs11556924) фактически представляет собой миссенс мутацию, которая сопровождается несинонимичной аминокислотной заменой аргинина на гистидин в одном из трех транскрибируемых вариантов гена *ZC3HC1* (Arg342His, Arg363His и Arg320His). Биоинформатические инструменты SIFT и PolyPhen позволили предсказать, что данные аминокислотные замены представляют собой патогенные или вероятно патогенные варианты, влияющие

на структуру белка *ZC3HC1*. Согласно данным QTLbase2 аллель rs11556924-T ассоциирован с выраженным снижением экспрессии гена *KLHDC10* в крови (размер эффекта -0,2188, P=3,9×10⁻¹³). *KLHDC10* (kelch domain containing 10) - белок, являющийся частью комплекса убиквитин-протеинлигазы E3 (CRL2) пути DesCEND (разрушение посредством дедронов на С-конце), который распознает С-дедрон, расположенный на С-конце белков-мишеней, что приводит к их убиквитинированию и деградации [20].

KLHDC10 расположен в том же геноме участке, что и *ZC3HC1*. По всей видимости, учитывая тот факт, что миссенс мутация rs11556924 может сопровождаться нарушением структуры белка и, следовательно, его конформации вследствие его неправильного сворачивания, можно полагать существование потенциальной взаимосвязи *KLHDC10* с процессами убиквитинирования и деградация мутантной формы *ZC3HC1*. Кроме того, согласно данным порталов VannoPortal и QTLbase2, SNP rs11556924 может находиться в неравновесии по сцеплению с miQTL – участком связывания для микроРНК hsa-miR-183-5p, уровень экспрессии которой в крови отрицательно коррелирует с носительством аллеля rs11556924-T гена *ZC3HC1* (размер эффекта -0,8819. P=0,01). Примечателен тот факт, что повышенный уровень экспрессии в крови микроРНК hsa-miR-183-5p является биомаркером атеросклероза и регуляции роста гладкомышечных клеток сосудов [21, 22]. Согласно данным HaploReg v4.2, данный полиморфизм также может представлять собой участок связывания гистондеацетилазы 2 (HDAC2), вовлеченной в регуляцию транскрипции и клеточного цикла. Известно, что данный класс ферментов играет роль в регуляции сосудистого гомеостаза и может иметь патогенетическое значение для развития атеросклероза [13]. Согласно данным VannoPortal, полиморфизм rs11556924 также располагается в области гистонового маркера H3K36me3, который действует как метка для гистондеацетилаз, связывающих и деацетилирующих гистоны, тем самым предотвращая неконтролируемую транскрипцию [23]. Таким образом, полиморфизм rs11556924, ассоциированный с риском развития ОАСНК, представляет собой функционально значимый вариант, который, хотя и является миссенс-мутацией, по всей видимости, находится в неравновесии по сцеплению с другими

некодирующими SNP, которые представляют собой участки для эпигенетической регуляции экспрессии гена. Дальнейшие функциональные исследования позволят раскрыть молекулярные механизмы, посредством которых данный генетический вариант связан с формированием облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

Заключение. По результатам настоящего исследования впервые установлено, что полиморфный вариант rs11556924 гена *ZC3HC1* обладает протективным, антиатерогенным действием в отношении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. Малое количество функциональных исследований данного варианта лишь частично позволяет объяснить молекулярные механизмы, посредством которых продукты данного гена реализуют свое антиатерогенное действие. Необходимы дальнейшие исследования по изучению вовлеченности гена *ZC3HC1* в развитие ОАСНК, а также атеросклероза коронарных и церебральных артерий с оценкой вовлеченности в патогенез болезни показателей клеточной пролиферации структурных компонентов сосудистой стенки. Результаты таких исследований позволят не только понять природу выявленных нами генно-фенотипических взаимосвязей, но и оказаться востребованными в клинической практике ангиологов и сосудистых хирургов в качестве генетических предикторов атеросклероза периферических артерий и маркеров, на основании которых можно осуществлять индивидуальное прогнозирование риска развития рестенозов артерий и выбора способов хирургической реваскуляризации как элементов персонализированной медицины.

Информация о финансировании

Работа выполнена за счет средств Курского государственного медицинского университета.

Financial support

The study was carried out at the expenses of Kursk State Medical University.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Horváth L, Németh N, Fehér G, et al. Epidemiology of Peripheral Artery Disease: Narrative Review. *Life*. 2022;12(7):1041. DOI: <https://doi.org/10.3390/life12071041>
2. Aday AW, Matsushita K. Epidemiology of Peripheral Artery Disease and Polyvascular Disease. *Circulation Research*. 2021;128(12):1818-1832. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318535>
3. Калинин РЕ, Сучков ИА, Чобанян АА, и др. Маркеры течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2021;27(2):17-23. DOI: <https://doi.org/10.33529/ANGIO2021203>
4. Рекомендации ЕОК/ЕОСХ по диагностике и лечению заболеваний периферических артерий 2017. *Российский кардиологический журнал*. 2018;8:164-221. DOI: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2018-8-164-221>
5. Zhabin S, Lazarenko V, Azarova I, et al. The Joint Link of the rs1051730 and rs1902341 Polymorphisms and Cigarette Smoking to Peripheral Artery Disease and Atherosclerotic Lesions of Different Arterial Beds. *Life*. 2023;13(2):496. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13020496>
6. Klarin D, Tsao PS, Damrauer SM. Genetic Determinants of Peripheral Artery Disease. *Circulation Research*. 2021;128(12):1805-1817. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318327>
7. Chaar CIO, Kim T, Alameddine D, et al. Systematic review and meta-analysis of the genetics of peripheral arterial disease. *JVS-Vascular Science*. 2023;5:100133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvssci.2023.100133>
8. Geroulakos G, Paraskevas KI. The 2024 ESVS Guidelines on Lower Limb Peripheral Arterial Disease: A Step Forward. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2024;67(1):3-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2023.10.011>
9. Клёсова ЕЮ, Азарова ЮЭ, Суняйкина ОА, и др. Валидация краткого опросника для оценки вклада средовых факторов риска в развитие возраст-зависимых заболеваний на примере сахарного диабета 2 типа и ишемической болезни сердца. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2022;8(1):130-137. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-010>
10. Chen X, He Y, Fu W, et al. Histone Deacetylases (HDACs) and Atherosclerosis: A Mechanistic and Pharmacological Review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020;8:581015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.581015>
11. van der Harst P, Verweij N. Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease. *Circulation Research*. 2018;122(3):433-443. DOI: <https://doi.org/10.1161/circresaha.117.312086>
12. Hartiala JA, Han Y, Jia Q, et al. Genome-wide analysis identifies novel susceptibility loci for myocardial infarction. *European Heart Journal*. 2021;42(9):919-933. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa1040>
13. Chen MH, Raffield LM, Mousas A, et al. Trans-ethnic and Ancestry-Specific Blood-Cell Genetics in 746,667 Individuals from 5 Global Populations. *Cell*. 2020;182(5):1198-1213.e14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.045>
14. Hariharan P, Dupuis J. Mapping gene and gene pathways associated with coronary artery disease: a CARDIoGRAM exome and multi-ancestry UK biobank analysis. *Scientific Reports*. 2021;11:16461. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95637-9>
15. Ruth KS, Day FR, Tyrrell J, et al. Using human genetics to understand the disease impacts of testosterone in men and women. *Nature Medicine*. 2020;26(2):252-258. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0751-5>
16. Lazarenko V, Churilin M, Azarova I, et al. Comprehensive Statistical and Bioinformatics Analysis in the Deciphering of Putative Mechanisms by Which Lipid-Associated GWAS Loci Contribute to Coronary Artery Disease.

Biomedicines. 2022;10(2):259. DOI:
<https://doi.org/10.3390/biomedicines10020259>

17. Silvestre-Roig C, Fernández P, Esteban, et al. Inactivation of nuclear factor- κ B inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2013;33(5):1036-1045. DOI:
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300580>

18. Linseman T, Soubeyrand S, Martinuk A, et al. Functional Validation of a Common Nonsynonymous Coding Variant in *ZC3H1* Associated With Protection From Coronary Artery Disease. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2017;10(1):e001498. DOI:
<https://doi.org/10.1161/circgenetics.116.001498>

19. López-Mejías R, Genre F, García-Bermúdez, et al. The *ZC3H1* rs11556924 polymorphism is associated with increased carotid intima-media thickness in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2013;15(5):R152. DOI:
<https://doi.org/10.1186/ar4335>

20. Koren I, Timms RT, Kula T, et al. The Eukaryotic Proteome Is Shaped by E3 Ubiquitin Ligases Targeting C-Terminal Degrons. *Cell*. 2018;173(7):1622-1635.e14. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.028>

21. Lv D, Guo Y, Zhang L, et al. Circulating miR-183-5p levels are positively associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023;10:1196348. DOI:
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1196348>

22. Sun B, Shan Z, Sun G, et al. Micro-RNA-183-5p acts as a potential diagnostic biomarker for atherosclerosis and regulates the growth of vascular smooth muscle cell. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2021;84(1):33-37. DOI:
<https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000433>

23. DiFiore JV, Ptacek TS, Wang Y, et al. Unique and Shared Roles for Histone H3K36 Methylation States in Transcription Regulation Functions. *Cell Reports*. 2020;31(10):107751. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107751>

References

1. Horváth L, Németh N, Fehér G, et al. Epidemiology of Peripheral Artery Disease: Narrative Review. *Life*. 2022;12(7):1041. DOI: <https://doi.org/10.3390/life12071041>

2. Aday AW, Matsushita K. Epidemiology of Peripheral Artery Disease and

Polyvascular Disease. *Circulation Research*. 2021;128(12):1818-1832. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318535>

3. Kalinin RE, Suchkov IA, Chobanian AA, et al. Markers of the course of obliterating atherosclerosis of lower limb arteries. *Angiologists and Vascular Surgeons*. 2021;27(2):17-23. Russian. DOI: <https://doi.org/10.33529/ANGIO2021203>

4. 2017 ESC guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral arterial diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Russian Journal of Cardiology*. 2018;8:164-221. Russian. DOI: <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2018-8-164-221>

5. Zhabin S, Lazarenko V, Azarova I, et al. The Joint Link of the rs1051730 and rs1902341 Polymorphisms and Cigarette Smoking to Peripheral Artery Disease and Atherosclerotic Lesions of Different Arterial Beds. *Life*. 2023;13(2):496. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13020496>

6. Klarin D, Tsao PS, Damrauer SM. Genetic Determinants of Peripheral Artery Disease. *Circulation Research*. 2021;128(12):1805-1817. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318327>

7. Chaar CIO, Kim T, Alameddine D, et al. Systematic review and meta-analysis of the genetics of peripheral arterial disease. *JVS-Vascular Science*. 2023;5:100133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvssci.2023.100133>

8. Geroulakos G, Paraskevas KI. The 2024 ESVS Guidelines on Lower Limb Peripheral Arterial Disease: A Step Forward. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2024;67(1):3-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2023.10.011>

9. Klyosova EYu, Azarova IE, Sunyaykina OA, et al. Validity of a brief screener for environmental risk factors of age-related diseases using type 2 diabetes and coronary artery disease as examples. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(1):130-137. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-10>

10. Chen X, He Y, Fu W, et al. Histone Deacetylases (HDACs) and Atherosclerosis: A Mechanistic and Pharmacological Review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020;8:581015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.581015>

11. van der Harst P, Verweij N. Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease. *Circulation Research*. 2018;122(3):433-443. DOI: <https://doi.org/10.1161/circresaha.117.312086>
 12. Hartiala JA, Han Y, Jia Q, et al. Genome-wide analysis identifies novel susceptibility loci for myocardial infarction. *European Heart Journal*. 2021;42(9):919-933. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa1040>
 13. Chen MH, Raffield LM, Mousas A, et al. Trans-ethnic and Ancestry-Specific Blood-Cell Genetics in 746,667 Individuals from 5 Global Populations. *Cell*. 2020;182(5):1198-1213.e14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.045>
 14. Hariharan P, Dupuis J. Mapping gene and gene pathways associated with coronary artery disease: a CARDIoGRAM exome and multi-ancestry UK biobank analysis. *Scientific Reports*. 2021;11:16461. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95637-9>
 15. Ruth KS, Day FR, Tyrrell J, et al. Using human genetics to understand the disease impacts of testosterone in men and women. *Nature Medicine*. 2020;26(2):252-258. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0751-5>
 16. Lazarenko V, Churilin M, Azarova I, et al. Comprehensive Statistical and Bioinformatics Analysis in the Deciphering of Putative Mechanisms by Which Lipid-Associated GWAS Loci Contribute to Coronary Artery Disease. *Biomedicines*. 2022;10(2):259. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020259>
 17. Silvestre-Roig C, Fernández P, Esteban, et al. Inactivation of nuclear factor- κ B inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2013;33(5):1036-1045. DOI: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300580>
 18. Linseman T, Soubeyrand S, Martinuk A, et al. Functional Validation of a Common Nonsynonymous Coding Variant in *ZC3HC1* Associated With Protection From Coronary Artery Disease. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2017;10(1):e001498. DOI: <https://doi.org/10.1161/circgenetics.116.001498>
 19. López-Mejías R, Genre F, García-Bermúdez, et al. The *ZC3HC1* rs11556924 polymorphism is associated with increased carotid intima-media thickness in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*. 2013;15(5):R152. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar4335>
 20. Koren I, Timms RT, Kula T, et al. The Eukaryotic Proteome Is Shaped by E3 Ubiquitin Ligases Targeting C-Terminal Degrons. *Cell*. 2018;173(7):1622-1635.e14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.028>
 21. Lv D, Guo Y, Zhang L, et al. Circulating miR-183-5p levels are positively associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023;10:1196348. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1196348>
 22. Sun B, Shan Z, Sun G, et al. Micro-RNA-183-5p acts as a potential diagnostic biomarker for atherosclerosis and regulates the growth of vascular smooth muscle cell. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2021;84(1):33-37. DOI: <https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000433>
 23. DiFiore JV, Ptacek TS, Wang Y, et al. Unique and Shared Roles for Histone H3K36 Methylation States in Transcription Regulation Functions. *Cell Reports*. 2020;31(10):107751. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107751>
- Статья поступила в редакцию 18 апреля 2024 г.
Поступила после доработки 30 мая 2025 г.
Принята к печати 2 июня 2025 г.
- Received 18 April 2024
Revised 30 May 2025
Accepted 2 June 2025
- Информация об авторах**
Сергей Николаевич Жабин, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургических болезней №1 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: 79038771993@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9324-0972>.
Виктор Анатольевич Лазаренко, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней Института непрерывного образования, ректор ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: kurskmed@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2069-7701>.
Юлия Эдуардовна Азарова, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биологической химии, заведующий

лабораторией биохимической генетики и метаболомики НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: azzzzar@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8098-8052>.

Елена Юрьевна Клёсова, младший научный сотрудник НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: ecless@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1543-9230>.

Даниил Александрович Башкатов, ординатор кафедры хирургии факультетской с курсами лапароскопической и сердечно-сосудистой хирургии с клиникой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: dr.bashkatov@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7404-4933>.

Станислав Игоревич Кононов, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры внутренних болезней №2 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: ck325@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7622-7354>.

Мария Андреевна Солодилова, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: solodilovama@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4607-4913>.

Алексей Валерьевич Полоников, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, заведующий лабораторией статистической генетики и биоинформатики; директор НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: polonikov@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6280-247X>.

Information about the authors

Sergey N. Zhabin, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Surgical Diseases №1, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: 79038771993@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9324-0972>.

Victor A. Lazarenko, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Surgical Diseases of the Institute of Continuous Education, Rector, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: kurskmed@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2069-7701>.

Iuliia E. Azarova, Doct. Sci. (Medicine), Associate Professor, Professor at the Department of Biological Chemistry, Head of the Laboratory of Biochemical Genetics and Metabolomics, Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: azzzzar@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8098-8052>.

Elena Yu. Klyosova, Junior Researcher, Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: ecless@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1543-9230>.

Daniil A. Bashkatov, Resident at the Department of Faculty Surgery with Courses in Laparoscopic and Cardiovascular Surgery and Clinic, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia, E-mail: dr.bashkatov@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7404-4933>.

Stanislav I. Kononov, Cand. Sci. (Medicine), Assistant at the Department of Internal Diseases №2, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: ck325@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7622-7354>.

Maria A. Solodolova, Doct. Sci. (Biology), Associate Professor, Professor at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: solodilovama@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4607-4913>.

Alexey V. Polonikov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Professor at the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Head of the Laboratory of Biochemical Genetics and Metabolomics; Director, Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: polonikov@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6280-247X>.

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ
PHARMACOLOGY



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-4

УДК 615

Neisseria gonorrhoeae LOS Decreased NF-κB and IRF3 Expression but Had No Effect in IFN-β Expression and HIV Replication on Naïve-HIV Lymphocytes

Ninieki Budiarti^{1,2} , Loeki E. Fitri^{1,2} , Handono Kalim^{1,2} , Nuning Winaris¹ ,
Aulia R. Pawestri¹ , Dewi Santosaningsih^{1,2} , Aristika Dinaryanti³ ,
Siti Q. Khairunisa³ , Nasronudin³

¹ Universitas Brawijaya,

Veteran St., Malang, 65145, Indonesia

² Dr. Saiful Anwar General Hospital,

2 Jaksa Agung Suprpto St., Malang, 65112, Indonesia

³ Universitas Airlangga,

4-6 Airlangga St, Surabaya, 60115, Indonesia

Corresponding author: Loeki E. Fitri (lukief@ub.ac.id)

Abstract

Background: *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) is a gram-negative bacterium with a lipooligosaccharides (LOS)-based cell membrane. LOS is considered to suppress HIV-1 replication by downregulating NF-κB, IRF3, and IFN-β. **The aim of the study:** To explore the effect of *N. gonorrhoeae* LOS on HIV replication in lymphocytes of naive HIV patients, as indicated by NF-κB, IRF3, and IFN-β expressions. **Materials and methods:** Naïve-HIV lymphocyte culture was divided into 5 groups. The treatment groups were exposed to *N. gonorrhoeae* LOS with doses ranging from 50 ng/ml, 100 ng/ml, and 200 ng/ml, respectively. The positive control group was exposed to 300 μM of tenofovir as the standard antiviral treatment, while the negative control group received only standard medium. At 24 hours post-treatment, the level of HIV p24 was determined using ELISA and the expressions of NF-κB, IRF3, and IFN-β was measured by flow cytometry. **Results:** The mean expression of NF-κB and IRF3 were significantly different among groups ($p=0.025$; $p=0.020$), while the expression of IFN-β and the level of p24 did not differ significantly ($p=0.051$; $p=0.068$). There was a strong and significant positive correlation between LOS concentration and NF-κB and IRF3 expression ($r=0.704$, $p=0.003$; $r=0.759$, $p=0.001$). **Conclusion:** Exposure of lymphocytes from a naïve HIV patient to *N. gonorrhoeae* LOS significantly affected the expression of NF-κB and IRF-3. **Keywords:** Lipooligosaccharides; Nuclear factor-kappa beta; Interferon Regulatory Factor 3; Interferon-β; Human immunodeficiency virus

Acknowledgements: The authors would like to acknowledge the Laboratory of Central Biomedic at the Faculty of Medicine of Universitas Brawijaya, Malang, as well as the Stem Cell Research and

Development Centre and the Institute of Tropical Diseases at Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia, for facilitating this research.

For citation: Budiarti N, Fitri LE, Kalim H, et al. *Neisseria gonorrhoeae* LOS Decreased NF- κ B and IRF3 Expression but Had No Effect in IFN- β Expression and HIV Replication on Naïve-HIV Lymphocytes. Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):52-63. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-4

Introduction.

Human immunodeficiency virus (HIV) is a retrovirus that infects, destroys, or impairs the function of cells of the immune system. As the infection progresses, the immune system weakens, making patients more susceptible to other infections [1]. As HIV progresses, the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) may develop within 5 to 10 years. The prevalence of HIV/AIDs has increased in the last decade and requires better methods to improve the quality of life of people living with HIV-AIDS by reducing the progression of the disease [2]. The United Nations Programme on HIV/AIDs (UNAIDS) reported an estimated global prevalence of 39 million, whereas it is estimated that 570,000 adults and children in Indonesia are living with HIV and AIDS [3, 4].

The WHO reported that HIV co-infection with *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) markedly deteriorated the condition of HIV patients [5]. The combination of HIV and other STIs has a particularly negative impact on the health of adolescent and young adult populations [6]. Those with sexually transmitted illnesses (STDs) are generally at a higher risk of developing HIV since an STD can cause a sore or a breach in the skin, making it easier for HIV to enter the body [7]. Interestingly, a cohort study in Kenya reported that female sex workers who contracted *N. gonorrhoeae* shortly before or during HIV infection had stronger and better HIV-specific immunity than those who were not co-infected or infected with other sexually transmitted infections (STIs). This clinical observation warrants a possible relationship between *N. gonorrhoeae* infection and HIV resistance [8].

Neisseria gonorrhoeae is a gram-negative bacterium with a lipooligosaccharide

(LOS)-comprising cell membrane, which ought to decrease HIV-1 replication in the natural immunity [9]. *N. gonorrhoeae* outer membrane LOS is composed of three oligosaccharide chains connected to a lipid A core, and because of the lack of a repeating polysaccharide O-side chain, is structurally unique from lipopolysaccharide of other Gram-negative bacteria [10]. LOS induces natural immunity through Toll Like Receptor-4 (TLR4) on dendritic cells (DC) and macrophages as well as non-immune cells, such as fibroblasts and epithelial cells. Stimulation of TLR4 by LOS induces the release of proinflammatory cytokines to activate the natural immune response, particularly lymphocytes. TLR4 activates Nuclear factor-kappa beta (NF- κ B) after recognizing pathogen infection or tissue damage [11], which is required for expression and subsequent signal transduction, and further affects various cellular processes, including the inhibition of HIV replication [12]. This function is performed through the MyD88-independent pathway associated with the induction of dendritic cell maturation, and activation and translocation of NF- κ B transcription factor into the nucleus [13].

Induction of TLR4 by LOS also activates the recruitment of various TIR domain-containing adaptor molecules and induce particular immune responses to eliminate invading pathogens. Several adaptors have been identified in mammals, including TIR domain-containing adaptor-inducing interferon- β (TRIF) and TRIF-related adaptor molecule (TRAM). TRIF is unique to TLR4-mediated signalling pathways. It activates Interferon Regulatory Factor 3 (IRF3) and NF- κ B and induces the production of type I IFN and inflammatory cytokines, leading to direct killing of invading pathogens [14]. IRF3 plays

a major role in upregulating endogenous SAMHD1 expression, a type I interferon inducible host innate immunity restriction factor that inhibits the early steps of the viral life cycle. SAMHD1 blocks the replication of HIV-1 in myeloid lineage cells and functions in hydrolyzing deoxynucleotide triphosphate (dNTP) which further inhibits the reverse transcriptase (RT) of HIV-1 [15].

Our preliminary in silico study showed that *N. gonorrhoeae* LOS showed the strongest binding affinity for TLR4 compared to *E. coli* LPS and laminaran, an active compound of the brown algae LPS. When viewed from the attachment side, these three ligands were found to bind to the same region as eritoran, the control ligand. These results indicated that *N. gonorrhoeae* LOS was capable of inducing inflammation via TLR4, although its binding was not as good as that of eritoran. In this study, we aimed to explore the effect of *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) LOS administration toward HIV replication, as indicated by IFN- β , IRF3, and NF- κ B expression, and HIV p24 level. These might shed light into the interplay of HIV-STI and its implication of future treatment strategies.

Methods

Study Design

This study was an experimental laboratory study with a post-test only control group design method. This study was conducted to observe the effect of *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) LOS in suppressing HIV replication through the NF- κ B, IRF3, and IFN- β pathways in lymphocytes of naïve HIV patients. In this study, the expression of IFN- β , NF- κ B, and IRF3 was measured using the flowcytometry. The level of p24 HIV-1 virus was determined using ELISA. This research protocol has been approved by the Ethics Committee of dr. Saiful Anwar Hospital, Malang, East Java, Indonesia, with ethics number 400/024/K.3/302/2020 dated January 24th, 2020.

Study Participants and Samples

Recruitment of study participants was carried out by screening patients and providing explanations. All participants filled out informed consent forms. Demographic data

was collected by interviews to explore risk factors for HIV infection. History taking, physical examination, and laboratory tests were performed to determine disease stage, opportunistic infections, and other comorbidities.

Blood samples from consenting naïve HIV patients, with confirmed diagnoses according to the WHO criteria, were collected. Twenty millilitres of venous blood were collected in an EDTA vacutainer tube. The tubes were labelled and processed immediately for plasma and monocyte isolation.

Lymphocyte Isolation and Culture

A 15 ml centrifugal bottle (Terumo) was prepared and filled with Ficoll-Hipaque d=1.077 g/ml. The diluted blood sample was carefully layered onto the Ficoll-Hipaque media solution in a volume ratio of 1:1, then centrifuged (Biosan LMC-3000) at room temperature at 1000 rpm for 30 minutes. A sterile pipette was used to remove the upper layer of plasma and platelets, leaving the mononuclear cell (PBMC) layer intact at the interface. The PBMC ring was carefully removed with a micropipette, placed in a new 15 mL centrifuge bottle, and rinsed with 10 ml PBS, before being centrifuged at room temperature for 10 minutes at 1200 rpm, which was repeated twice. PBMC pellets were resuspended with growth medium in a Petri dish and incubated at 37.5% CO₂ for 2 hours. Non-attached cells (lymphocytes) were collected and resuspended in growth medium.

Flowcytometry Examination for the Detection of Surface Markers and Apoptotic Markers of Lymphocytes

Each lymphocyte sample received 20 μ l of BD CD45+/CD3+/CD4+/CD8+ antibody cocktail. To detect apoptosis, a solution of 5 μ l of FITC annexin V and 10 μ l of propidium iodide (PI) were combined with 400 μ l of binding buffer. Each of these suspensions was then mixed with the antibody-treated cell suspension and incubated for 20 minutes. The cells were rinsed with 500 μ l staining buffer and centrifuged at 2500 rpm (350 g). The cell pellet was mixed with 500 μ l of fixation buffer, incubated at 4°C for 20 minutes, and rinsed with 500 μ l staining buffer, followed by

centrifugation at 2500 rpm (350 g). The pellet was mixed with 500 µl of fixation buffer and incubated at 4°C for 20 minutes. After centrifugation at 2500 rpm, the pellet was rinsed with 1 ml of staining buffer and re-centrifuged. Finally, 300 µl of staining buffer was added to the pellet and the suspension was homogenized by vortexing before being transferred to a 5 ml tube for analysis using BD FACS Melody Flowcytometry.

***Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 49226)**

Bacterial Culture

Neisseria gonorrhoeae (ATCC 49226) was obtained as a colony culture from BBLK Surabaya. Gram staining and the oxidase test were used to identify the bacteria, which were subsequently cultivated on modified Thayer Martin agar and incubated at 37°C for 48 hours with 3-10% CO₂. Subcultures were performed until a minimum volume of 500 ml was attained, which was sufficient for LOS extraction and purification.

LOS Extraction and Purification of *Neisseria gonorrhoeae*

Lipooligosaccharide (LOS) was extracted from *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) using a modified hot-phenol water method. The process involved centrifugating 500 ml of bacterial culture at 15,000 g for 1 hour to obtain pellets, which were then suspended in 10 ml of deionized water at 72-75°C. Hot liquid phenol (88%) was added, and the mixture was vortexed, incubated, and centrifuged. After removing the protein interface, the phenol layer was discarded, and the aqueous layer was dialyzed to remove residual phenol in 4°C water for 48 hours, followed by overnight dialysis with Na-EDTA. Finally, LOS was precipitated using 95% ethanol and sodium acetate, left at -20°C overnight, and centrifuged. The resulting pellets were resuspended in 1 ml of water and stored at -20°C.

Identification of *Neisseria gonorrhoeae* LOS

Western blotting was used to identify LOS. For the SDS-PAGE, a 48% polyacrylamide gel was prepared, and samples

with equal protein amounts were loaded into the wells. Electrophoresis was run at 100 V for 1-2 hours. The gel was moistened with transfer buffer and arranged in a transfer cassette for protein transfer onto the nitrocellulose membrane. The membrane was washed, molecular weight bands were marked, and then incubated in blocking solution for 1 hour at room temperature. The membrane was then incubated with primary antibody solution in 1x TBST and 1% BSA for 1 hour at room temperature, followed by three 10-minute washes with 1x TBST. Next, the secondary antibody solution in 1x TBST and 1% BSA was added for 1 hour at room temperature, followed by additional washes. For protein detection, the membrane was incubated with ECL substrate for 1-5 minutes, placed between plastic layers, and exposed to autoradiographic film. The film was then aligned over the blot to visualize the molecular weight ladder (Fig. 1).

Exposure of *Neisseria gonorrhoeae* LOS to Lymphocytes culture

The suspension of *N. gonorrhoeae* LOS was produced in a 0.5% DMSO solvent at a concentration of 1000 µM. Working concentrations of 50, 100, and 200 ng/ml was prepared using standard culture media (RPMI 1640, 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin) as diluent. The suspension of medium and treatment agent was then introduced to the lymphocyte culture.

The lymphocytes were divided into 3 treatment and 2 control groups. The treatment groups, T1, T2, and T3, were exposed to LOS *N. gonorrhoeae* at concentrations of 50 ng/ml, 100 ng/ml, and 200 ng/ml respectively. The positive control (PC) group was exposed to the standard HIV treatment of 300 µM tenofovir disoproxil fumarate (tdf), while the negative control group (NC) did not receive any exposure.

The lymphocytes in all groups were incubated in culture medium containing RPMI 1640, 10% FBS, 1% penicillin, and streptomycin at 37°C for 24 hours, before determining levels of p24, NF-κB, IRF3, and IFN-β expression.

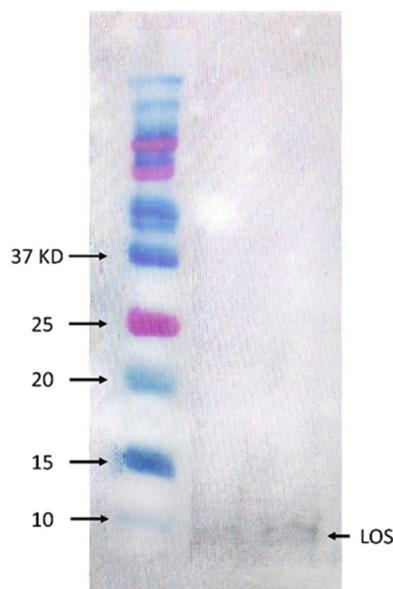


Fig. 1. Western Blot Result for LOS *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) showed molecular size under 10 kDa

Flowcytometry Examination for Determination of NF- κ B, IRF3, and IFN- β Expression

Cells from each well were harvested separately and centrifuged at 220-350 g at 4°C for 5 minutes. The pellets were washed with sterile PBS and centrifuged at 13,000 rpm for 10-20 seconds. Next, they were resuspended in PBS to achieve 10×10^6 cells/ml, incubated with a blocking reagent for 10 minutes, and resuspended in 50 ml PBS to remove antibodies. After centrifugation at 1,000 rpm for 5 minutes, the pellets were resuspended in FCM fixation buffer, incubated for 30 minutes at room temperature, washed with PBS, and centrifuged again. Cold FCM permeabilization buffer was added, vortexed, incubated for 5 minutes, and centrifuged. Then, the pellets were resuspended in FCM wash buffer to 10×10^6 cells/ml, followed by the addition of 1 μ g antibodies per tube (100 μ l of cell suspension). After incubating for 15-30 minutes, excess antibodies were washed off with PBS and centrifuged. Cells were finally resuspended in 500 μ l of 1% paraformaldehyde. The suspension was stored in a dark room for 24 hours, then transferred to a 5 ml tube for analysis by BD FACS Melody Flow Cytometry.

ELISA Examination to Measure HIV p24 Levels

Two-hundred microliters of each control and specimens were added to the respective wells and incubated at 37° C for 60 minutes. After washing, 100 μ l of streptavidin HRP conjugate was added to each well and incubated for 30 minutes at room temperature. The conjugate was removed and washed, followed by the addition of 100 μ l of substrate and incubated at room temperature for 30 minutes. The reaction was stopped by adding 100 μ l of stop. The optical density was immediately read at 450 nm using the microplate reader.

Data Analysis

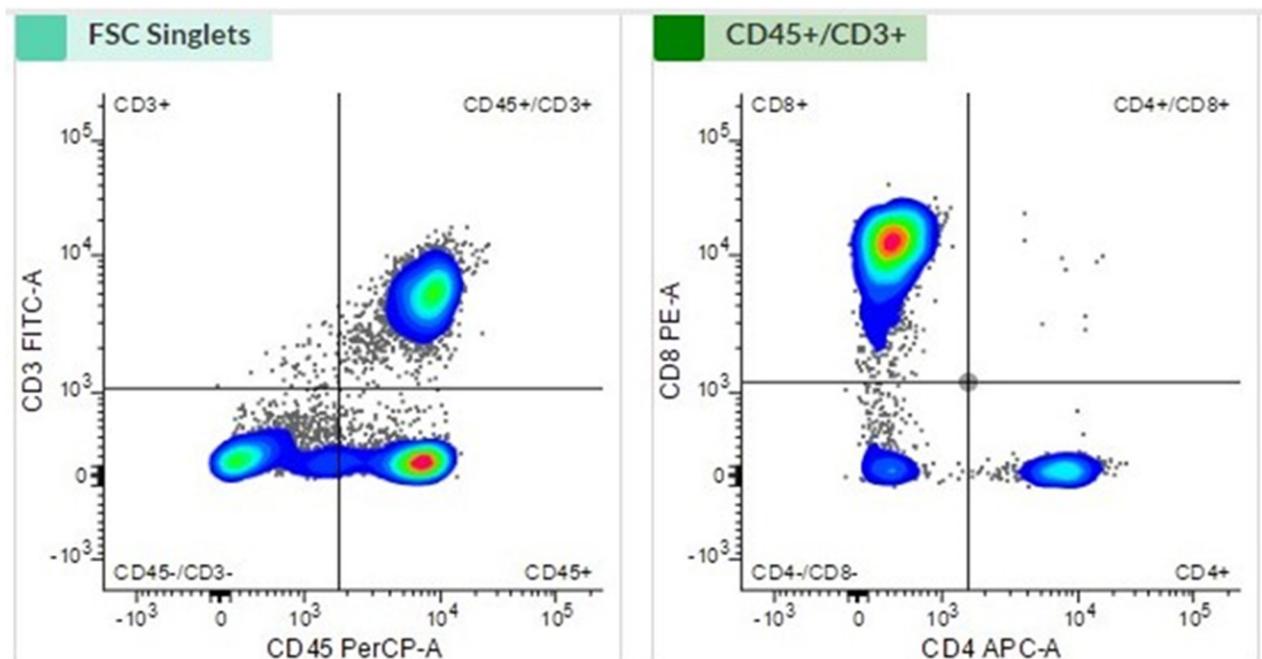
The data were analyzed using SPSS version 24 for Windows, with a significance level set at 0.05 and a 95% confidence level. The comparative hypothesis testing steps included the Kolmogorov-Smirnov normality test and Levene's test for data homogeneity. As the NF- κ B and IRF3 levels were not homogeneously distributed, they were analysed using the Kruskal-Wallis test, followed by a post hoc analysis. The p24 and IFN- β were analysed using One-way ANOVA for the mean difference test.

Results

Lymphocyte Surface Markers

After isolation of PBMC, the lymphocytes were cultured. The identification

of cell surface markers was carried out using flowcytometry to ensure the availability of lymphocyte (CD45+/CD3+/CD4+/CD8+), as shown in Fig. 2.



STATISTICS

Population	Events <input type="checkbox"/>	% Parent <input type="checkbox"/>	% Total <input type="checkbox"/>
All Events	16,120		100.00 %
Scatter	10,007	62.08 %	62.08 %
SSC Singlets	10,005	99.98 %	62.07 %
FSC Singlets	10,000	99.95 %	62.03 %
CD3+	51	0.51 %	0.32 %
CD45+/CD3+	3,407	34.07 %	21.14 %
CD8+	2,631	77.22 %	16.32 %
CD4+/CD8+	9	0.26 %	0.06 %
CD4-/CD8-	322	9.45 %	2.00 %
CD4+	445	13.06 %	2.76 %
CD45-/CD3-	2,550	25.50 %	15.82 %
CD45+	3,992	39.92 %	24.76 %

Fig. 2. Flowcytometry Results for CD45/CD3/CD4/CD8 cell surface markers.

Effect of *Neisseria gonorrhoeae* LOS Exposure on Lymphocyte NF-κB Expression

The expression of NF-κB in each treatment group was examined using the flowcytometry after exposure to *N. gonorrhoeae* LOS. The NF-κB expression in the treatment group is shown in Fig. 3.

The treatment groups had considerably decreased NF-κB expression compared to the negative and positive control groups. The mean expression of NF-κB among the groups

had significant differences ($p=0.025$). The Pearson correlation test showed a strong and significant positive correlation between LOS dose and NF-κB expression ($r=0.704$; $p=0.003$)

Effect of *Neisseria gonorrhoeae* LOS Exposure on Lymphocyte IRF3 Expression

Interferon Regulatory Factor 3 (IRF3) expression in each treatment group was examined using the flowcytometry after exposure to *N. gonorrhoeae* LOS. The IRF3 expression in the treatment group is shown in Fig. 3.

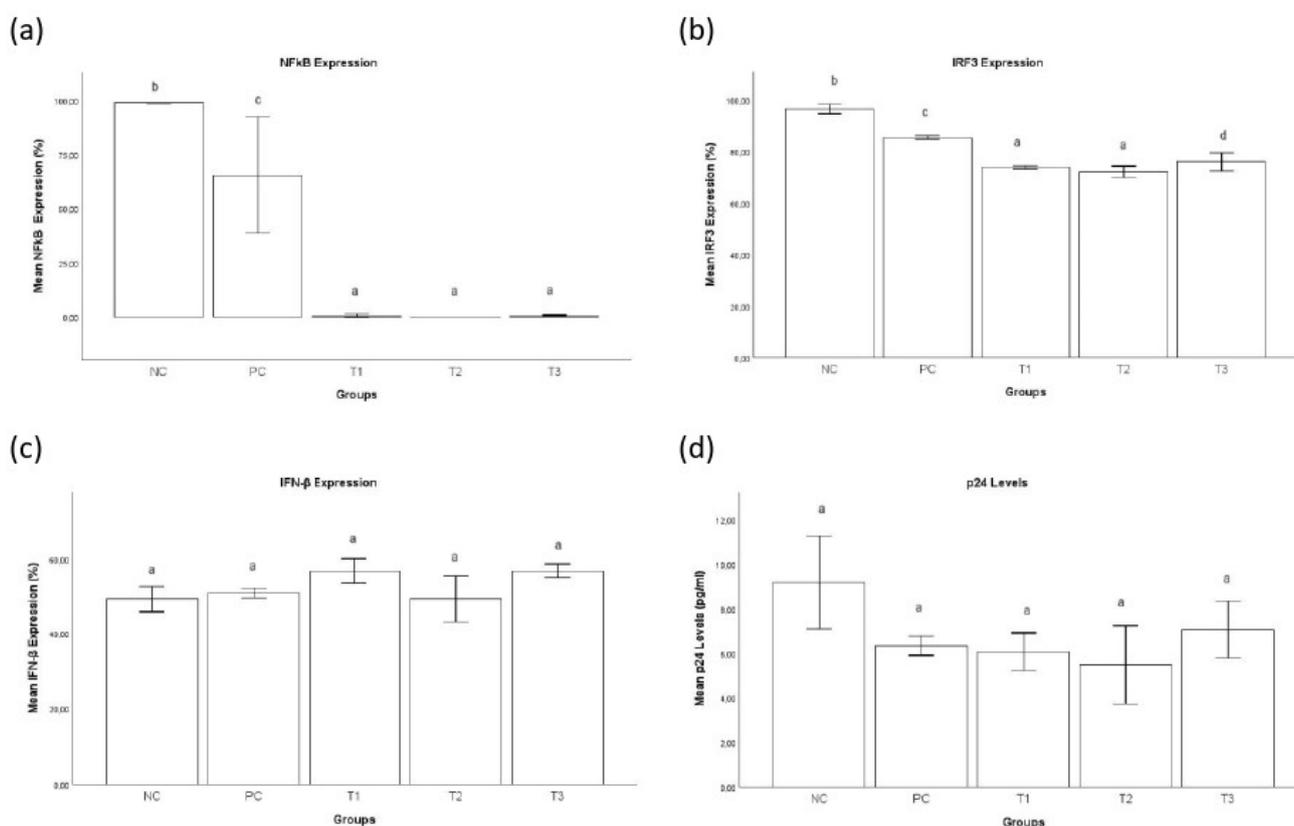


Fig. 3. (a) Histogram of Mean NF-κβ Expression in Each Treatment Group. (b) Histogram of Mean IRF3 Expression in Each Treatment Group. (c) Histogram of Mean IFN-β Expression in Each Treatment Group. (d) Histogram of Mean p24 Level in Each Treatment Group

The IRF3 expression in all the treatment groups was considerably lower compared to negative and positive control groups, and there was a significant difference in mean IRF3 expression between LOS dosages 100 and 200 ng/ml ($p=0.020$). The Pearson correlation test showed a strong and significant positive correlation between LOS dose and IRF3 expression ($r=0.759$; $p=0.001$).

Effect of *Neisseria gonorrhoeae* LOS Exposure on Lymphocyte IFN-β Expression

IFN-β expression in each treatment group was examined using the flow cytometry method after exposure to *N. gonorrhoeae* LOS. The mean of IFN-β expression in the treatment group is shown in Fig. 3.

Despite our premise that LOS would enhance IFN-β expression, all treatment

groups had lower IFN- β expression than the negative control group, however the difference was not significant ($p = 0.051$).

Effect of *Neisseria gonorrhoeae* LOS Exposure on Lymphocyte p24 Level

The p24 level in each treatment group was examined using the ELISA method after exposure to *N. gonorrhoeae* LOS. The mean of p24 level in the treatment group is shown in Fig. 3.

It was found that the p24 level in all treatment groups was lower compared to negative control group, however the differences among treatment groups were not significant ($p=0.068$). The highest p24 level was found in the negative control group, while the lowest was found in treatment group 2 with LOS dose of 100 ng/ml.

Discussion

Flowcytometry Results Lymphocyte Surface Markers

The results of lymphocyte culture flow cytometry showed that 99.95% of cells were lymphocytes consisting of 0.51% CD3+, 77.22% CD8+, 13.06% CD4+ and 39.92% CD45+ cells. Previous studies stated that T lymphocytes in healthy people contain approximately 65% CD4+ and 35% CD8 T lymphocytes. During HIV infection, CD4+ T cells decline and malfunction, whereas CD8 T lymphocytes grow, resulting in a CD4+/CD8 imbalance. People living with HIV with a low CD4/CD8 ratio show more inflammation and immunosenescence. Several researches have looked into whether the CD4/CD8 ratio predicts the risk of mortality in people living with HIV. Some studies have identified a substantial relationship between a low CD4/CD8 ratio and an increased risk of mortality [16].

***Neisseria gonorrhoeae* LOS strongly reduced lymphocytes NF- κ B expression of naïve HIV patients**

A previous study stated that LOS stimulation on monocyte-derived macrophage (MDM) will activate several transcription factors including NF- κ B and AP-1. These active transcription factors will induce several host factors such as proinflammatory cytokines, chemokines and host cell protective

factors [17]. In this study LOS of *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) strongly reduce lymphocytes NF- κ B expression, potentially through several mechanisms such as inhibiting kinase activity, preventing nuclear translocation of p65, inhibiting nuclear p65 activation, and post-translational modification. [18]. The reduction of NF- κ B expression was also identified in the positive control group that treated with standard therapy.

It is known that NF- κ B acts as a major inflammatory mediator in immune cells. Regulation of NF- κ B activation is vital in various inflammatory diseases, therefore approaches related to inhibition of NF- κ B signaling pathway have been widely investigated as therapeutic targets by inhibition of key components of the canonical NF- κ B pathway to block its downstream targets or upstream stimulators Several methods to inhibit NF- κ B have been proposed, such as increasing the selective amount of IKK inhibitors to prevent I κ B α phosphorylation. The therapeutic approaches targeting NF- κ B signaling through various points involving the receptor, IKK complex, gene transcription, post-translation or at any steps in between. This has been accomplished using small molecules, peptides, oligonucleotides, monoclonal antibodies (mAbs), proteasome inhibitors, nuclear translocation inhibitors, DNA binding inhibitors, and small interfering RNA (siRNA) [19, 20].

***Neisseria gonorrhoeae* LOS reduced lymphocytes IRF3 expression of naïve HIV patients**

The activation of TLR4 is expected to phosphorylate IRF3 which will in turn induce the production of type I IFN. Therefore, in this study the exposure to *N. gonorrhoeae* LOS in the treatment group is expected to increase IRF3 expression in lymphocytes, however the result of this study showed the reduction of IRF3 expression. The possible factor that causes low IRF3 expression is the inactivation of the IRF3 transcription factor due to autoinhibition after exposure to *N. gonorrhoeae* LOS. Excessive IRF3

activation causes hyperphosphorylation of some serine in the signal response domain (SRD) which causes autoinhibition [21].

Viral inflammation contributes to pathogenesis and mortality during virus infections. IRF3, a critical component of innate antiviral immune responses, interacts with pro-inflammatory transcription factor NF- κ B, and inhibits its activity [22]. Following viral infection, the virion constituents, particularly viral nucleic acids, are sensed by pathogen recognition receptors (PRRs). These receptors use adaptor proteins to stimulate a signal transduction pathways that sequentially triggers the next molecule downstream in the pathway ultimately culminating in the activation of IRF3 [23].

As the key component of antiviral immunity, IRF3 activity must be carefully regulated to ensure a strong immune response to viral infection. However, IRF3 is implicated in the generation of inflammatory cytokines, which can be harmful to the host. As a result, the ability to quickly activate and deactivate IRF3 is critical to maintaining immunological homeostasis. The body ensures that IRF3 activity returns to basal levels by degrading the IRF3 protein, thereby avoiding severe inflammation. A mechanism has been documented whereby apoptotic caspases break down IRF3, resulting in its destruction by the proteasome [24].

This study predicted the role of the MyD88 pathway in the low expression of IRF3 in the treatment group. TLR4 stimulation will activate two downstream pathways, namely the MyD88 dependent pathway mediated by the TIRAP adapter protein which ultimately activates NF- κ B, as well as the independent MyD88 pathway mediated by the TRAM adapter protein which stimulates the factor phosphorylation. Transcription of IRF3 stimulates the production of type I IFN sequentially [21]. In this study, the pathway that is expected to be activated is the independent MyD88 pathway which increases the IRF3 phosphorylation.

***Neisseria gonorrhoeae* LOS did not increase IFN- β expression in lymphocytes of naïve HIV patients**

In contrast to IRF3, the IFN- β expression in the treatment group did not differ from that in the negative control group. It was possible due to the use of purified LOS since whole-cell bacterial challenge is more stimulatory than challenge with purified LOS. The previous study demonstrated that the carbohydrate structures of LOS play an important role in disease pathogenesis. Although alterations in the carbohydrate moiety of LOS do not impact the production of most cytokines by human monocytes, modifications to the oligosaccharide could alter gonococcal–host cell interactions. This is because the lipid A portion of the LOS is responsible for immunological activation [25].

There is increasing evidence that the overall outcome of IFN- β responses can be advantageous or deleterious to the host, depending on the timing, quantity, and source of IFN- β production, as well as the unique biological environment. Further research is needed to understand the spatiotemporal induction of the various type I IFN subtypes *in vivo*, as well as the cell types responsible for type I IFN production. A significant study has created RNA-lipoplexes containing neoantigens or endogenous self-antigens, which resulted in rapid and robust IFN production [26].

***Neisseria gonorrhoeae* LOS did not reduce the level of p24 in supernatant of lymphocytes culture of HIV-naïve patients**

This result differed from the earlier work which used *N. gonorrhoeae* MS11-derived strains that successfully suppresses HIV-1 replication [27]. It is important to consider that the gonococci are unique as their biological niche overlaps with the primary site of HIV exposure in both the male and female urogenital tracts. Taken together, the studies to date suggest that *N. gonorrhoeae* stimulates HIV-1 replication by upregulating host cellular activation pathways that lead through NF- κ B in the infected CD4⁺ T cell, while simultaneously stimulating anti-viral

immunity by eliciting a potent IFN- α ; the cumulative result of these opposing effects will ultimately determine the outcome in a co-infected individual [28].

Conclusion. It could be concluded from this study that exposure of LOS from *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) to lymphocytes of naïve HIV patients had significant effects on reducing NF- κ B and IRF3 expression, but had no effect on IFN- β and p24 expression levels. These findings may help to understand the immunopathogenesis of HIV co-infections and the use of LOS from a non-pathogen source as a replacement to suppress inflammatory signalling pathways, thereby preventing viral inflammation.

Financial support

This project was funded by the grant of the Research and Community Service Unit, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya, with grant number 3125/UN10.F08/PN/2021.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. UNAIDS. HIV and AIDS-Basic facts [Internet]. 2023 [cited 2024 Sep 22]. Available from: <http://www.cdc.gov/epo/dphsi/print/aids1993.htm>
2. Waymack JR, Sundareshan V. Acquired Immune Deficiency Syndrome. [Updated 2023 May 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [cited 2024 Sep 22]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537293/>
3. UNAIDS. 2023. Global HIV statistics [Internet] [cited 2024 Sep 22]. Available from: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf
4. UNAIDS. 2023. Country factsheets: HIV and AIDS Estimates [Internet] [cited 2024 Sep 22]. Available from: <https://www.unaids.org/en/regionscountries/countries/indonesia>
5. WHO. Sexually transmitted infections (STIs) [Internet]. 2023 [cited 2024 Sep 22]. Available from: [\[room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\\(stis\\)\]\(#\)](https://www.who.int/news-</div><div data-bbox=)

6. Nagata JM, Sajjad OM, Dhama S, et al. Progress and challenges of HIV and other STIs in adolescents and young adults. *The Lancet Child and Adolescent Health*. 2022;6(11):748-749. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2352-4642\(22\)00256-5](https://doi.org/10.1016/s2352-4642(22)00256-5)

7. HIVinfo.NIH.gov. HIV and Sexually Transmitted Diseases (STDs) [Internet] [cited 2024 Sep 22]. Available from: <https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-and-sexually-transmitted-diseases-stds>

8. Sheung A, Rebbapragada A, Shin LYY, et al. Mucosal *Neisseria gonorrhoeae* coinfection during HIV acquisition is associated with enhanced systemic HIV-specific CD8 T-cell responses. *AIDS*. 2008;22(14):1729-1737. DOI: <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32830baf5e>

9. Liu FL, Zhu JW, Mu D, et al. Lipopolysaccharide suppresses human immunodeficiency virus 1 reverse transcription in macrophages. *Archives of Virology*. 2016;161(11):3019-3027. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3000-y>

10. Green LR, Cole J, Parga EFD, et al. *Neisseria gonorrhoeae* physiology and pathogenesis. *Advances in Microbial Physiology*. 2022;80:35-83. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2022.01.002>

11. Liu X, Mosoian A, Li T, et al. Gonococcal Lipooligosaccharide Suppresses HIV Infection in Human Primary Macrophages through Induction of Innate Immunity. *Journal of Infectious Diseases*. 2006;194(6):751-759. DOI: <https://doi.org/10.1086/506360>

12. Devadas K, Hewlett IK, Dhawan S. Lipopolysaccharide suppresses HIV-1 replication in human monocytes by protein kinase C-dependent heme oxygenase-1 induction. *Journal of Leukocyte Biology*. 2010;87(5):915-924. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0307172>

13. Bagaev AV, Garaeva AY, Lebedeva ES, et al. Elevated pre-activation basal level of nuclear NF- κ B in native macrophages accelerates LPS-induced translocation of cytosolic NF- κ B into the cell nucleus. *Scientific Reports*. 2019;9(1):4563. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36052-5>

14. Zhu S, Xiang X, Xu X, et al. TIR Domain-Containing Adaptor-Inducing Interferon- β (TRIF) Participates in Antiviral Immune Responses and Hepatic Lipogenesis of Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). *Frontiers*

in Immunology. 2019;10:2506. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02506>

15. Yang S, Zhan Y, Zhou Y, et al. Interferon regulatory factor 3 is a key regulation factor for inducing the expression of SAMHD1 in antiviral innate immunity. *Scientific Reports*. 2016;6:29665. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep29665>

16. Martínez-Sanz J, Díaz-Álvarez J, Rosas M, et al. Expanding HIV clinical monitoring: the role of CD4, CD8, and CD4/CD8 ratio in predicting non-AIDS events. *eBioMedicine*. 2023;95:104773. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104773>

17. Zhang H, Sun SC. NF- κ B in inflammation and renal diseases. *Cell and Bioscience*. 2015;5:63. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13578-015-0056-4>

18. Giridharan S, Srinivasan M. Mechanisms of NF- κ B p65 and strategies for therapeutic manipulation. *Journal of Inflammation Research*. 2018;11:407-419. DOI: <https://doi.org/10.2147/jir.s140188>

19. Guo Q, Jin Y, Chen X, et al. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024;9:53. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01757-9>

20. Ramadass V, Vaiyapuri T, Tergaonkar V. Small molecule nf-kb pathway inhibitors in clinic. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(14):5164. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21145164>

21. Petro TM. IFN Regulatory Factor 3 in Health and Disease. *Journal of Immunology*. 2020;205(8):1981-1989. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000462>

22. Chakravarty S, Varghese M, Fan S, et al. IRF3 inhibits inflammatory signaling pathways in macrophages to prevent viral pathogenesis. *Science Advances*. 2024;9;10(32):2858. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.adn2858>

23. Al Hamrashdi M, Brady G. Regulation of IRF3 activation in human antiviral signaling pathways. *Biochemical Pharmacology*. 2022;200:115026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115026>

24. Glanz A, Chakravarty S, Fan S, et al. Autophagic degradation of IRF3 induced by the small-molecule auranofin inhibits its transcriptional and proapoptotic activities. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;297(5):101274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101274>

25. Patrone JB, Stein DC. Effect of gonococcal lipooligosaccharide variation on human monocytic cytokine profile. *BMC Microbiology*. 2007;7:7. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-7>

26. Fox LE, Locke MC, Lenschow DJ. Context Is Key: Delineating the Unique Functions of IFN α and IFN β in Disease. *Frontiers in Immunology*. 2020;21(11):606874. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.606874>

27. Dobson-Belaire WN, Rebbapragada A, Malott RJ, et al. *Neisseria gonorrhoeae* effectively blocks HIV-1 replication by eliciting a potent TLR9-dependent interferon- α response from plasmacytoid dendritic cells. *Cellular Microbiology*. 2010;12(12):1703-1717. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2010.01502.x>

28. Jarvis GA, Chang TL. Modulation of HIV Transmission by *Neisseria gonorrhoeae*: Molecular and Immunological Aspects. *Current HIV Research*. 2012;10(3):211-217. DOI: <https://doi.org/10.2174/157016212800618138>

Received 22 September 2024

Revised 28 October 2024

Accepted 15 November 2024

Information about the authors

Niniek Budiarti, Lecturer at the Department of Internal Medicine, and a student at the Doctoral Program in Medical Science, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya, Dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia, E-mail: niniek_budiarti.fk@ub.ac.id, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7431-5513>.

Loeki E. Fitri, Professor at the Department of Clinical Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya, Dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia, E-mail: lukief@ub.ac.id, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4880-1048>.

Handono Kalim, Professor at the Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya/Dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia, E-mail: Hklim333@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3827-5275>.

Nuning Winaris, Lecturer at the Department of Clinical Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia, E-mail: nuning_winaris@ub.ac.id, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5941-7095>.

Aulia R. Pawestri, Lecturer at the Department of Clinical Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia, E-mail: aulia_rp@ub.ac.id, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8308-9930>.

Dewi Santosaningsih, Lecturer at the Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine/ , Universitas Brawijaya/Dr. Saiful Anwar General Hospital, Malang, Indonesia, E-mail: dewi.santosa@ub.ac.id, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0156-6976>.

Aristika Dinaryanti, Researcher, Stem Cell Research and Development Center, Universitas

Airlangga, Surabaya, Indonesia, E-mail: Aristikadinar@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7114-5846>.

Siti Q. Khairunisa, Researcher, Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia, E-mail: skhairunisa@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0006-4229>.

Nasronudin, Professor, Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia, E-mail: nasronudindr@yahoo.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7882-9992>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-5

УДК 615

Evaluation of efficacy of selective phenolic compounds of olive leaves in chronic myeloid leukemia: an in-silico approach

Riaz Hossain , Nishan Shorif , Sifat Foysal , Mohammad N. Islam 

International Islamic University Chittagong,
Kumira-1318, Chittagong, 4000, Bangladesh

Corresponding author: Mohammad N. Islam (*nazmul@iiuc.ac.bd*)

Abstract

Background: Chronic myeloid leukemia (CML) is a blood cancer driven by the BCR-ABL1 fusion protein, where current therapies face challenges like resistance and side effects. Olive leaves contain phenolic compounds, which have shown anti-cancer potential. **The aim of the study:** To use molecular docking analysis to compare the molecular interactions of selected phenolic compounds in olive leaf extract and Imatinib with the active sites of the Breakpoint Cluster Region (BCR)-Abelson (ABL) fusion protein to identify safer and cost-effective therapeutic candidates for Chronic Myeloid Leukemia (CML). **Materials and methods:** In this work, we assessed the biological activity of the test substances in silico using the PASS online server. ADME analysis was performed utilizing the SwissADME free online web server, and a toxicology study was done using the AdmetSAR online server. For the in silico molecular docking investigation, the protein structure of the BCR-ABL fusion protein was obtained from the Protein Data Bank (PDB) website, while the ligand structures were obtained from the PubChem website. The binding energy (kcal/mol) was determined using the Autodock Vina software. The protein-ligand interactions were examined using the Discovery Studio Visualizer. **Results:** In silico molecular docking experiments show that verbascoside, uvaol, loganic acid, secologanin, and cinnamic acid have a high binding affinity to the BCR-ABL protein, with binding energies of -9.2, -9.7, -8.7, -7.3, and -7.4, respectively, which are very close to the binding affinity of the standard medication Imatinib, which has a binding energy of -10.3 Kcal/mol. ADMET analysis and PASS prediction validate the following compounds drug-like properties, i.e., anti-carcinogenic, anti-neoplastic, and anti-neoplastic, along with maintaining Lipinski's rule of five. **Conclusion:** The binding affinity of some test compounds compared to Imatinib, as well as their interactions with amino acid residues at the active sites of the BCR-ABL fusion protein, suggest that verbascoside, uvaol, loganic acid, secologanin, and cinnamic acid may bind selectively to CML cells, inhibiting their proliferation and acting as a novel anti-CML agent.

Keywords: olive leaves; phenolic compound; chronic myeloid leukemia; PASS prediction; SwissADME; molecular docking; Autodock Vina; verbascoside; uvaol; loganic acid; secologanin; and cinnamic acid

For citation: Hossain R, Shorif N, Foysal S, et al. Evaluation of efficacy of selective phenolic compounds of olive leaves in chronic myeloid leukemia: an in-silico approach. Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):64-80. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-5

Introduction. Cancer is caused by changes in the human genome that increase cellular proliferation and disrupt normal routes and systems. Cancer is the second-leading cause of mortality globally [1]. One type of cancer, leukemia, is a category of hematological illnesses that cause the unregulated and abnormal proliferation of leukocytes [2].

Leukemia and the nervous system

Cancer is the leading cause of death in males under the age of 40 and women below the age of 20 [3]. In 2020, approximately 60,530 new cases of leukemia were diagnosed, and 23,100 people were expected to die from this malignancy [4]. Chronic myeloid leukemia (CML), a kind of leukemia, is one of the blood illnesses known as "myeloproliferative syndromes." It is characterized by an increase in white blood cell production in the bone marrow. Some of these blood cells are abnormal; they are immature, meaning they are not fully developed when they reach the bloodstream. With an estimated frequency of one to two cases per 100,000 people, it accounts for around 15% of newly diagnosed leukemia in adults [5]. It was projected that over 9000 new CML cases would be detected in the United States in 2017, with approximately 1000 people dying from the disease [6]. The incidence of CML in the United States has risen from an estimated 25-30,000 cases in 2000 to a projected 80-100,000 cases in 2017 and will reach a peak of roughly 180,000 cases by 2030 [7]. CML is caused by a reciprocal translocation of chromosomes 9 and 22, resulting in the Breakpoint Cluster Region (BCR)-Abelson (ABL) oncogene, which produces a BCR-ABL fusion protein when translated [8, 9, 10]. The BCR-ABL chimeric oncogenic protein activates tyrosine kinase, causing leukemic cells to phosphorylate downstream effector molecules like Grb2, RAK, ROS, PI3K, JNK, STAT5, AKT, and Myc. This leads to uncontrolled cell proliferation via various signaling pathways [11, 12, 13]. BCR-ABL, a 210-kD protein with tyrosine kinase activity, is a possible target for discovering new anti-CML medicines [10].

Imatinib, a small-molecule inhibitor, has been effective in treating CML by targeting Abl kinase. Imatinib is a first-generation type II kinase inhibitor that targets the ATP-binding region of Abl kinase to reduce its activity [14]. Imatinib is both efficacious and well tolerated in patients with Ph⁺ CML. Imatinib outperformed interferon- α with cytarabine in stopping disease progression and obtaining haematological and cytogenetic responses in patients with newly diagnosed chronic-phase CML. It is still an effective therapy for all phases of the illness, particularly for newly diagnosed Ph⁺ chronic-phase CML, and is recommended as a first-line choice in European and US treatment recommendations [15]. But mutations in the Abl kinase domain can hinder Imatinib therapy by preventing the medication from binding to the binding site over time [16, 17]. Also, chemotherapy side effects and cancer cell resistance pose challenges for cancer treatment [18]. Therefore, we used Imatinib as a standard and designed the study for investigating potential anti-cancer drugs from the medicinal plant.

Plants are an infinite supply of several types of biologically active chemicals [19]. Phytochemicals like polyphenols, flavones, phenols, and flavonoids have been shown to have anti-cancer characteristics and can be utilized to treat many cancer types [20]. Studies (human, animal, in vivo, and in vitro) have indicated that phenolic compounds have favorable effects on plasma lipoproteins, oxidative damage, inflammatory indicators, platelet and cellular function, antibacterial activity, and bone health [21]. Olive tree (*Olea europaea*) leaves have been used in folk medicine to treat inflammation, allergies, diarrhea, and diseases like Alzheimer's, chronic fatigue syndrome, and osteoarthritis in the European Mediterranean, India, the Arabian Peninsula, and other tropical and subtropical regions [22]. Olive leaf extract (OLE) has unique phytochemicals that improve health results compared to olive fruit [23]. It has been proposed that the OLE plays an important protective role in inhibiting the proliferation of several cancer cell lines, including pancreatic, leukemia, breast,

prostate, and colorectal [24]. Olive leaf contains bioactive chemicals that have been examined for their ability to suppress cancer progression and development, making it a promising target for future anticancer agents [1].

Drug development is a time-consuming and costly process with limited success and high attrition rates [25]. *In silico* approaches, such as structural bioinformatics, virtual screening, molecular dynamics, molecular docking, and comparative analysis of compounds with confirmed inhibitory effects, are highly cost-effective and versatile in drug discovery and biological research [26, 27, 28]. Molecular docking is a time-saving drug development approach that predicts ligand-receptor binding affinity and optimal orientation/pose during stable complex formation. Molecular docking can identify active chemicals that do not fit well into binding sites [29]. In this study, we utilized *in silico* approaches such as (i) pharmacoinformatics to predict the toxicity, anticancer, and pharmacokinetic properties of the selected phytochemicals and (ii) molecular docking of 11 OLE phenolic compounds selected from Qais et al. [1] to identify promising candidates capable of interacting with and potentially inhibiting the activity of the BCR-ABL oncoprotein.

The aim of the study. This study aims to identify the potential lead phytochemicals from OLE to combat chronic myeloid leukemia in the coming future.

Materials and methods

Computer Configuration

The PC utilized in the current study was an Acer Aspire 7 laptop functioning Windows 11, with an AMD Ryzen 5 5500U CPU running at 2.1 GHz and 8 gigabytes of random access memory.

PASS Prediction

The anti-neoplastic, anti-carcinogenic, and anti-leukemic capabilities of the obtained phytochemicals were predicted using the PASS online service (<https://www.way2drug.com/passonline/>). The PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) algorithm assigns p values to

similarity measurements based on whether anticancer activity is more or less likely [30]. With a false-positive rate of 0.05, it may achieve up to 65% accuracy. We used the PubChem website to obtain the canonical SMILES of chemicals for our investigation.

ADMET Analysis

Analysis of ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicology) characteristics plays a crucial role in rational drug design and development. These parameters provide valuable information about the toxicity and effectiveness of drugs. An effective drug must have appropriate solubility, permeability to the tissue, and stability [31]. *In silico* methods are less expensive and faster than experimental methods for estimating ADMET values. We used the SwissADME online server (<http://www.swissadme.ch/>) to calculate the needed criteria for the desired compounds in ADME [32]. To examine the toxicological features of chosen chemicals, we used the free online web application AdmetSAR (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>) [33].

Protein preparation

The structure of the BCR-ABL (PDB ID: 5MO4) protein has been obtained from the PDB (protein data bank) online website (<https://www.rcsb.org/>) at a resolution of 2.17 Å. The protein's structure was available in PDB format. The protein structure is translated from PDB to PDBQT format using Autodock tools (1.5.6). Before conversion, the water molecules from the protein structure were removed. We used polar hydrogen atoms and repaired missing atoms. Kollman charges were incorporated into the protein structure, and they were dispersed evenly. The resulting PDBQT structure was saved [34, 35].

Ligand preparation

Ligand structures consisting of 11 phenolic OLE compounds and the standard anti-CML drug Imatinib have been obtained from the PubChem online website (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). The 3D structures of the ligand include Verbascoside (PubChem CID: 5281800); Uvaol (PubChem CID: 92802); Loganic acid (PubChem CID: 89640); Secologanin (PubChem CID:

161276); Ferulic acid (PubChem CID: 445858); Hydroxytyrosol (PubChem CID: 82755); Gallic acid (PubChem CID: 370); Coumaric acid (PubChem CID: 637542); Homovanillyl alcohol (PubChem CID: 16928); Cinnamic acid (PubChem CID: 444539); Tyrosol (PubChem CID: 10393); and Imatinib (PubChem CID: 5291). The structures of the ligands were in SDF format. Using OpenBabel software, the SDF format can be converted into the PDB format [36]. The PDB format of the ligand structures is converted to the PDBQT format by using Autodock tools (1.5.6) [4].

Molecular docking

In order to identify new potent inhibitors of tyrosine kinase, docking simulation was done, and the calculation of binding energies was performed using Autodock Vina. Autodock Vina is open-source software for molecular docking in silico. Dr. Oleg Trott from The Scripps Research Institute's molecular graphics department conceived and implemented the system [37]. This was done to forecast the binding energy scores for the interactions between the targeted protein ligands. The Autodock Vina program now uses the identified binding sites of amino acid residues from specific proteins. The docked

confirmations with the highest fitness score were used to analyze the binding mode. Firstly, the grid box with the following dimensions was set to cover the protein structure with the following dimensions in Å: center (X = -33.722, Y = 19.579, Z = -8.128), dimension (X = 74, Y = 68, Z = 70) with an exhaustiveness of 8. After running the Autodock Vina software, binding energies were measured, recorded, and displayed. Finally, Discovery Studio Visualizer v21 was used to analyze docking and generate images of the protein-ligand complexes [38, 39].

Results

PASS Prediction

The PASS Online program was used to identify probable cellular targets of OLE phytochemicals before docking analysis.

We used PASS Online to predict anticancer efficacy based on three primary parameters: anti-carcinogenic, anti-neoplastic, and anti-leukemic. The PASS Online server predicts complex biological activities and provides indicators of activity or inactivity [30]. There is a probability of either biological activity (Pa) or biological inactivity (Pi). Table 1 shows the projected anticancer characteristics of OLE compounds.

Beginning of Table 1

Anti-cancer predictions of the phytochemicals present in the olive leaf extract (OLE) using Way2Drug (pass) server

Compound Name	Parameters	Pa	Pi
Verbascoside	Anti-carcinogenic	0.925	0.002
	Anti-neoplastic	0.814	0.01
	Anti-leukemic	0.483	0.016
Uvaol	Anti-carcinogenic	0.329	0.048
	Anti-neoplastic	0.907	0.005
	Anti-leukemic	0.616	0.008
Loganic acid	Anti-carcinogenic	0.515	0.018
	Anti-neoplastic	0.817	0.01
	Anti-leukemic	0.176	0.09
Secologanin	Anti-carcinogenic	0.409	0.029
	Anti-neoplastic	0.5	0.071
	Anti-leukemic	0.127	0.125
Ferulic acid	Anti-carcinogenic	0.616	0.012
	Anti-neoplastic	0.601	0.045
	Anti-leukemic	0.39	0.027
Hydroxytyrosol	Anti-carcinogenic	0.361	0.038
Gallic acid	Anti-carcinogenic	0.395	0.031
	Anti-neoplastic	0.313	0.145
	Anti-leukemic	0.168	0.095
Coumaric acid	Anti-carcinogenic	0.559	0.015

End of Table 1

Anti-cancer predictions of the phytochemicals present in the olive leaf extract (OLE) using Way2Drug (pass) server

Compound Name	Parameters	Pa	Pi
	Anti-neoplastic	0.52	0.065
	Anti-leukemic	0.261	0.056
Homovanillyl alcohol	Anti-carcinogenic	0.384	0.033
	Anti-neoplastic	0.321	0.14
	Anti-leukemic	0.218	0.071
Cinnamic acid	Anti-carcinogenic	0.459	0.023
	Anti-neoplastic	0.455	0.085
	Anti-leukemic	0.271	0.052
Tyrosol	Anti-carcinogenic	0.347	0.042
Imatinib	Anti-neoplastic	0.52	0.066
	Anti-leukemic	0.21	0.074

ADMET Analysis

SwissADME estimates ADME and the drugability potency of substances using biological characteristics. The ADME characteristics of the chosen compounds indicated drug-like qualities and potential

therapeutic applications. The ADME results are reported in Table 2. Based on their toxicity characteristics, the investigated chemicals were determined to be non-AMES harmful and non-carcinogenic. Table 3 summarizes the toxicological features of the identified phytochemicals.

Table 2

Evaluation of the ADME properties of the phytochemicals present in the olive leaf extract (OLE) using SwissADME web server

Compound	Molecular weight (g/mol)	Water Solubility (mg/ml)	Log Po/w	GI absorption	BBB permeant	Lipinski violation
Verbascoside	624.59	8.36e-01	3.00	Low	No	3
Uvaol	442.72	2.84e-05	4.61	Low	No	1
Loganic acid	376.36	5.54e+01	1.26	Low	No	1
Secologanin	388.37	7.76e+01	1.61	Low	No	0
Ferulic acid	194.18	1.49e+00	1.62	High	Yes	0
Hydroxytyrosol	154.16	3.75e+01	1.28	High	No	0
Gallic acid	170.12	3.90e+00	0.21	High	No	0
Coumaric acid	164.16	1.58e+00	0.95	High	Yes	0
Homovanillyl alcohol	168.19	7.50e+00	1.86	High	Yes	0
Cinnamic acid	148.16	6.29e-01	1.55	High	Yes	0
Tyrosol	138.16	7.26e+00	1.40	High	Yes	0

Note: GI – gastrointestinal; BBB – blood brain barrier; Log Po/w – Lipophilicity; Lipinski violation: (Molecular weight ≤ 500; H-bond donors ≤ 5; H-bond acceptor ≤ 10).

Beginning of Table 3

Toxicity properties analysis of selected ligands compounds

Compound	AMES toxicity	Carcinogens	Biodegradation	Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Acute Oral Toxicity	Rat Acute Toxicity (LD50, mol/kg)
Verbascoside	No	No	Not readily biodegradable	Weak	III	2.06
Uvaol	No	No	Not readily biodegradable	Weak	III	1.73
Loganic acid	Yes	No	Not readily biodegradable	Weak	III	2.75

End of Table 3

Toxicity properties analysis of selected ligands compounds

Compound	AMES toxicity	Carcinogens	Biodegradation	Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Acute Oral Toxicity	Rat Acute Toxicity (LD50, mol/kg)
Secologanin	No	No	Readily biodegradable	Weak	III	2.15
Ferulic acid	No	No	Readily biodegradable	Weak	IV	1.43
Hydroxytyrosol	No	No	Readily biodegradable	Weak	III	1.83
Gallic acid	No	No	Readily degradable	Weak	III	1.86
Coumaric acid	No	No	Readily degradable	Weak	III	1.36
Homovanillyl alcohol	No	No	Readily degradable	Weak	III	1.76
Cinnamic acid	No	No	Readily degradable	Weak	III	1.74
Tyrosol	No	No	Readily degradable	Weak	III	2.00

Molecular Docking

In silico molecular docking experiments demonstrate that verbascoside, uvaol, loganic acid, secologanin, and cinnamic acid have a high binding affinity to the BCR-ABL protein, with binding energies of -9.2, -9.7, -8.7, -7.3, and -7.4, respectively, which are extremely near the binding affinity of the standard medication Imatinib, which has a binding

energy of -10.3 Kcal/mol. The interactions between the chemicals and the amino acid residues are pretty interesting. Table 4 lists the amino acid residues to which the compounds bind, as well as the ligands' binding energies. Figure 1 to Figure 12 demonstrate ligand-protein and 2D interactions between the BCR-ABL and desired compounds.

Table 4

The docking score and interaction of amino acid residue with test compounds and standard compound against BCR-ABL fusion protein

Protein	Ligand	Docking Score (Kcal per Mol)	Interacted amino acid residue
BCR-ABL	Verbascoside	-9.2	TYR 89, HIS 148, VAL 151, LEU 159, ASN 240, THR 243, GLN 319, GLU 335, THR 364, GLN 365
	Uvaol	-9.7	LEU 159, ARG 239, ASN 240, TYR 361
	Loganic acid	-8.1	HIS 114, TRP 118, TYR 245, SER 248, TYR 251, ASP 252, LYS 253, TRP 254, GLU 311
	Secologanin	-7.3	SER 248, ASN 250, TYR 251, ASP 252, TRP 254, GLU 311
	Ferulic acid	-6.2	PHE 91, VAL 92, PRO 242, VAL 247, LEU 285
	Hydroxytyrosol	-5.6	TYR 272, VAL 275, ALA 288, MET 337, LEU 389, PHE 401
	Gallic acid	-6.4	ASN 113, HIS 114, ASN 115, TRP 118, ASP 252
	Coumaric acid	-6.4	VAL 244, VAL 247
	Homovanillyl alcohol	-5.8	HIS 114, ASN 115, TRP 118, SER 248, TRP 254
	Cinnamic acid	-7.4	TRY 272, VAL 275, ALA 288, LEU 389, PHE 401
	Tyrosol	-5.6	VAL 244, VAL 247, GLU 335
Imatinib	-10.3	PHE 91, HIS 148, LYS 238, LYS 241, PRO 242, TMR 243, VAL 244, VAL 247, LEU 285, LEU 321, GLU 335, LEU 395	

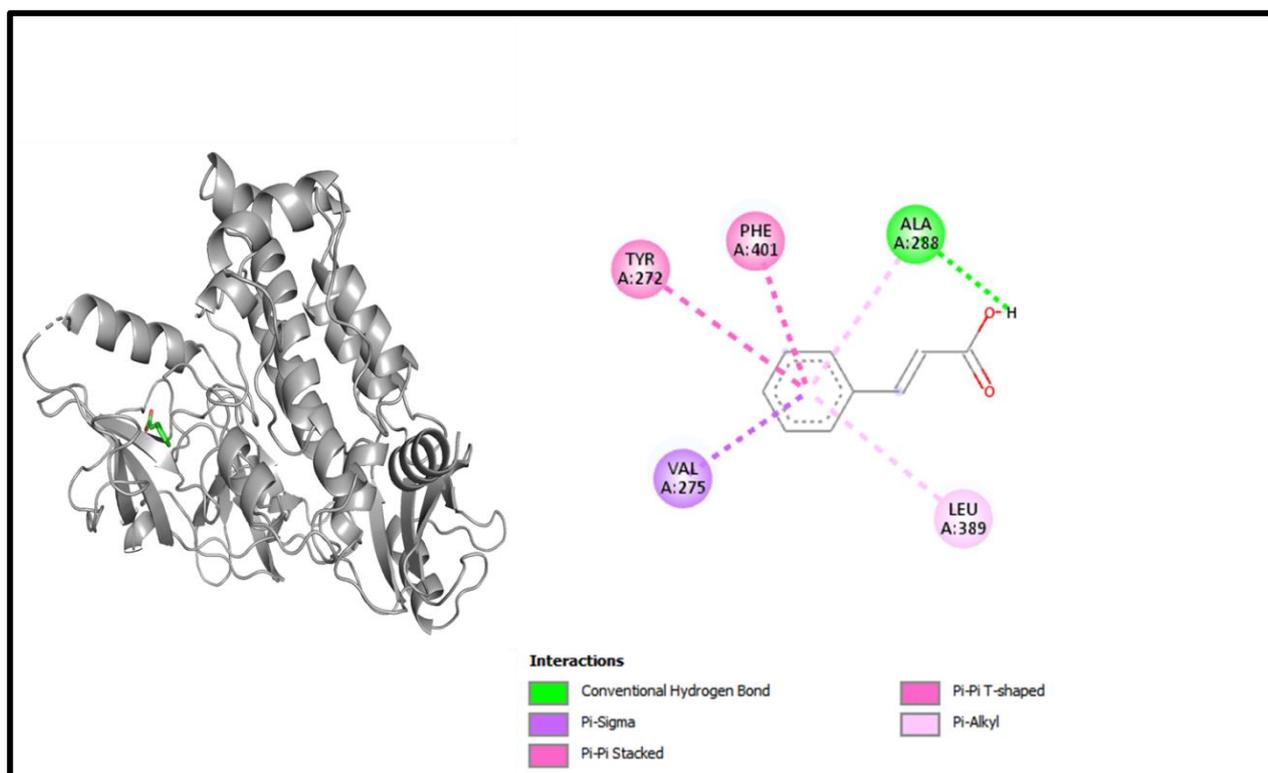


Fig. 1. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and cinnamic Acid

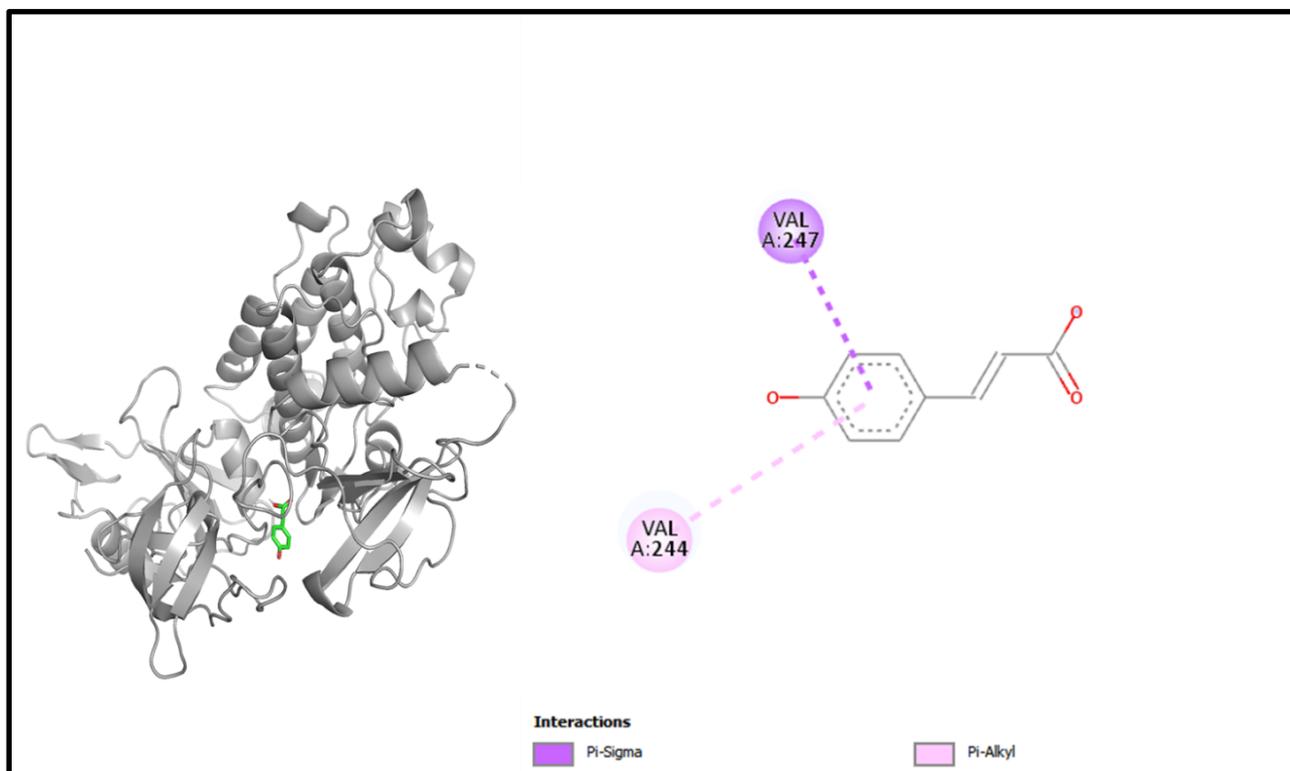


Fig. 2. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and coumaric acid

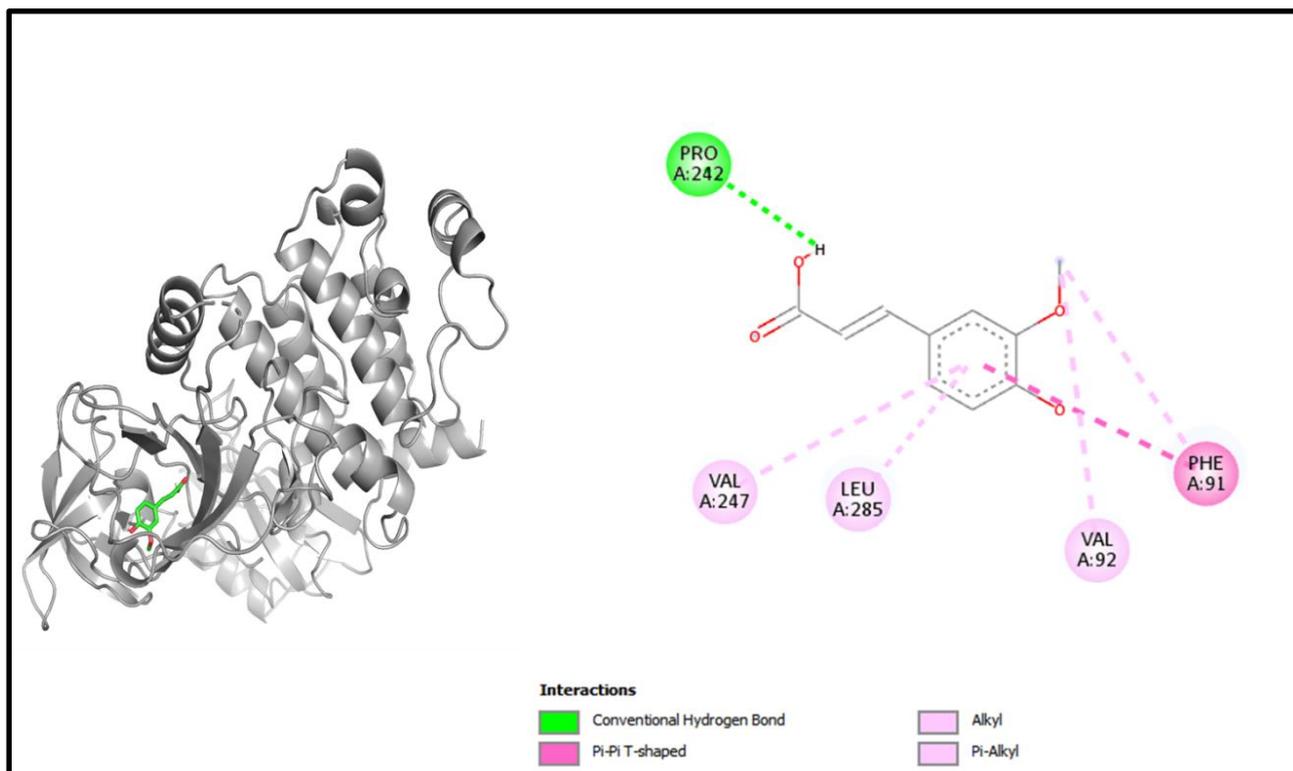


Fig. 3. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and ferulic acid

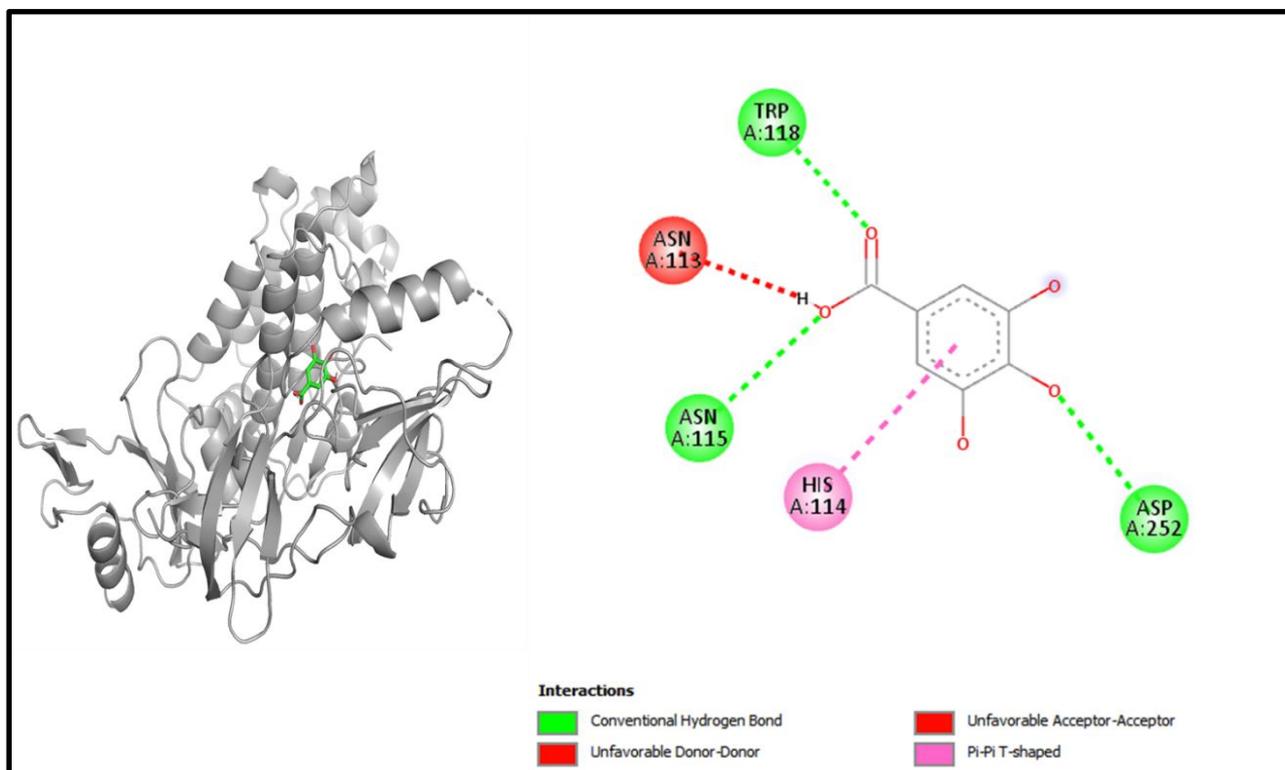


Fig. 4. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and gallic acid

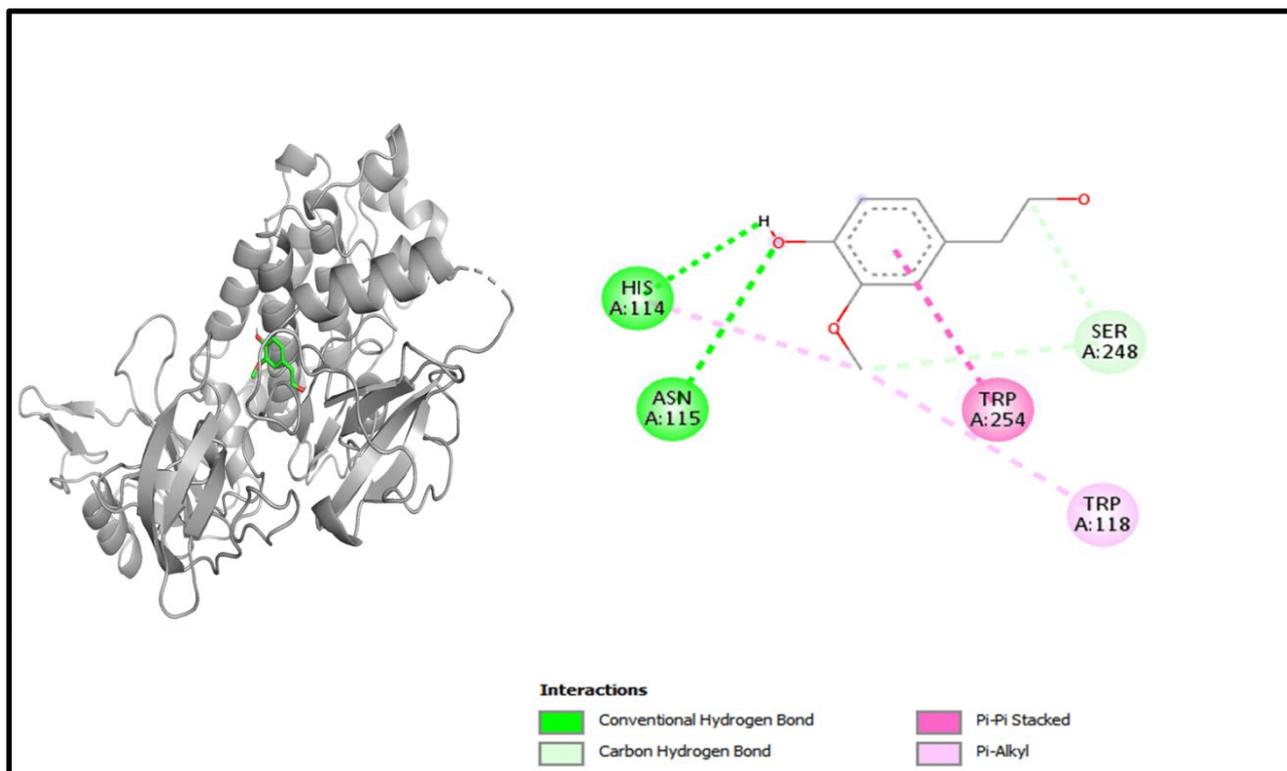


Fig. 5. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and homovanillyl alcohol

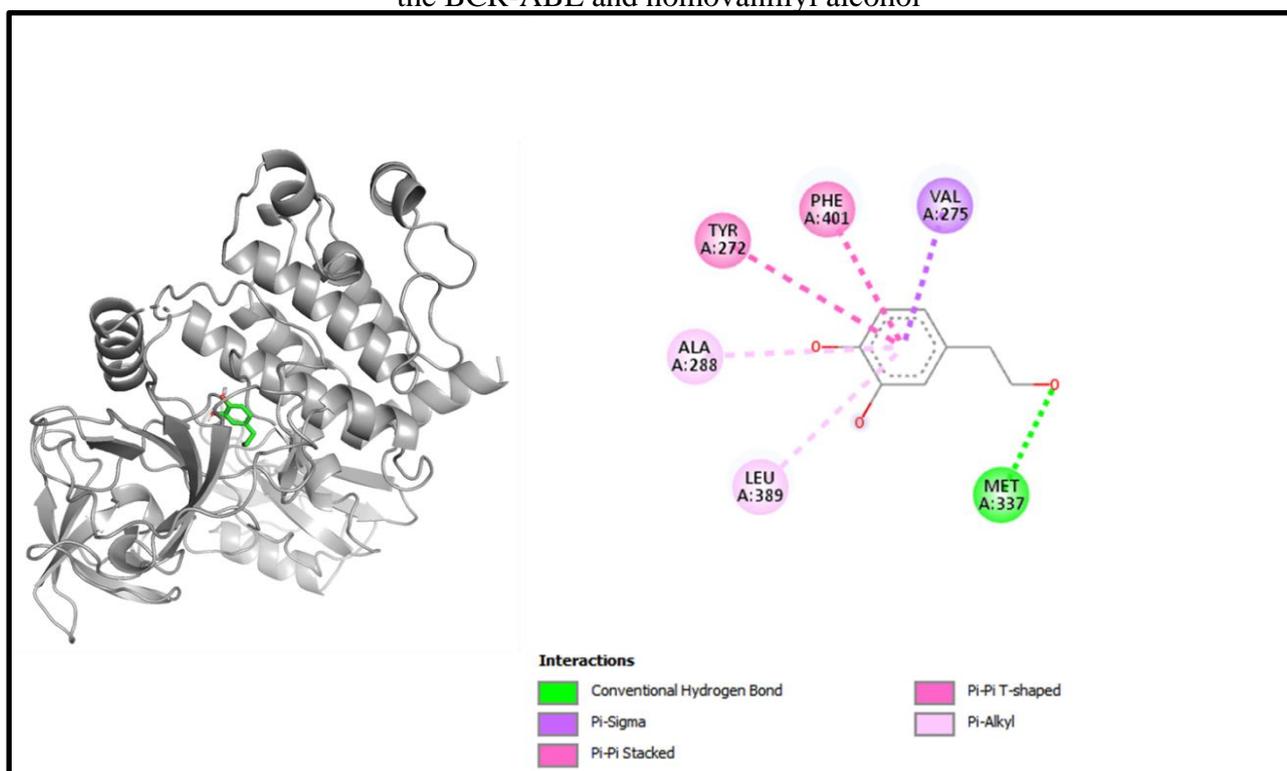


Fig. 6. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and hydroxytyrosol

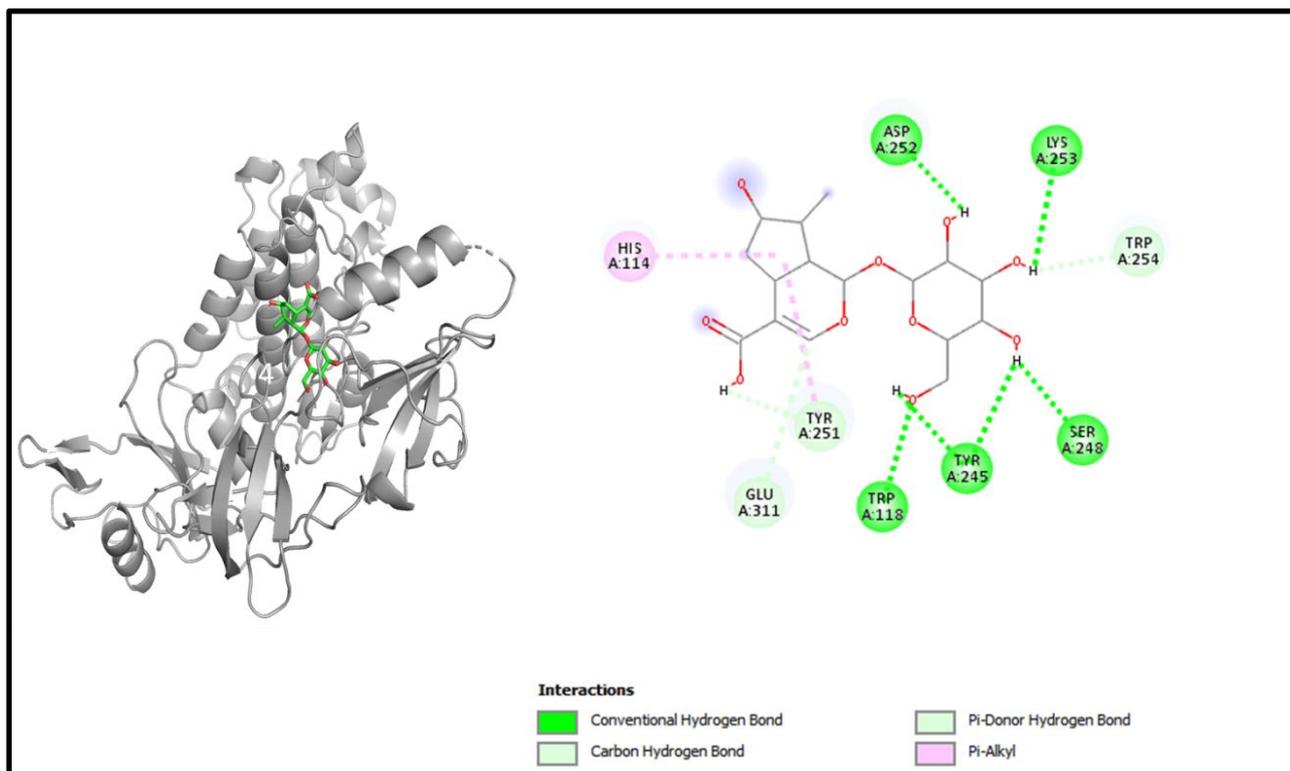


Fig. 7. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and loganic acid

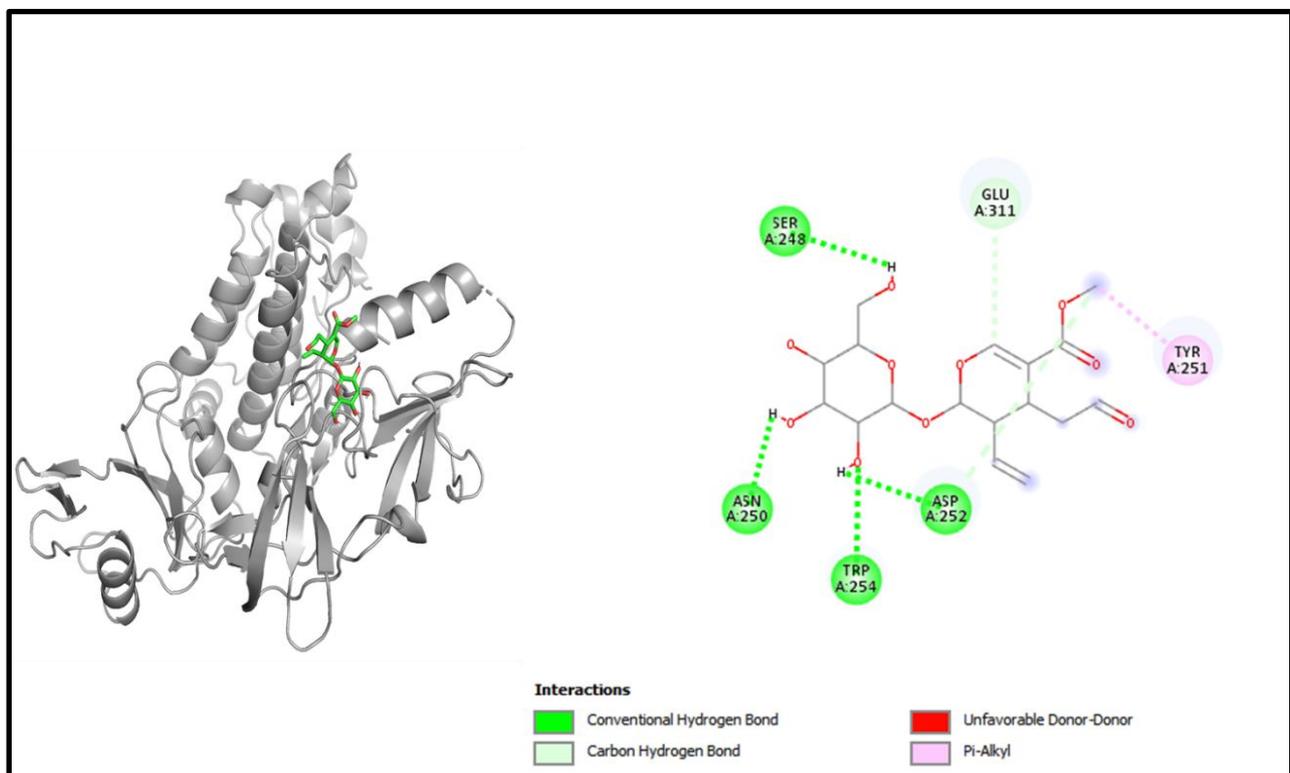


Fig. 8. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and secologanin

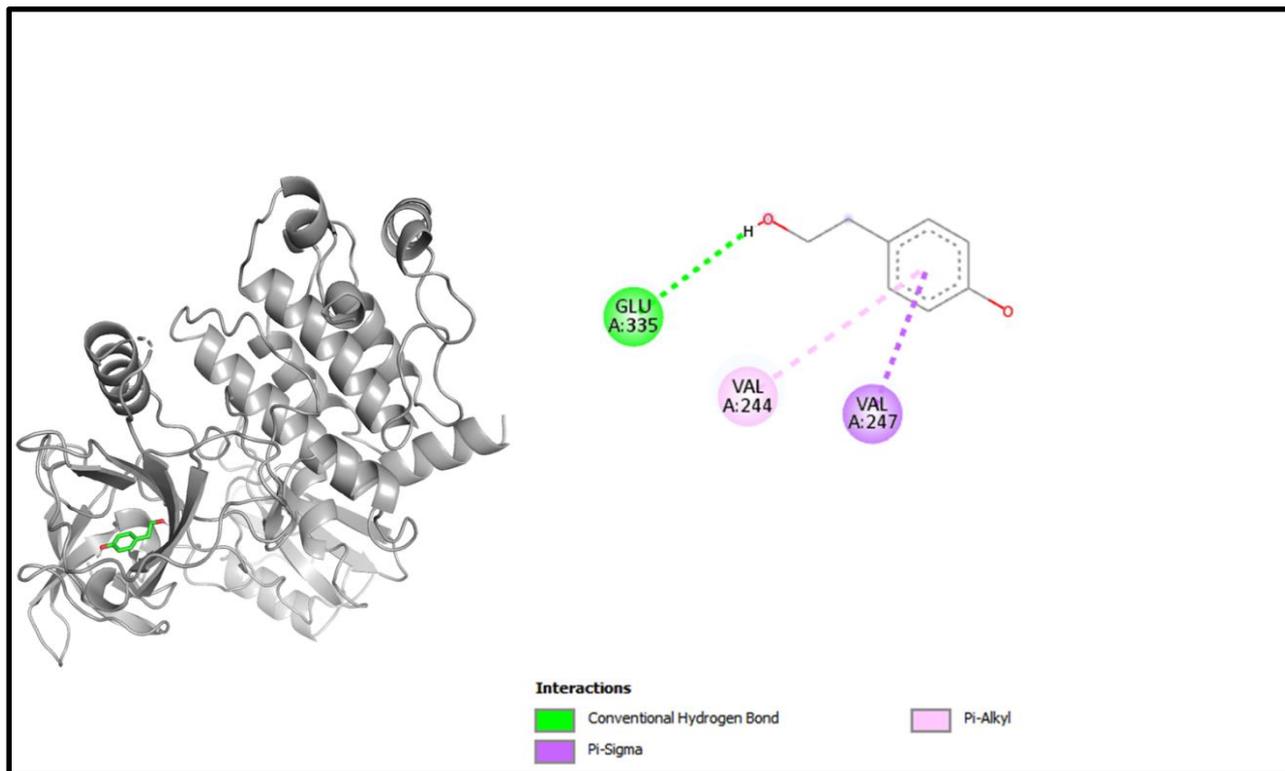


Fig. 9. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and tyrosol

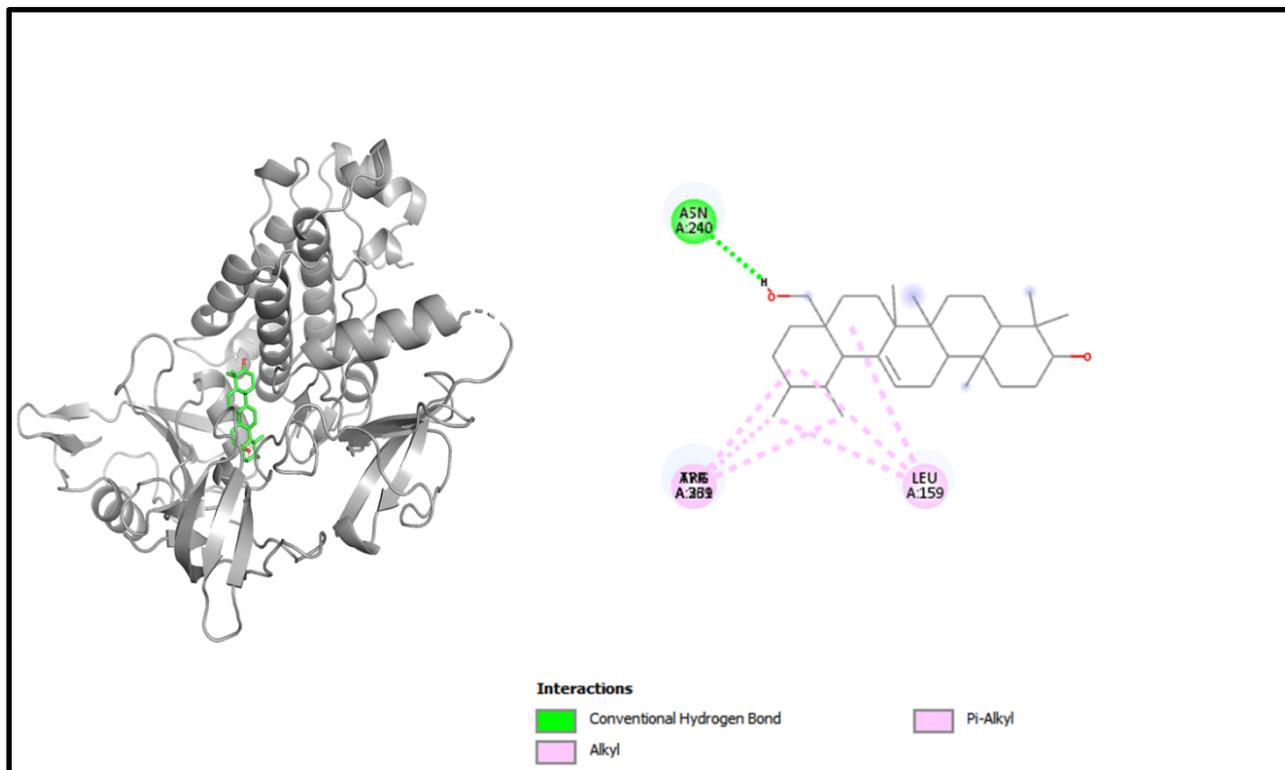


Fig. 10. Ligand-protein complex and 2D representations of the interactions between the BCR-ABL and uvaol

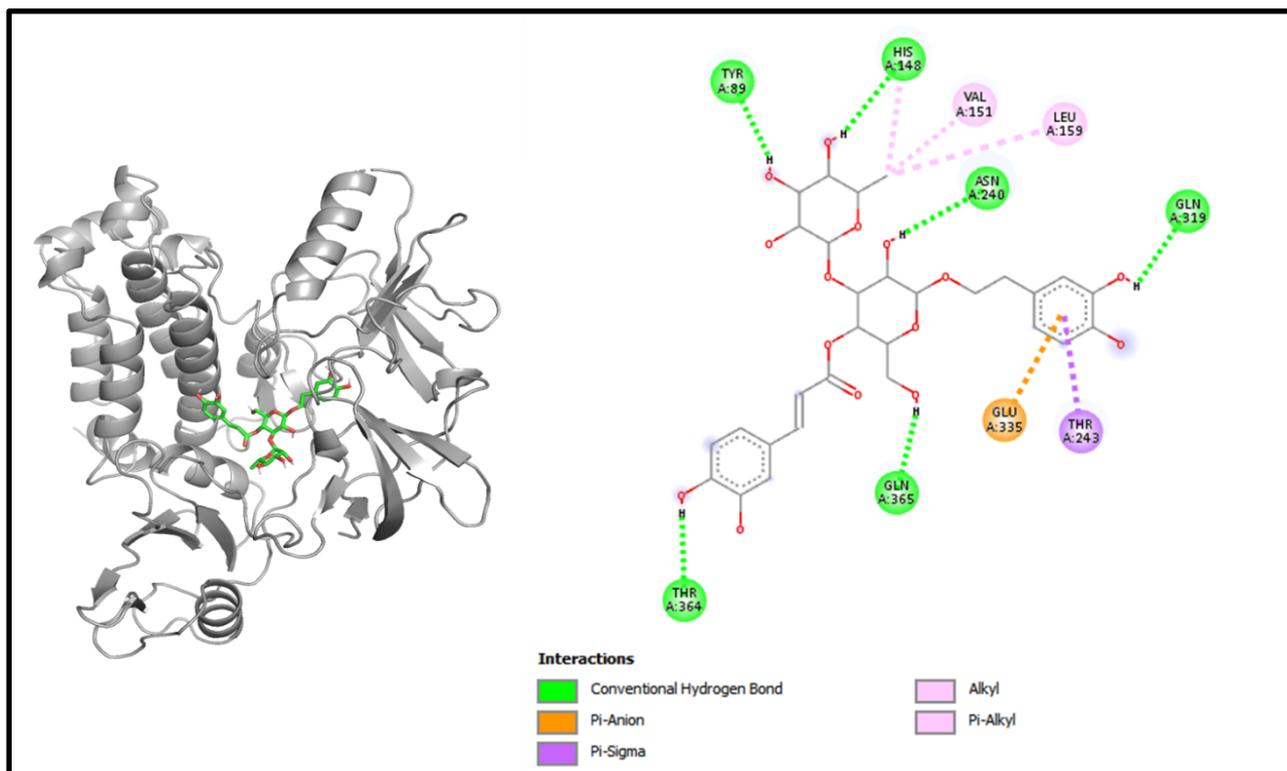


Fig. 11. Ligand-protein complex, 2D, and 3D representations of the interactions between the BCR-ABL and verbascoside

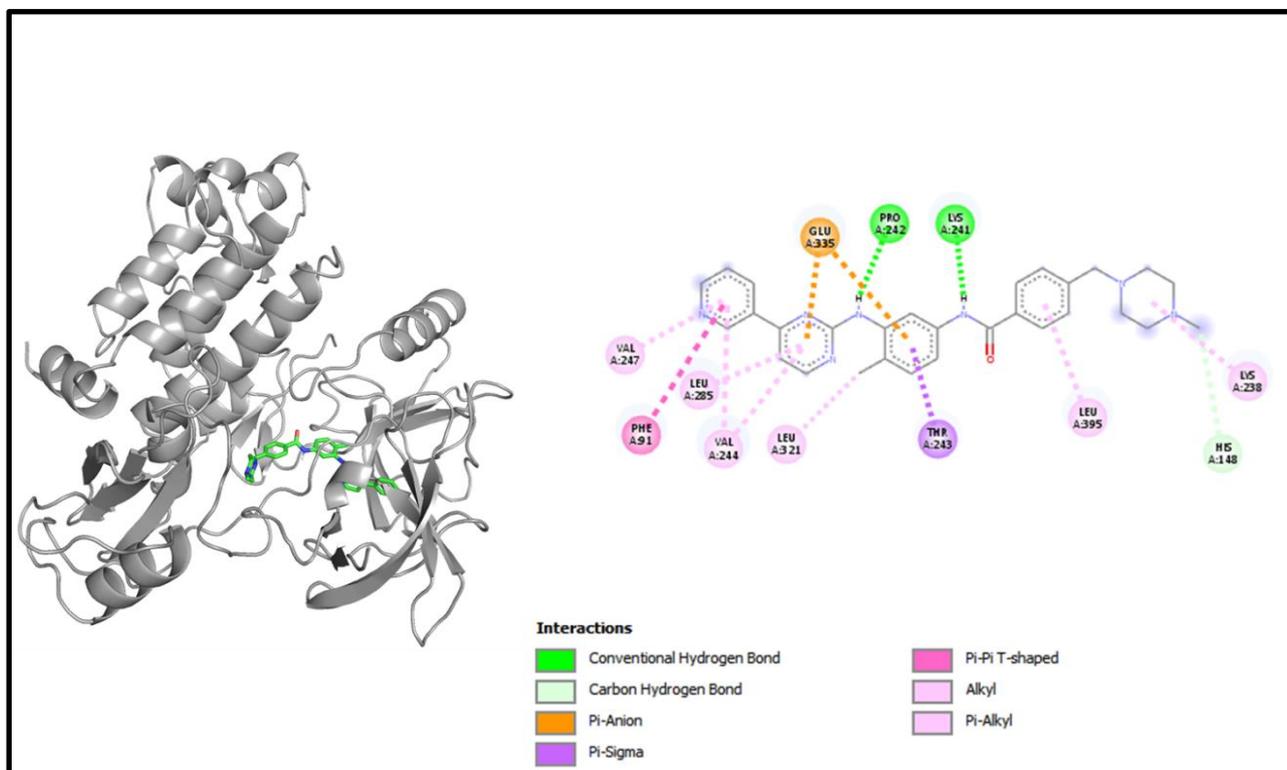


Fig. 12. Ligand-protein complex, 2D, and 3D representations of the interactions between the BCR-ABL and imatinib

Discussion. Medicinal plants are increasingly used to cure deadly illnesses due to their high concentration of bioactive phytochemicals and safety compared to synthetic drugs. These active chemicals have been shown to cure many infections and illnesses, including cancer. Scientists are exploring natural sources for active compounds to treat cancer due to the significant negative consequences of current therapy choices [33]. Plants are a reliable source of novel anticancer medications, accounting for almost 60% of all currently available treatments [40]. Large pharmaceutical corporations invest heavily in developing medications that target cancer cells, as the demand for safer and more effective chemotherapy medications stems from serious side effects and resistance to current treatments [41, 42]. Identifying natural pharmacological compounds with target-specific action is an effective technique for developing novel drugs due to their minimal toxicity [14]. When developing an active component, it's vital to consider bioactivity, pharmacokinetics, and toxicology. Many medication candidates are unable to advance to the final stage of drug design owing to failing to fulfill certain requirements [43]. Computer-aided drug design (CADD) is a widely used, sophisticated technology for drug design that may reduce prices and save time. Scientists use pharmacokinetic analysis and molecular docking to identify the most successful medication candidates [44]. In silico analysis is preferred over animal models for validating drug candidates due to their high cost, difficulty, and time commitment. In silico investigation of pharmacokinetic characteristics and toxicological parameters may be completed quickly and accurately [45]. Thus, in this work, we employed in silico molecular docking, ADME analysis, and PASS prediction to identify drug-like natural compounds for the treatment of chronic myeloid leukemia.

We used PASS online to predict anticancer activity, taking into account three primary parameters: anti-carcinogenic, anti-neoplastic, and anti-leukemic. All substances

had Pa values greater than Pi, indicating a higher chance of biological activity than inactivity. Interestingly, all the compounds have significantly higher Pa values compared to Pi values. This indicates that these chemicals are more likely to inhibit the BCR-ABL protein.

The SwissADME website predicts ADME qualities for phytocompounds, indicating relevant pharmacological properties (see Table 2). To increase the quality of a medicine, it must have good toxicological properties, such as no AMES toxicity, non-carcinogenicity, and mild hERG inhibitors [46, 47, 48]. The experimental compounds had comparable findings, as shown in Table 3. AMES toxicity evaluates the mutagenic potential of substances [49]. Loganic acid was the only investigated chemical that exhibited AMES toxicity. The toxicological examination of the chosen compounds suggests that the majority of phytocompounds are not harmful.

A molecular docking study was conducted to identify the optimal interaction between the BCR-ABL protein and phytocompounds. This study utilized the Autodock Vina software to dock the chosen OLE phenolic phytocompounds.

Docking using Autodock Vina yielded nine optimal conformations, with the lowest binding energy being selected. Table 3 shows the binding energies and interacting amino acid residues. Docking scores indicate binding affinities. A pharmaceutical candidate with a lower binding energy is always favored [50]. The free energy created during the formation of the receptor-ligand complex indicates the ligand's affinity for the receptor. A strong affinity between a ligand and a receptor leads to a lower free energy value and docking score. If the affinity is small, the free energy value or docking score rises [51]. The compounds have high binding affinity for BCR-ABL, with binding energies ranging from -5.6 to -10.3 kcal/mol.

Verbascoside, uvaol, loganic acid, secologanin, and cinnamic acid were the top five compounds discovered based on binding energy, binding site, pharmacokinetics, ADME characteristics, and projected

anticancer activity. The first three exhibited an extremely close binding affinity to Imatinib. Later two demonstrated medium proximity to the binding affinity of Imatinib. Several studies have also confirmed the anti-leukemic and anti-cancer properties of verbascoside [52], uvaol [53], loganic acid [54], and cinnamic acid [55], which were discovered through our current in silico investigations. While these five compounds violated several in silico drug development requirements, there are other examples of similar infractions among current medications [56]. After reviewing all of the data, it is clear that certain phenolic compounds from OLE are effective anti-leukemic phytochemicals that can be employed in future research to develop new medications.

Future implication and limitations of study

Our findings have interesting implications for future in vivo and clinical studies, potentially leading to the development of new treatment drugs and combination therapies for chronic myeloid leukemia (CML). However, the study's in-silico nature restricts its immediate usefulness, as the effectiveness and safety of the phenolic compounds must be verified in experimental and clinical trials. Further studies might include in vitro and in vivo studies to establish the physiological consequences of these findings.

Conclusion. The study aims to identify the therapeutic potential of olive plant-based phenolic compounds against chronic myeloid leukemia. In silico data indicate that verbascoside, uvaol, loganic acid, secologanin, and cinnamic acid have significant anti-cancerous action and therapeutic promise against CML.

The findings suggest that phytochemicals might be effective in the discovery of potent anti-leukemic drugs.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Qais FA, Alomar SY, Imran MA, et al. In-Silico Analysis of Phytochemicals of *Olea europaea* as Potential Anti-Cancer Agents to Target PKM2 Protein. *Molecules*. 2022;27(18):5793. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27185793>
2. Chabot-Richards DS, George TI. White blood cell counts. *Clinics in Laboratory Medicine*. 2015;35(1):11-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cll.2014.10.007>
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *Ca-A Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(1):7-30. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21442>
4. Mechchate H, Costa de Oliveira R, Es-Safi I, et al. Antileukemic activity and molecular docking study of a polyphenolic extract from coriander seeds. *Pharmaceuticals*. 2021;14(8):770. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph14080770>
5. Siyar H, Chefchaoui AC, Mamad H, et al. Role of Derivatives Ciprofloxacin on Chronic Myeloid Leukemia: In Silico Approach. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 2022;13(6):1568-1575. DOI: <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.s06.208>
6. Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al. editors. *AJCC Cancer Staging Manual*. Springer Cham; 2017.
7. Huang X, Cortes J, Kantarjian H. Estimations of the increasing prevalence and plateau prevalence of chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Cancer*. 2012;118(12):3123-3127. DOI: <https://doi.org/10.1002/cncr.26679>
8. Metibemu DS, Akinloye OA, Akamo AJ, et al. Exploring receptor tyrosine kinases-inhibitors in Cancer treatments. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2019;20(1):35. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43042-019-0035-0>
9. Thomson RJ, Moshirfar M, Ronquillo Y. Tyrosine kinase inhibitors. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
10. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring. *American Journal of Hematology*. 2020;95(6):691-709. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.25792>
11. Million RP, Van Etten RA. The Grb2 binding site is required for the induction of chronic myeloid leukemia-like disease in mice by the Bcr/Abl tyrosine kinase. *Blood*. 2000;96(2):664-670. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V96.2.664>

12. Deininger MWN, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2000;96(10):3343-3356.
13. Meyn MA, Wilson MB, Abdi FA, et al. Src family kinases phosphorylate the Bcr-Abl SH3-SH2 region and modulate Bcr-Abl transforming activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(41):30907-30916. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m605902200>
14. Parcha P, Sarvagalla S, Madhuri B, et al. Identification of natural inhibitors of Bcr-Abl for the treatment of chronic myeloid leukemia. *Chemical Biology and Drug Design*. 2017;90(4):596-608. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.12983>
15. Moen MD, McKeage K, Plosker GL, et al. Imatinib: a review of its use in chronic myeloid leukaemia. *Drugs*. 2007;67:299-320. DOI: <https://doi.org/10.2165/00003495-200767020-00010>
16. Quintás-Cardama A, Kantarjian HM, Cortes JE. Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control*. 2009;16(2):122-131. DOI: <https://doi.org/10.1177/107327480901600204>
17. Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Floersheimer A, et al. Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat chronic myelogenous leukaemia. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. 2007;63(1):80-93. DOI: <https://doi.org/10.1107/S0907444906047287>
18. Zhong L, Li Y, Xiong L, et al. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6(1):201. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00572-w>
19. Mechchate H, Es-Safi I, Haddad H, et al. Combination of Catechin, Epicatechin, and Rutin: Optimization of a novel complete antidiabetic formulation using a mixture design approach. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2021;88:108520. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108520>
20. Thomasset SC, Berry DP, Garcea G, et al. Dietary polyphenolic phytochemicals—promising cancer chemopreventive agents in humans? A review of their clinical properties. *International Journal of Cancer*. 2007;120(3):451-458. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.22419>
21. Cicerale S, Lucas L, Keast R. Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010;11(2):458-479. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms11020458>
22. Talhaoui N, Taamalli A, Gómez-Caravaca AM, et al. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*. 2015;77:92-108. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.011>
23. Mihailova A, Abbado D, Pedentchouk N. Differences in n-alkane profiles between olives and olive leaves as potential indicators for the assessment of olive leaf presence in virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2015;117(9):1480-1485. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400406>
24. Boss A, Bishop KS, Marlow G, et al. Evidence to support the anti-cancer effect of olive leaf extract and future directions. *Nutrients*. 2016;8(8):513. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu8080513>
25. Wu C, Gudivada RC, Aronow BJ, et al. Computational drug repositioning through heterogeneous network clustering. *BMC Systems Biology*. 2013;7:S6. DOI: <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-S5-S6>
26. Goumari MM, Farhani I, Nezafat N, et al. Multi-epitope vaccines (MEVs), as a novel strategy against infectious diseases. *Current Proteomics*. 2020;17(5):354-364. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570164617666190919120140>
27. Park H, Jeon TJ, Chien PN, et al. Discovery of novel dusp4 inhibitors through the virtual screening with docking simulations. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2014;35(9):2655-2659. DOI: <https://doi.org/10.5012/bkcs.2014.35.9.2655>
28. Park H, Hong S, Kim J, et al. Discovery of picomolar ABL kinase inhibitors equipotent for wild type and T315I mutant via structure-based de novo design. *Journal of the American Chemical Society*. 2013;135(22):8227-8237. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja311756u>
29. Caballero J. The latest automated docking technologies for novel drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2021;16(6):625-645. DOI: <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1858793>
30. Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2014;50:444-457. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1496-1>

31. Prasad P, Prashant S, Krishnan Namboori PK, et al. In Silico Evaluation of Kaempferol and Its Semisynthetic Derivative As mTORC1 Inhibitor Against Hepatocellular Carcinoma Using Molecular Docking and ADMET Analysis (January 30, 2020) [Internet]. Proceedings of International Conference on Drug Discovery (ICDD); 2020 [cited 2024 July 17]. Available from: <https://ssrn.com/abstract=3528030>
32. Barcellos MP, Santos CBR, Federico LB, et al. Pharmacophore and structure-based drug design, molecular dynamics and admet/tox studies to design novel potential pad4 inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2019;37(4):966-981. DOI: <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1444511>
33. Susmi TF, Khan MMR, Rahman A, et al. In vitro antioxidant and cytotoxicity activities and in silico anticancer property of methanolic leaf extract of *Leucas indica*. *Informatics in Medicine Unlocked*. 2022;31:100963. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.100963>
34. Makala H, Alexandar SP, Nagarajan D, et al. Lead Generation for Human Mitotic Kinesin Eg5 Using Structure-based Virtual Screening and Validation by In-vitro and Cell-based Assays. *Current Computer-Aided Drug Design*. 2021;17(6):759-772. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573409916666200722141218>
35. Rajendran N, Subramaniam S, Raja MRC, et al. Design, synthesis and 'in vitro' anti-leukemic evaluation of ferulic acid analogues as BCR-Abl inhibitors. *RSC Advances*. 2016;6(74):70480-70484. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA10106B>
36. Li Q, Shah S. Structure-Based Virtual Screening. In: Wu C, Arighi C, Ross K, editors. *Protein Bioinformatics. Methods in Molecular Biology*, vol 1558. New York: Humana Press; 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6783-4_5
37. Ravindranath PA, Forli S, Goodsell DS, et al. AutoDockFR: advances in protein-ligand docking with explicitly specified binding site flexibility. *PLoS Computational Biology*. 2015;11(12):e1004586. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004586>
38. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010;31(2):455-461. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
39. Forli S, Huey R, Pique ME, et al. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*. 2016;11(5):905-919. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>
40. Kunnumakkara AB, Bordoloi D, Sailo BL, et al. Cancer drug development: The missing links. *Experimental Biology and Medicine*. 2019;244(8):663-689. DOI: <https://doi.org/10.1177/1535370219839163>
41. Asano T. Drug resistance in cancer therapy and the role of epigenetics. *Journal of Nippon Medical School*. 2020;87(5):244-251. DOI: https://doi.org/10.1272/jnms.JNMS.2020_87-508
42. Gomari MM, Farsimadan M, Rostami N, et al. CD44 polymorphisms and its variants, as an inconsistent marker in cancer investigations. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*. 2021;787:108374. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108374>
43. Zengin G, Mahomoodally MF, Sinan KI, et al. Evaluation of chemical constituents and biological properties of two endemic *Verbascum* species. *Process Biochemistry*. 2021;108:110-120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.06.007>
44. Madhavi Sastry G, Adzhigirey M, Day T, et al. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2013;27:221-234. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10822-013-9644-8>
45. Zhou W, Wang Y, Lu A, et al. Systems pharmacology in small molecular drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(2):246. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17020246>
46. Kalimuthu AK, Panneerselvam T, Pavadai P, et al. Pharmacoinformatics-based investigation of bioactive compounds of Rasam (South Indian recipe) against human cancer. *Scientific Reports*. 2021;11(1):21488. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01008-9>
47. Garrido A, Lepailleur A, Mignani SM, et al. hERG toxicity assessment: Useful guidelines for drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2020;195:112290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112290>
48. Han Y, Zhang J, Hu CQ, et al. In silico ADME and toxicity prediction of ceftazidime and its impurities. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10:434. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112290>

<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00434>

49. Xu C, Cheng F, Chen L, et al. In silico prediction of chemical Ames mutagenicity. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2012;52(11):2840-2847. DOI:

<https://doi.org/10.1021/ci300400a>

50. Nisha CM, Kumar A, Nair P, et al. Molecular docking and in silico ADMET study reveals acylguanidine 7a as a potential inhibitor of β -secretase. *Advances in Bioinformatics*. 2016;2016:9258578. DOI:

<https://doi.org/10.1155/2016/9258578>

51. Pansar T, Poso A. Binding affinity via docking: fact and fiction. *Molecules*. 2018;23(8):1899. DOI:

<https://doi.org/10.3390/molecules23081899>

52. Akgun-Cagliyan C, Cort-Donmez A, Kilic-Toprak E, et al. Verbascoside potentiates the effect of tyrosine kinase inhibitors on the induction of apoptosis and oxidative stress via the Abl-mediated MAPK signalling pathway in chronic myeloid leukaemia. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2022;24(2):514. DOI:

<https://doi.org/10.3892/etm.2022.11441>

53. Kazakova OB, Giniyatullina GV, Tolstikov GA, et al. Synthesis and antitumor activity of aminopropoxy derivatives of betulin, erythrodiol, and uvaol. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2011;37:369-379. DOI:

<https://doi.org/10.1134/S1068162011030101>

54. Kim NY, Ha IJ, Um JY, et al. Loganic acid regulates the transition between epithelial and mesenchymal-like phenotypes by alleviating MnSOD expression in hepatocellular carcinoma cells. *Life Sciences*. 2023;317:121458.

55. Joshi H, Marulkar K, Gota V, et al.

Hydroxy Cinnamic Acid Derivatives as Partial PPAR γ Agonists: In silico Studies, Synthesis and Biological Characterization Against Chronic Myeloid Leukemia Cell Line (K562). *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2017;17(4):524-541. DOI:

<https://doi.org/10.2174/1871520616666160607010156>

56. Tian S, Wang J, Li Y, et al. The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2015;86:2-10. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.01.009>

Received 17 July 2024

Revised 26 February 2025

Accepted 12 March 2025

Information about the authors

Riaz Hossain, Student, International Islamic University Chittagong, Chittagong, Bangladesh, E-mail: riazhossain712@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-2425-1310>.

Nishan Shorif, Student, International Islamic University Chittagong, Chittagong, Bangladesh, E-mail: nshorif.ns@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5175-722X>.

Sifat Foysal, Student, International Islamic University Chittagong, Chittagong, Bangladesh, E-mail: sifatfoysaliuc@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-0917-2529>.

Mohammad N. Islam, Assistant Professor at the Department of Pharmacy, International Islamic University Chittagong, Chittagong, Bangladesh, E-mail: nazmul@iiuc.ac.bd, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4021-106X>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-6

УДК 615

Mitigation of indomethacin-induced gastric inflammation in mice through the administration of ethanol extract from *Hedyotis capitellata* Wall. leaves

Tran T.P. Nhung , Le P.T. Quoc 

Industrial University of Ho Chi Minh City,
12 Nguyen Van Bao St., 700000, Vietnam

Corresponding author: Le P.T. Quoc (lephamtanquoc@iuh.edu.vn)

Abstract

Background: Gastritis, a prevalent global malady, stems from various factors such as unhealthy lifestyles, bacterial infections, or non-steroidal anti-inflammatory drug usage. If untreated, it leads to severe complications. *Hedyotis capitellata* Wall., recognized for its medicinal properties, is traditionally acknowledged for its effectiveness in pain relief, neutralizing gastric acid, reducing acid reflux, and promoting ulcer healing. **The aim of the study:** This study delves into exploring the preventive and protective prowess of *H. capitellata* leaf ethanol extract (EEHC) against indomethacin (IND)-induced gastric mucosal damage in mice. **Materials and methods:** EEHC administered at 300, 350, and 400 mg/kg doses, with omeprazole (OME) (20 mg/kg) as the reference standard, EEHC's impact was assessed on gastric acid levels, mucosal damage, malondialdehyde (MDA) content, antioxidant activity (catalase, myeloperoxidase, glutathione, total antioxidant capacity), cytokine levels (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10), and histopathology. **Results:** EEHC, particularly at 400 mg/kg, exhibited maximal inhibition of total gastric acid (8.58 ± 0.16 mEq/l), decreased MDA content (5.29 ± 0.15 nM/g tissue), and lowered pro-inflammatory cytokines (TNF- α : 224.04 ± 17.56 pg/ml) compared to IND-treated mice ($p < 0.05$). Dose-dependent EEHC enhanced the antioxidant defense system by reducing catalase and myeloperoxidase activity and increasing glutathione and total antioxidant capacity levels ($p < 0.05$). Mice treated with EEHC displayed significantly lower gastric ulcer indices across all experimental models compared to the IND-treated group ($p < 0.05$). Histopathological examinations further affirmed EEHC's anti-inflammatory efficacy. **Conclusion:** The study establishes that oral administration of EEHC exerts a positive protective influence on the gastric mucosa, augmenting the antioxidant defense system and anti-inflammatory effects. *H. capitellata* emerges as a promising resource for managing gastric inflammation due to its potent antioxidant properties.

Keywords: acute gastric injury; antioxidant activity; indomethacin; mucosal protection; ulcer index

For citation: Nhung TTP, Quoc LPT. Mitigation of indomethacin-induced gastric inflammation in mice through the administration of ethanol extract from *Hedyotis capitellata* Wall. leaves. Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):81-99. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-6

Introduction. Gastric inflammation, known as gastritis, is a prevalent global disease affecting approximately 10% of the world's

population. It represents a significant health issue that greatly impacts the quality of life for millions of individuals [1]. The

pathophysiology of this digestive disorder is characterized by an imbalance between protective factors of the gastric mucosa, such as bicarbonate, prostaglandins, peptides, growth factors, gastric mucus, and the innate immune response of mucosal cells, and aggressive factors including acid, pepsin, *H. pylori*, non-steroidal anti-inflammatory drugs, tobacco, alcohol, trauma, shock, and stress. The progression of this condition is influenced by the dominance of disruptive factors over defensive mechanisms [2]. Gastric acid secretion is primarily regulated by histamine 2 receptors (H2r) binding to histamine, stimulating acid secretion into the stomach, which is subsequently accelerated by the cAMP/protein kinase A/proton pump pathway. Therefore, most therapeutic approaches for gastric inflammation involve the use of histamine 2 receptor antagonists (H2RAs) such as ranitidine and cimetidine, as well as proton pump inhibitors (PPIs) like pantoprazole and lansoprazole. Although these medications have demonstrated clinically acceptable efficacy, adverse effects such as rash, itching, constipation, nausea, abdominal pain, and diarrhea have been reported [3]. Due to the potential side effects associated with synthetic drugs, the development of natural products for the treatment of gastric inflammation, which offer minimal adverse effects, is highly valued. Recent studies in the field of gastrointestinal disorders have focused on exploring the potential role of natural remedies, utilizing readily available plant-based medicines as primary sources for the development of new drugs due to their safety, minimal side effects, affordability, effectiveness, and relatively low toxicity [4].

Hedyotis is a flowering plant genus in the Rubiaceae family. It is widely distributed in tropical and subtropical regions, comprising approximately 500 species. Previous studies have revealed the chemical diversity of Hedyotis plants, including secondary metabolite groups such as alkaloids, anthraquinones, flavonoids, lignans, iridoids, and triterpenoids. This chemical diversity has provided various important pharmacological activities, including antibacterial, anti-

diabetic, antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer effects [5]. Extracts from Hedyotis species such as *H. capitellata*, *H. dichotoma*, *H. verticillata*, *H. herbacea*, *H. pinifolia*, *H. corymbosa*, and *H. nudicaulis* have demonstrated antioxidant, free radical scavenging, anti-inflammatory, cytotoxic, and antibacterial properties [6]. *H. diffusa* (a species of Hedyotis) is commonly used in folk medicine to treat lung heat, asthma, cough, gastric inflammation, and improve colonic mucosal damage [7]. *H. corymbosa*, a traditional medicinal plant belonging to the Hedyotis genus, contains compounds such as alkaloids, anthraquinones, lignans, triterpenes, flavonoids, and glycosides. It exhibits anti-inflammatory, anticancer, hepatoprotective, neuroprotective, gastric mucosal protective, and cytotoxic properties [8]. In Vietnam, *Hedyotis capitellata* Wall. (a species of Hedyotis) is a traditional remedy used for diuretic, detoxification, and anti-inflammatory purposes for the stomach [5]. *H. capitellata* contains alkaloids, saponins, tannins, and anthraquinones. Its extract has been demonstrated to possess effective antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activities [9]. In traditional Vietnamese medicine, *H. capitellata* is utilized to alleviate pain, neutralize gastric acid, reduce acid reflux, and heal ulcers [10]. However, the broad claims about the health benefits of *H. capitellata* primarily rely on observations and anecdotal evidence rather than scientific substantiation. Experimental evidence supporting the anti-inflammatory effects of *H. capitellata* on gastric inflammation is still lacking. Therefore, the objective of our study is to evaluate the anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of *H. capitellata* leaves by using an indomethacin-induced gastric inflammation mouse model and assess the effects of this extract on oxidative stress parameters in the mouse stomach tissue.

The aim of the study. To assess the efficacy of *H. capitellata* leaf ethanol extract (EEHC) in alleviating gastric mucosal damage.

Materials and Methods

Drugs and chemicals

Indomethacin (IND) and Omeprazole (OME) were purchased from Pharmedic

Pharmaceutical Company, Vietnam. All other chemicals were analytical grade and obtained from Sigma (St. Louis, MO, USA).

Plant material and preparation of the extract

Collection of plant material: The leaves of *H. capitellata*, belonging to the genus *Hedyotis* and the family *Rubiaceae*, were collected in Cẩm Mỹ district, Đồng Nai province, Vietnam in March 2023. The plant specimen with the number HC140323VST was deposited at the Plant Biotechnology Laboratory, Institute of Biotechnology and Food Technology, Ho Chi Minh City University of Industry, Vietnam.

Preparation of the extract: The leaves of *H. capitellata* (depicted in Fig. 1A) underwent a meticulous cleansing process, followed by air-drying in shaded conditions.

Subsequently, the German-manufactured Memmert UN110 drying oven was employed to desiccate the leaves of *H. capitellata* at 60°C until achieving a stable weight. The dry leaves, possessing a moisture content of 5%, underwent pulverization (180/125) using a medicinal grinding machine (TMND-A01, Tan Minh Co. Ltd., Vietnam), and were after that conserved in a refrigerator. Approximately 250 g of the leaf powder was immersed in 800 ml of 96% ethanol for 72 hours. Following this maceration period, the mixture underwent filtration utilizing Whatman No. 4 filter paper, with the resultant upper layer being concentrated through a rotary evaporator (IKA, Werke GmbH & Co. KG, Germany) at 60°C. The resultant concentrated extract, denoted as EEHC (Fig. 1B), was then stored at 4°C pending further analytical procedures.



Fig. 1. Leaves of *H. capitellata* (A) and ethanol extract of *H. capitellata* leaves (B)

Phytochemical screening and determination of total phenolic (TPC), total flavonoid (TFC) content of extract

Screening of phytochemicals: The ethanol extract derived from *H. capitellata* leaves underwent a screening process to detect the presence of alkaloids, tannins, steroids, and saponins, as outlined by Muhamad et al. [11]. Qualitative assessments were conducted based on the outcomes observed in each experimental procedure.

For the alkaloid test, approximately 1 ml of crude extract (at a concentration of 10 mg/ml) was combined with 160 µl of Dragendorff's reagent, consisting of 12 ml of 1.33 M bismuth nitrate in 30% nitric acid and

50 ml of 3.26 M potassium iodide adjusted to 100 ml with distilled water. The identification of alkaloids was benchmarked against the standard compound, caffeine (10 mg/ml). The steroid screening utilized the Salkowski test, wherein 1 ml of crude extract (10 mg/ml) was thoroughly mixed with 500 µl of chloroform. Subsequently, 1 ml of concentrated sulfuric acid was added to the mixture. The presence of steroids was compared to the standard compound, cholesterol.

The tannin test was determined by introducing 90 µl of 1% w/v ferric chloride solution to 10 mg of crude extract dissolved in 1 ml of methanol. The presence of tannins was then compared to the standard compound,

gallic acid. In addition, the determination of saponin content involved mixing 90 μ l of dimethylsulfoxide (DMSO) and 5 ml of distilled water with 10 mg of crude extract dissolved in 1 ml of ethanol. The resulting mixture was vigorously shaken, and the presence of saponins was compared to the standard compound, sodium dodecyl sulfate (SDS).

Determination of total phenolic content (TPC)

The assessment of phenolic compounds in the extract followed a spectrophotometric methodology as delineated by Mansoori et al., with slight modifications [12]. The preparation of the crude extract solution involved dissolving approximately 0.5 ml (1 mg/ml) of the crude extract in 0.5 ml of methanol. Subsequently, 100 μ l of the resulting stock sample was introduced to 500 μ l of Folin-Ciocalteu reagent, with thorough mixing for 1 minute. Following this, 2.5 ml of a 7.5% Na_2CO_3 solution was incorporated into the mixture, and the entire solution underwent stirring to achieve homogeneity of the dilute phase. Simultaneously, a blank sample was prepared similarly, utilizing 0.5 ml of methanol instead of the crude extract solution. After subjecting the samples to incubation at 45°C for 45 minutes in darkness within a thermostatic chamber, the absorbance was measured at 730 nm using a spectrophotometer. Three replicates were conducted to determine the average sample value. A gallic acid standard curve was established within the range of 20-100 μ g/ml. Ultimately, the concentration of phenolic compounds was expressed in terms of gallic acid equivalents (mg GAE/g dw).

Determination of total flavonoid content (TFC): The determination of total flavonoid content (TFC) in the extract followed the AlCl_3 colorimetric method, as outlined by Mansoori et al. with minor adjustments [12]. The extract solution was methanol-diluted to a concentration of 1 mg/ml, and a standard curve was established using quercetin dissolved in methanol within the range of 20-100 μ g/ml. A solution comprising 2.0 ml of the diluted

extract/quercetin, AlCl_3 solution (0.1 ml of 10%, w/v), and CH_3COOK (0.1 ml of 0.1 mM) was prepared, and the entire solution was made up of methanol. After incubating for 30 minutes at 25°C, the absorbance was measured at 415 nm. Ultimately, the total flavonoid content in the extract was quantified in terms of milligrams of quercetin equivalents per gram of the extract's dry weight (mg QE/g dw).

Experimental animals

Swiss albino mice with a weight range of 30-35 g were employed to assess the anti-inflammatory activity induced by indomethacin. These mice were sourced from the Pasteur Institute in Ho Chi Minh City, Vietnam. The animals were housed in standard laboratory conditions within glass cages, maintaining a 12-hour light/dark cycle, controlled temperature ($24\pm 2^\circ\text{C}$), and supplied with a commercial pellet diet designed for rodents, along with free access to water. To acclimate the mice to the environment, a 7-day adaptation period was observed before the commencement of the experiment. The handling and treatment of the animals adhered to the general guidelines for research methods and the evaluation of traditional medicine established by the World Health Organization in 2000 [13]. The experimental procedures followed the principles outlined in the Helsinki Declaration, emphasizing the protection of vulnerable research participants [14]. All interactions with experimental animals were carried out by personnel well-versed in the regulations for the use and care of laboratory animals. All experimental procedures were approved by the Ethics Committee for Animal Research of the University and adhered to the principles of care and use of laboratory animals. The use of laboratory animals is aligned with the National Guidelines on Ethics in Biomedical Research, as outlined by the Ministry of Health, Vietnam [15].

Experiment design

The experimental subjects were allocated into six groups, each consisting of five mice. The normal control group (DW group) received distilled water (10 mg/ml). The negative control group (IND group) was administered indomethacin (45 mg/kg) to

induce gastric inflammation. The positive control group (IND+OME group) experienced gastric damage due to indomethacin and received omeprazole (20 mg/kg), a standard drug utilized in the therapy of gastric inflammation. The experimental groups, characterized by indomethacin-induced gastric lesions, were subjected to treatment with EEHC at concentrations of 300, 350, and 400 mg/kg (IND+EEHC₃₀₀, IND+EEHC₃₅₀, and IND+EEHC₄₀₀ groups, respectively). The mice underwent a 24-hour fasting period and were orally administered indomethacin (45 mg/kg) to induce gastric inflammation. The standard drug and test compounds were administered orally 30 minutes before the administration of indomethacin. Forty-eight hours post-induction of gastric inflammation, the mice were treated once daily for 21 days with either the vehicle (distilled water, 10 ml/kg), the standard drug omeprazole (20 mg/kg), or EEHC at doses of 300, 350, and 400 mg/kg. On the subsequent day, blood samples were collected via cardiac puncture and stored at 4°C for subsequent analysis. Following this, the mice were anesthetized using a xylazine-ketamine anesthesia mixture [ketamine (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg, IP)] and euthanized through CO₂ gas inhalation. Surgery was conducted, and the stomach was dissected and opened along the greater curvature. After rinsing with sterile saline, the stomach was macroscopically evaluated for damage. The collected stomach samples were preserved at -80°C for further analysis.

$$TA \left(\frac{mEq}{L} \right) = \frac{V_{NaOH} \times N_{NaOH}}{0.1} \times 100 \frac{mEq}{L} \quad (\text{Eq. 1})$$

Evaluation of gastric mucosal damage (ulcer index and inhibition rate)

The stomachs of the experimental subjects were dissected along the greater curvature and scrutinized under a microscope by two investigators to identify lesions in the glandular region. A semi-quantitative scoring system, ranging from 0 to 4 (as detailed in Table 1), was established based on the severity of congestion and hemorrhage. This scoring system adhered to the methodology outlined by Tastekin et al. with slight modifications [16].

The gastric ulcer index (UI) and ulcer inhibition percentage (PUI %) were calculated according to the following formula:

$$UI = \frac{UI_1 + UI_2 + \dots + UI_n}{n} \quad (\text{Eq. 2})$$

where n is the total number of mice in each group

$$PUI (\%) = \frac{UI_{\text{control}} - UI_{\text{treatment}}}{UI_{\text{control}}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Stomach acidity assessment

The determination of gastric acid levels followed the protocol outlined by Qureshi et al. [2]. The stomach was meticulously excised, maintaining closure at the lower end of the esophagus, and subsequently dissected open along the greater curvature to extract its contents. The obtained gastric fluid underwent collection, followed by centrifugation at 1000 rpm for 10 minutes. After centrifugation, the samples were decanted, and the volume of the gastric fluid was meticulously documented.

Gastric pH determination: A volume of 1 ml from the supernatant was diluted to 10 ml with distilled water. The pH of the resulting solution was measured using a digital pH meter (HI8424, Hanna Instruments Co. Ltd., USA).

Estimation of free and total acidity (TA): In a 100 ml conical flask, 1 ml of gastric juice was carefully pipetted, and 2 or 3 drops of Topfer reagent were introduced. The solution underwent titration with 0.01 N NaOH until the disappearance of all red color spots, resulted in a light yellow hue. The volume of alkali added during this phase was meticulously documented, representing the free acid content. Subsequently, 2 or 3 drops of phenolphthalein solution were incorporated, and the titration continued until a distinct pink color manifested. Once again, the total volume of alkali added was recorded (V_{NaOH}), corresponding to the total acid content. The quantification of free and total acid was computed using the formula below:

Table 1

Classification of the severity of gastric mucosal ulceration according to the Ebru scoring system

Characteristic	Point
Normal colored stomach	0
Red coloration	0.5
Spot ulcer, the erosion depth or erosion length < 1 mm	1
Hemorrhagic streak	1.5
Deep ulcers, the erosion length ranges from 1 to 2 mm	2
Perforation, the erosion length ranges from 2 to 3 mm	3
Perforation, the erosion length ranges from 3 to 4 mm	4

Hematology and biochemistry assessment

On the final day of the experiment, blood samples were obtained from the animals through cardiac puncture and stored at 4°C until further analysis. An automated hematology analyzer, TC-Hemaxa 1000 (USA), was employed to quantify red blood cells (RBCs), white blood cells (WBCs), and various white blood cell types, including lymphocytes (LYM), monocytes (MONO), and granulocytes (GRA). The erythrocyte sedimentation rate (ESR) was determined using the Westergren pipette method. The serum, obtained after blood clotting, underwent centrifugation for 15 minutes at a speed of 3000 rpm. The levels of C-reactive protein (CRP) and alkaline phosphatase (ALP) were then analyzed utilizing an automated biochemical analyzer, TC-3300 Plus (USA).

Quantification of malondialdehyde (MDA)

The assessment of lipid peroxidation was conducted by evaluating the malondialdehyde (MDA) formation, employing the thiobarbituric acid method as detailed by Lim et al. with slight modifications [17]. The gastric mucosa layer was homogenized in a 10 ml solution of 100 g/l KCl. Subsequently, 500 µl of the homogenate was introduced into a new tube containing a thiobarbituric acid solution composed of 1.5 ml of 1 g/l 2-thiobarbituric acid, 0.2 ml of 80 g/l SDS, 1.5 ml of 200 g/l acetic acid, and 0.3 ml of distilled water. The mixture was heated at 98°C for 1 hour, allowed to cool to room temperature, and then combined with 5 ml of n-butanol: pyridine (15:1; Sigma-Aldrich).

Following centrifugation at 3000 × g for 30 minutes, the absorbance of the upper layer was measured using a UV/Vis spectrophotometer at a wavelength of 532 nm. A standard curve was generated using 1,1,3,3-tetramethoxypropane (Sigma-Aldrich), and the results were expressed as nM MDA/g wet tissue (nM/g tissue).

Antioxidant assessment

Catalase (CAT) activity measurement:

The determination of CAT activity in the tissue followed the protocol established by Lim et al. [17]. The gastric tissue underwent homogenization, with subsequent removal and washing of the glandular portions using cold physiological saline. Half of the gastric tissue was homogenized in a chilled phosphate-buffered saline solution (0.1 mol/l). The resulting homogenates were subjected to centrifugation at 4,500 rpm for 15 minutes at 4°C, yielding the supernatant representing the homogenized gastric tissue solution. The gastric mucosal homogenates were appropriately diluted with a buffer solution and then mixed with 1 ml of 30 mM H₂O₂. The absorbance was measured at a wavelength of 240 nm. CAT activity was expressed as mM per minute per milligram of tissue.

Measurements of mucosal myeloperoxidase (MPO) levels: The MPO content was quantified utilizing the assay method outlined by Araújo et al. with minor adjustments [1]. Gastric tissue samples were immersed in a Tris hydrochloric acid (HCl) buffer solution at a ratio of 1:5 (w/v), pH = 7.4, and minced with scissors for 15 seconds on a chilled ice plate. Homogenates were prepared in 0.5% hexadecyl trimethyl ammonium

bromide (pH = 6.0), dianisidine dihydrochloride staining solution, potassium phosphate buffer solution (PBS), and 0.05% hydrogen peroxide (1%). Subsequently, the mixture underwent centrifugation ($2000 \times g$ for 20 minutes at 4°C). The absorbance of the samples was measured at a wavelength of 450 nm. The results were expressed as the quantity of enzyme capable of degrading $1 \mu\text{mol/ml}$ of peroxide at 25°C and reported as MPO units per gram of tissue (U/g tissue).

Estimation of glutathione (GSH) content: The determination of GSH content followed the method previously outlined by Sedlak and Lindsay with slight adjustments [18]. Gastric tissue was homogenized in 2 ml of Tris-HCl buffer solution [50 mM Tris HCl, 0.2 mM sucrose, and 20 mM EDTA; pH 7.5], precipitated with 0.1 ml of 25% trichloroacetic acid, and then subjected to centrifugation at $3500 \times g$ for 40 minutes at 4°C to eliminate the precipitate. The GSH content in the supernatant was ascertained by measuring the absorbance at 412 nm, and the results were expressed as nM/mg of tissue.

Estimation of total antioxidant capacity (TAC): The concentration of TAC was determined using the method described by Popović et al. [19]. The reaction mixture contained 200 μl of reagent I (acetate buffer $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$, 0.4 M, pH 5.8), 20 μl of gastric tissue homogenate, and 20 μl of reagent II (10 mM ABTS, 2 mM H_2O_2 in acetate buffer (30 mM), pH 3.6). After 5 min, the absorbance was measured at 660 nm using a spectrophotometer, and the results were expressed as nM/mg protein.

Measurement of inflammatory markers and cytokines

The concentrations of cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-10 in gastric tissue were determined utilizing a mouse ELISA kit, following the methodology outlined by Danisman et al. [20]. The samples were incubated at 37°C for 90 minutes upon addition to the plates. After emptying the wells, the biotin-conjugated detection antibody working solution was introduced and incubated for an additional 60 minutes. After washing the plate, the horseradish peroxidase-

conjugated working solution was added and incubated at 37°C for 30 minutes. Finally, the substrate solution and stop solution were sequentially added, and the absorbance was measured at 570 nm using a Multiskan™ GO Microplate spectrophotometer (USA).

Histopathology examination

After the evaluation period, samples of gastric tissue were gathered. The gastric wall tissue was preserved in a 10% formaldehyde solution for 48 hours and subsequently embedded in paraffin blocks. Sections with a thickness of 4 μm were obtained from each paraffin block and subjected to staining with hematoxylin and eosin (H&E) for histological assessment. The designated sections were scrutinized under a light microscope (Olympus BX 51, Japan) as per the protocol described by Danisman et al. [20].

Statistical analysis

The data were expressed as mean \pm standard deviation and statistical comparisons were conducted using Statgraphics Centurion XIX (Statgraphics Technologies, Inc., USA) employing one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Dunnett's post hoc test. Statistical significance was established when p-values were less than 0.05.

Results and Discussion

Phytochemical and quantification of total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) in extract

The qualitative analysis of the chemical constituents of the ethanol extract from *H. capitellata* indicated the presence of tannins, flavonoids, steroids, alkaloids, saponins, and phenolics. The results, presented in Table 2, employed a notation system where a (+) symbol denoted the presence, while a (-) symbol denoted the absence of specific plant chemical compounds in *H. capitellata*. Quantitatively, the EEHC exhibited a total phenolic content of 67.85 ± 4.29 mg GAE/g and a total flavonoid content of 41.64 ± 3.48 mg QE/g, as outlined in Table 3. The results indicate that the EEHC contains various components that may be associated with anti-inflammatory and anti-oxidative activities. Among these components, the presence of tannins, flavonoids, and phenolics, known for

their antibacterial properties and anti-inflammatory effects, suggests the potential application of the extract in treating gastric inflammation. Tannins may contribute to protecting the gastric mucosa from damage and exhibit anti-inflammatory effects. Flavonoids, as a type of compound with anti-

oxidative and anti-inflammatory properties, could play a crucial role in reducing inflammation and safeguarding the gastric mucosa. Phenolic compounds are also recognized for their antibacterial and anti-inflammatory capabilities.

Table 2

Chemical compounds of the ethanol leaf extract of *H. capitellata*

Phytochemicals	EEHC	Test	EEHC
Tannins	+	Alkaloids	+
Flavonoids	+	Saponins	+
Steroids	+	Phenolics	+

Note: (+) – presence, (–) – absence of tested phytochemicals.

Table 3

The content of total phenolic (TPC) and total flavonoid (TFC) in the ethanol leaf extract of *H. capitellata*

Sample	Total phenolic content (mg GAE/g)	Total flavonoid content (mg QE/g)
EEHC	67.85 ± 4.29	41.64 ± 3.48

Note: GAE – gallic acid equivalent, QE – quercetin equivalents.

Plant chemical analysis of the ethanol extract of *H. capitellata* leaves revealed the presence of secondary metabolites previously reported in other medicinal plants (Table 2). To the best of our knowledge, this study is the first to report the presence of tannins, flavonoids, steroids, alkaloids, saponins, and phenolics in *H. capitellata*. Alkaloids are the end products of plant metabolism and serve as a nitrogen reserve, an essential nutrient for plant growth. These plant metabolites have been known to possess sedative, cardiovascular protective, anti-inflammatory, and antioxidant properties. Another secondary metabolite identified in *H. capitellata* is steroids. Plant sterols are essential for plant growth, reproduction, and response to various biotic and abiotic stresses. These potent phytosterols have long been used as cholesterol-lowering agents and have immunosuppressive and anti-inflammatory properties [11]. Steroids also act as electron donors, neutralizing free radicals and converting them into more stable compounds, thus providing the final chain reaction [12]. The present study also found tannins in the EEHC. These phytochemicals are crucial in the chemical defense mechanism of plants

against pathogens and herbivores, as the bitter taste of tannins is less preferred by herbivores [11]. Tannins exhibit antioxidant properties, functioning by donating hydrogens and chelating metal ions such as Fe (II), Zn (II), Cu (II), and intervening in Fenton reactions [12]. Saponins are plant chemical compounds that exhibit soap-like characteristics and foam formation when mixed with water. When dissolved in water, saponins reduce the surface tension of water, allowing the formation of stable small bubbles. Due to their surfactant activity, saponins are excellent foaming agents (highly stable). In nature, plants rely on saponins as a mechanism to defend against parasites. Similarly, when consumed by animals, saponins provide similar protective abilities against harmful organisms [11]. Additionally, saponins are utilized by animals as natural antioxidants and also stimulate programmed cell death in tumor cell masses [12].

Polyphenols and flavonoids are important antioxidants and constitute a significant proportion in plants. The total phenolic and flavonoid content of *H. capitellata* is 67.85 mg GAE/g and 41.64 mg QE/g, respectively. According to a study

published by Kähkönen et al. [21], plants with a polyphenol content greater than 20 mg GAE/g exhibit strong antioxidant activity. Phenols are essential in plants for growth, particularly in lignin and pigment synthesis. They also provide structural integrity and support for plant tissues. More importantly, plant phenolic phytoalexins are secreted by plants to repel or destroy microorganisms and certain pathogens. Phenolic compounds are widespread in plants, and when plant-based foods are consumed, these plant chemicals contribute to enhanced absorption of natural antioxidants [11]. Flavonoids are plant chemical compounds found in many plant species and possess several medicinal benefits, including anticancer, antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, neuroprotective, cognitive-enhancing effects during aging, prevention of cardiovascular metabolic disorders, anticancer, and anti-proliferative properties. Extracts rich in flavonoids offer numerous medicinal benefits [22].

Evaluation of gastric acid secretion inhibition

Mice treated with indomethacin (IND group) exhibited elevated gastric acidity, as evidenced by a reduction in gastric pH, an increase in free acid content, and total acid levels compared to the distilled water group (DW) (Table 4, $p < 0.05$). Omeprazole treatment significantly mitigated gastric acidity compared to the IND group ($p < 0.05$), demonstrating the efficacy of omeprazole in acid control. All three doses of the extract (300, 350, and 400 mg/kg) markedly reduced gastric acidity compared to the IND-only group ($p < 0.05$). Particularly noteworthy, in the group treated with the highest dose of the extract (400 mg/kg), the decrease in total acid content was nearly equivalent to that of the distilled water group ($p > 0.05$) and significantly differed from the IND+OME group ($p < 0.05$). Consequently, EEHC demonstrated a positive impact in reducing gastric acidity in mice, exhibiting efficacy even surpassing that of omeprazole. These results may provide support for further research and the development of novel approaches in the treatment of gastric acidity.

Table 4

Potential effect of the *H. capitellata* leaf extract article against the pH, free and total acidities of gastric juice

Treatment	pH	Free acidity (mEq/l)	Total acidity (mEq/l)
DW group	6.95 ± 0.13 ^e	4.8 ± 0.16 ^a	7.66 ± 0.3 ^a
IND group	4.71 ± 0.16 ^a	12.52 ± 0.26 ^e	10.54 ± 0.21 ^e
IND+OME group	5.03 ± 0.14 ^b	11.8 ± 0.43 ^d	9.94 ± 0.36 ^d
IND+EEHC ₃₀₀ group	6.68 ± 0.19 ^c	5.56 ± 0.3 ^c	8.08 ± 0.27 ^b
IND+EEHC ₃₅₀ group	6.73 ± 0.18 ^{cd}	5.38 ± 0.28 ^{bc}	7.92 ± 0.31 ^{ab}
IND+EEHC ₄₀₀ group	6.89 ± 0.13 ^{de}	5.06 ± 0.39 ^{ab}	7.82 ± 0.31 ^{ab}

Note: Values are expressed as Mean ± SD, the letters (a, b, c, d, and e) represent significant differences between the groups ($p < 0.05$).

Most of the drugs currently used in the treatment of gastric ulcers, such as lansoprazole, pantoprazole, esomeprazole, omeprazole, etc., work by reducing gastric acid secretion. Acid suppression leads to an increase in blood gastrin levels. However, gastrin stimulates gastric acid secretion, increases enterochromaffin and carcinoid cell proliferation. Additionally, increased gastric acid levels increase the risk of intestinal infection and *H. pylori* infection. This creates favorable conditions for the development of gastric inflammation, gastric atrophy, and an

increased risk of glandular stomach cancer and intestinal metaplasia. Moreover, increased gastric acid also reduces calcium absorption in the intestine, impairs vitamin B₁₂ absorption, and increases the risk of osteoporosis and anemia [3]. The current study demonstrated that the gastroprotective effect of the ethanol leaf extract of *H. capitellata* did not significantly increase gastric acidity, which was significantly different from the effect of omeprazole ($p < 0.05$). The non-significant increase in pH, free acid, and total acid in the stomach caused by the extract may be

attributed to the moderate inhibitory effect of the extract components on gastric proton pump and histidine decarboxylase [3]. This provides an advantage for the extract over existing anti-ulcer medications.

Determination of gastric mucosal injury

The results presented in Fig. 2 reveal the impact of EEHC on the ulcer index and the percentage of ulcer inhibition. Indomethacin induced a significant elevation in the ulcer index (0.78 ± 0.02) in mice. Notably, treatment with the extract demonstrated a substantial improvement in ulcer inhibition. EEHC at doses of 300, 350, and 400 mg/kg exhibited notable ulcer inhibition capacities (56.07%, 58.93%, and 63.93%, respectively),

accompanied by ulcer indices (0.34 ± 0.04 , 0.32 ± 0.03 , and 0.28 ± 0.02 , respectively) that were significantly different from the IND group (0% ulcer inhibition, ulcer index 0.78 ± 0.02) ($p < 0.05$). The therapeutic effect of EEHC on gastric ulcers proved to be comparable to the effect of omeprazole (58.93% ulcer inhibition, ulcer index 0.32 ± 0.02) ($p > 0.05$). These findings suggest that the ulcer healing properties observed in the ethanol leaf extract of *H. capitellata* indicate its gastroprotective effects. The data underscore the potential of EEHC as a promising agent in mitigating indomethacin-induced gastric ulcers and emphasize its comparable efficacy to the standard medication, omeprazole.

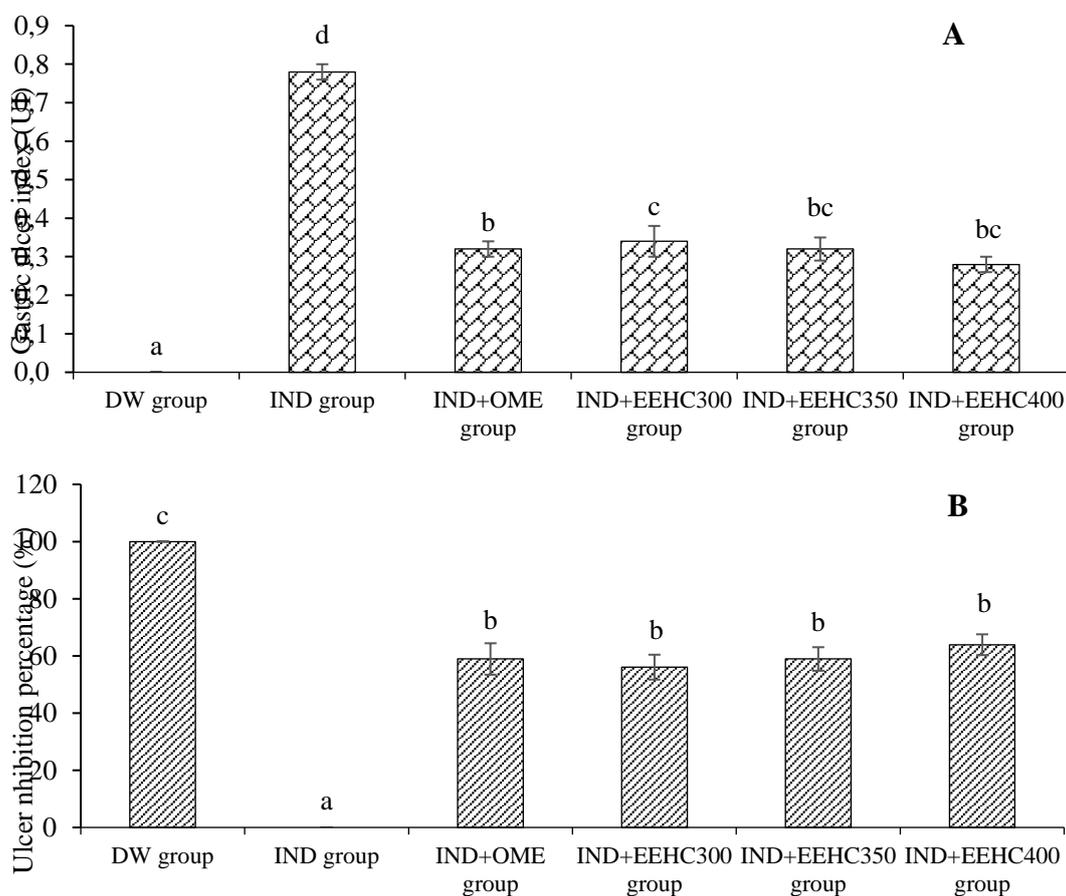


Fig. 2. Efficacy of *H. capitellata* leaf extract in lesional area and inhibition rate in a mouse model of indomethacin-induced gastritis; A. Gastric ulcer index, B. Ulcer inhibition percentage. The letters (a, b, c, and d) represent significant differences between the groups ($p < 0.05$).

Gastric ulcer is a common digestive disorder characterized by inflammatory lesions or craters in the mucosal and submucosal layers, resulting from an imbalance between

damaging factors such as acid, pepsin, *H. pylori*, and defensive factors such as gastric mucus, bicarbonate ions, and prostaglandins along with the innate resistance of the mucosal

cells [4]. Currently, NSAIDs are widely used worldwide for their analgesic and anti-inflammatory properties. Indomethacin (IND), an NSAID, is widely used in clinical practice. However, IND can cause severe ulceration and erosion that extends to the gastric mucosa. IND induces gastric mucosal damage by activating inflammatory cells, producing pro-inflammatory cytokines, and inducing oxidative stress. The generation of free radicals and lipid peroxides plays a crucial role in the development of IND-induced gastric mucosal injury [16]. The ulcer index and percentage of ulcer inhibition data from this study indicate that EEHC has potential anti-inflammatory and antioxidant effects against IND-induced gastric mucosal damage. Plant components such as flavonoids, tannins, and saponins have been reported in several ulcer-protective studies and may contribute to gastric mucosal protection. Flavonoids and tannins are among the cell-protective agents that have been widely acknowledged for their ulcer-preventive efficacy. It is believed that these compounds can stimulate the secretion of mucus, bicarbonate, and prostaglandins, while counteracting the deleterious effects of oxidative substances in the gastrointestinal

tract. Tannins can inhibit the development of ulcers through protein precipitation and their vasoconstrictive effects. Their ulcer-sealing effects may help in precipitating protein over the ulcer site, thus forming a water-impermeable layer on the mucosa, impeding the secretion from the intestine, and protecting the underlying mucosa from toxins and other irritants [2].

Hematology and biochemistry

Table 5 provides a comprehensive overview of the alterations in hematological and biochemical parameters observed in mice undergoing treatment for gastric inflammation induced by IND. A significant increase in WBC count was evident during the IND-induced gastric ulceration process, displaying a noteworthy difference compared to the DW group ($p < 0.05$). Conversely, the RBC count demonstrated a significant decrease during IND treatment ($p < 0.05$). The counts of various white blood cell types (LYM, MONO, and GRA) exhibited significant variations in the IND-treated groups compared to the DW group ($p < 0.05$). The levels of ALP, CRP, and ESR significantly increased after mice were treated with IND ($p < 0.05$).

Table 5

Effect of ethanol extract of *H. capitellata* leaves on hematological and serum biochemical parameters of mice with indomethacin-induced gastritis

Parameters	DW group	IND group	IND+OME group	IND+EEHC ₃₀₀ group	IND+EEHC ₃₅₀ group	IND+EEHC ₄₀₀ group
RBC ($\times 10^6$ cell/mm ³)	6.81 \pm 0.12 ^f	4.06 \pm 0.11 ^a	6.16 \pm 0.02 ^e	5.38 \pm 0.09 ^b	5.66 \pm 0.12 ^c	6.07 \pm 0.11 ^d
WBC ($\times 10^3$ cell/mm ³)	4.44 \pm 0.11 ^a	10.02 \pm 0.11 ^f	5.09 \pm 0.08 ^b	6.21 \pm 0.09 ^e	5.77 \pm 0.11 ^d	5.48 \pm 0.11 ^c
LYM ($\times 10^3$ cell/mm ³)	2.51 \pm 0.11 ^a	5.41 \pm 0.08 ^d	2.63 \pm 0.09 ^a	3.11 \pm 0.07 ^c	2.94 \pm 0.12 ^b	2.84 \pm 0.09 ^b
MONO ($\times 10^3$ cell/mm ³)	1.29 \pm 0.09 ^a	2.39 \pm 0.07 ^e	1.55 \pm 0.09 ^b	1.87 \pm 0.09 ^d	1.72 \pm 0.12 ^c	1.63 \pm 0.08 ^{bc}
GRA ($\times 10^3$ cell/mm ³)	1.23 \pm 0.06 ^c	2.21 \pm 0.07 ^d	1.01 \pm 0.06 ^a	1.23 \pm 0.06 ^c	1.1 \pm 0.11 ^b	1.501 \pm 0.06 ^a
CRP (mg/L)	0.37 \pm 0.06 ^a	6.86 \pm 0.07 ^f	2.58 \pm 0.05 ^b	3.92 \pm 0.09 ^e	3.46 \pm 0.05 ^d	2.97 \pm 0.08 ^c
ALP (U/L)	147.72 \pm 17.57 ^a	530.99 \pm 21.99 ^f	203.21 \pm 14.93 ^b	312.89 \pm 19.22 ^e	278.15 \pm 16.57 ^d	241.72 \pm 20.69 ^c
ESR (mm/hr)	5.45 \pm 0.05 ^a	8.88 \pm 0.08 ^f	5.79 \pm 0.08 ^b	6.81 \pm 0.09 ^e	6.34 \pm 0.06 ^d	6.01 \pm 0.08 ^c

Note: Values are expressed as Mean \pm SD, the letters (a, b, c, d, e, and f) represent significant differences between the groups ($p < 0.05$). Red blood cells (RBC), White blood cells (WBC), Lymphocytes (LYM), Monocytes (MONO), Granulocytes (GRA), C-reactive protein (CRP), Alkaline phosphatase (ALP), Erythrocyte sedimentation rate (ESR).

The reversal of these adverse effects was notable after treating the mice for gastric ulceration with EEHC and OME. Specifically, in the EEHC₃₀₀, EEHC₃₅₀, and EEHC₄₀₀ groups, the WBC count, ALP, CRP, and ESR levels demonstrated a significant decrease compared to the IND group ($p < 0.05$), while the RBC count significantly increased ($p < 0.05$). These findings suggest that EEHC has a potential protective effect on hematological and biochemical parameters, counteracting the IND-induced alterations. The observed improvements in these parameters further support the potential therapeutic benefits of EEHC in the context of gastric ulceration.

The treatment of gastric ulcers in animals depends on various factors, such as age, overall health status, disease severity, and drug absorption capacity. Physiological studies have shown that stress from any source can affect the endocrine, hematopoietic, and immune systems. The white blood cell count and neutrophil count increase, while lymphocyte, eosinophil, and monocyte counts decrease due to stress [23]. Red blood cells (RBCs) are crucial in the ulcer healing process as they are responsible for carrying oxygen to the affected tissue. The availability of oxygen affects all stages of the healing process, making it essential for successful healing. A decrease in RBC count due to aspirin use has also been previously observed in gastric tissue injury [24], which corresponds to the current study where RBC count decreased in mice treated with IND. In this study, the RBC count increased in mice treated with EEHC and OME, providing more oxygen for granulation tissue formation and faster wound healing. The body's cellular protective mechanisms are mobilized through biological reactions in the injured area, accompanied by vascular and nervous reactions, which are necessary for tissue repair. Previous studies have shown that the natural healing process in mice requires an enhanced immune response through increased production of white blood cells [23]. The current study observed an increase in WBC count in mice after inducing ulceration with IND, indicating an immune response in animals with IND-induced inflammation.

Lymphocyte (LYM) and granulocyte (GRA) counts are indicative of the inflammatory status in animals. Recently, increased lymphocyte and granulocyte counts have been observed in inflammatory disorders such as splenitis and colitis. An increase in lymphocyte and granulocyte counts indicates a more pronounced inflammatory condition, while a decrease in these parameters indicates reduced inflammation, leading to improved healing ability [23]. In this study, as the healing process progressed, the mice maintained low lymphocyte and granulocyte counts, indicating a faster healing process. C-reactive protein (CRP) and alkaline phosphatase (ALP) play essential roles in tissue necrosis, and their levels increase in alcohol-induced, aspirin-induced, and IND-induced tissue injury [25]. During the healing process in the current study, the activities of these parameters decreased in mice treated with the extract. The observed reduction may be a mechanism associated with enhanced ulcer healing reported in previous studies [26].

Changes in malondialdehyde (MDA) levels in gastric mucosa

The presented results in Fig. 3 highlight the concentration of malondialdehyde (MDA) in the gastric mucosa and its response to different treatments. The concentration of MDA in the distilled water (DW) group was measured at 2.39 ± 0.19 nM/g tissue, establishing a baseline for comparison. A substantial and statistically significant increase in MDA concentration was observed in the gastric mucosa of the IND group (12.54 ± 0.23 nM/g tissue) compared to the DW group ($p < 0.05$). This elevation indicates oxidative stress or lipid peroxidation in response to IND-induced gastric inflammation. Mice treated with EEHC at doses of 300, 350, and 400 mg/kg showed varying levels of MDA (7.72 ± 0.13 , 6.82 ± 0.14 , and 5.29 ± 0.15 nM/g tissue, respectively). Although EEHC at 300 and 350 mg/kg did not significantly reduce MDA levels compared to the IND group ($p > 0.05$), treatment with EEHC at 400 mg/kg resulted in a significant decrease in MDA concentration, approaching the level observed in the IND+OME group ($p < 0.05$),

suggesting a dose-dependent antioxidant effect. This suggests a potential dose-dependent response, with higher doses of EEHC showing a trend toward mitigating the elevated MDA levels induced by IND. The ratios presented do not indicate a significant overall improvement in MDA concentration in

the gastric tissue of the EEHC-treated groups, as mentioned in Fig. 3. So, while the lower doses of EEHC did not show significant improvement in MDA concentration, the higher dose (400 mg/kg) demonstrated a trend toward normalization, suggesting a potential dose-dependent effect.

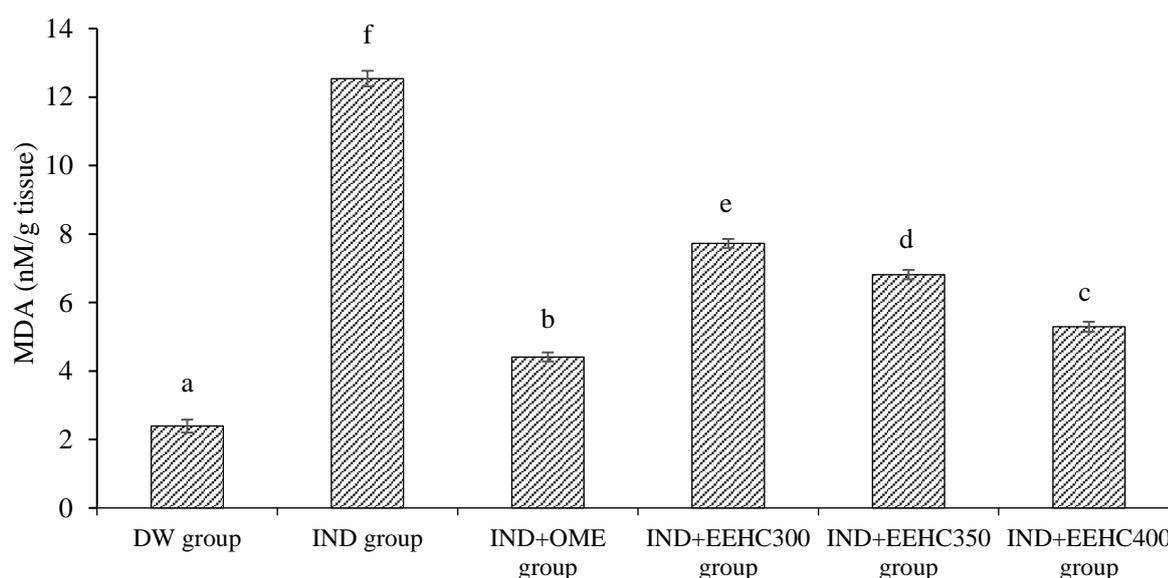


Fig. 3. Effect of treatment with *H. capitellata* leaf extract on malondialdehyde (MDA) levels in a mouse model of indomethacin-induced gastric ulcer. The letters (a, b, c, and d) represent significant differences between the groups ($p < 0.05$)

Oxidative damage becomes more pronounced with the process of lipid peroxidation, which is crucial in the pathophysiology of gastric injury involving cellular and membrane damage. In previous studies, the amount of lipid peroxidation has been shown to be associated with IND-induced gastric mucosal damage [16]. The increase in MDA levels is correlated with tissue damage and is an important factor in NSAID-related gastric injury [27]. The permeation of IND into the subepithelial layer causes tension in the gastric tissue, thus leading to gastric ulceration. The production of ROS and oxidative stress are the main causes of increased lipid peroxidation (MDA). The current study confirmed the findings of Abbas and Sakr and Fahmy et al. in observing an increase in the levels of the end products of lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA), in gastric tissues after IND treatment [28, 29]. The level of MDA is believed to reflect cellular

membrane damage through the intermediate of free radicals [29]. As demonstrated in the results of the present study, the treatment of gastric ulcers by EEHC and omeprazole significantly reversed the changes induced by IND in MDA levels, suggesting that the mechanism of both the anti-inflammatory effects of omeprazole and EEHC may involve their antioxidant effects.

The activity of antioxidants in the stomach

The results presented in Table 6 offer insights into the impact of EEHC on antioxidant enzymes in the context of gastric mucosal response to IND. The activities of CAT and MPO were significantly inhibited in the gastric mucosa of animals exposed to IND, indicating a reduction in antioxidant defenses ($p < 0.05$). The values for CAT (34.85 ± 0.11 mM/min/mg of tissue) and MPO (9.18 ± 0.11 mM/min/mg of tissue) in the IND group were markedly higher compared to the intact gastric

mucosa (CAT: 17.55±0.15, MPO: 2.52±0.12 mM/min/mg of tissue, respectively). Pretreatment with EEHC mitigated the decline in CAT and MPO activities induced by IND, with the 400 mg/kg EEHC group showing the most significant improvement (CAT: 24.95±0.14 mM/min/mg of tissue, MPO: 4.56±0.12 mM/min/mg of tissue) compared to the IND-only group (p<0.05). IND led to a decrease in GSH (2.57±0.09 nM/mg tissue) and TAC (11.93±0.12 nM/mg protein) compared to the control group (p<0.05). The control group had higher GSH (5.32±0.11 nM/mg tissue) and TAC (29.18±0.15 nM/mg protein) values. Pretreatment with EEHC increased GSH and

TAC activities in the stomach, with the most notable efficacy observed at a dose of 400 mg/kg (GSH: 4.51±0.06 nM/mg protein, TAC: 22.82±0.07 nM/mg protein) (p<0.05). Therefore, EEHC demonstrated a protective effect on antioxidant enzymes, including CAT, MPO, GSH, and TAC, in the gastric mucosa exposed to IND-induced inflammation. The most pronounced improvements were observed at the highest dose of EEHC (400 mg/kg), indicating a dose-dependent response. These findings suggest that EEHC may play a crucial role in preserving the antioxidant balance in the gastric mucosa under inflammatory conditions induced by IND.

Table 6

Effect of treatment with *H. capitellata* leaf extract on antioxidant activity in a mouse model of indomethacin-induced gastric ulcer

Treatment	CAT (mM/min/g tissue)	MPO (mM/min/mg of tissue)	GSH (nM/mg tissue)	TAC (nM/mg protein)
DW group	17.55 ± 0.15 ^a	2.52 ± 0.12 ^a	5.32 ± 0.11 ^f	29.18 ± 0.15 ^f
IND group	34.85 ± 0.11 ^f	9.18 ± 0.11 ^f	2.57 ± 0.09 ^a	11.93 ± 0.12 ^a
IND+OME group	21.93 ± 0.13 ^b	3.85 ± 0.11 ^b	4.76 ± 0.08 ^e	26.02 ± 0.12 ^e
IND+EEHC ₃₀₀ group	28.43 ± 0.11 ^e	5.94 ± 0.14 ^e	3.79 ± 0.09 ^b	15.88 ± 0.12 ^b
IND+EEHC ₃₅₀ group	25.35 ± 0.11 ^d	5.29 ± 0.11 ^d	4.18 ± 0.06 ^c	18.81 ± 0.09 ^c
IND+EEHC ₄₀₀ group	24.95 ± 0.14 ^c	4.56 ± 0.12 ^c	4.51 ± 0.06 ^d	22.82 ± 0.07 ^d

Note: Values are expressed as Mean±SD (n=5), the letters (a, b, c, d, e, and f) represent significant differences between the groups (p<0.05); Myeloperoxidase (MPO), Catalase (CAT), Glutathione (GSH), Total antioxidant capacity (TAC).

Reactive oxygen species (ROS) are generated during cellular metabolism under both physiological and pathological conditions. However, excessive ROS release is evident in disease states [20]. Organisms protect against the adverse effects of ROS through specific antioxidant defense systems, including enzymatic and endogenous scavenging systems. Specifically, catalase (CAT) and myeloperoxidase (MPO) are characterized as the first line of defense against oxidative stress. MPO can catalyze the conversion of hydrogen peroxide (H₂O₂) to hypochlorous acid (HOCl) in the presence of chloride ions, generating reactive oxygen species (ROS) that directly damage pathogens. CAT neutralizes the harmful effects of H₂O₂ by converting it into water. When excessive ROS is released, these protective mechanisms can become overwhelmed. IND has been shown to decrease the activity of CAT and

MPO [30], which is also confirmed in the present study. Furthermore, we demonstrated that treatment with EEHC modulated the increased levels of CAT and MPO in the IND-induced gastric ulcer animal model. The elevation of CAT and MPO activities will prevent lipid peroxidation and tissue destruction, thus promoting the recovery of IND-induced gastric damage [20]. Glutathione (GSH) and total antioxidant capacity (TAC) protect cells against free radicals, peroxides, and other harmful compounds. Reduced GSH and TAC levels in the gastric mucosa can lead to the accumulation of free radicals, which may cause cellular membrane damage through lipid peroxidation [29]. This is consistent with our study, which reported a decrease in GSH and TAC concentrations in the gastric tissue of mice treated with IND. Gastric injury depletes GSH and TAC, which serve as the first line of defense for cells against oxidative damage.

This can lead to more severe tissue damage during gastric ulceration. Treatment with OME and EEHC restored the levels of GSH and TAC, indicating a potential protective effect against oxidative damage.

Effect of EEHC on the release of inflammatory cytokines

The findings presented in Table 7 highlight the impact of *H. capitellata* leaf extract on inflammatory markers in the context of IND-induced inflammation. Administration of IND significantly increased the expression of inflammatory markers, including IL-1 β , IL-6, and TNF- α ($p < 0.05$). Additionally, there was a significant reduction in the concentration of anti-inflammatory cytokine IL-10 compared to the DW group ($p < 0.05$). Treatment with *H. capitellata* leaf extract at doses of 300, 350, and 400 mg/kg resulted in a reversal of these IND-induced effects ($p < 0.05$). The concentrations of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and IL-

10 were significantly decreased, indicating a reduction in the inflammatory response ($p < 0.05$). Notably, the concentration of IL-10 was significantly increased, suggesting an enhancement of anti-inflammatory mechanisms ($p < 0.05$). These results suggest that *H. capitellata* leaf extract possesses anti-inflammatory properties, as evidenced by its ability to modulate the expression of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α) and enhance the concentration of the anti-inflammatory cytokine IL-10. The observed effects at various doses of the extract indicate a dose-dependent response, with higher doses exhibiting more pronounced anti-inflammatory effects. Overall, these findings support the potential therapeutic use of *H. capitellata* leaf extract in mitigating inflammatory responses, providing a basis for further exploration in the development of anti-inflammatory interventions.

Table 7

Effect of treatment with *H. capitellata* leaf extract on antioxidant activity in a mouse model of indomethacin-induced gastric ulcers

Treatment	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
DW group	154.72 \pm 14.09 ^a	258.09 \pm 14.52 ^a	27.65 \pm 3.26 ^a	164.85 \pm 5.85 ^f
IND group	319.88 \pm 12.01 ^f	601.31 \pm 16.49 ^f	70.21 \pm 5.09 ^c	80.74 \pm 5.55 ^a
IND+OME group	185.81 \pm 11.33 ^b	298.21 \pm 12.59 ^b	25.47 \pm 3.17 ^a	157.61 \pm 5.41 ^e
IND+EEHC ₃₀₀ group	290.74 \pm 12.01 ^e	406.96 \pm 12.71 ^e	36.07 \pm 2.38 ^b	112.87 \pm 4.91 ^b
IND+EEHC ₃₅₀ group	257.89 \pm 19.18 ^d	370.97 \pm 14.98 ^d	35.60 \pm 2.32 ^b	133.73 \pm 3.81 ^c
IND+EEHC ₄₀₀ group	224.04 \pm 17.56 ^c	335.88 \pm 17.18 ^c	26.36 \pm 3.39 ^a	145.01 \pm 4.02 ^d

Note: Values are expressed as Mean \pm SD (n=5), the letters (a, b, c, d, e, and f) represent significant differences between the groups ($p < 0.05$).

In the pathogenesis of gastric ulcer, mucosal damage plays a crucial role mediated by certain pro-inflammatory cytokines synthesized in the gastric mucosa upon IND administration. Some important cytokines involved include TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IL-10, released from macrophages during inflammation [31]. Indomethacin induces high-grade mucosal inflammation, characterized by a significant increase in infiltration of inflammatory cells in the gastric mucosa, elevated levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and reduced levels of IL-10 compared to the DW group. Treatment with the plant extract at all three doses inhibited infiltration of gastric inflammatory cells, significantly decreased the levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and increased the level of IL-10 in the serum. This indicates the

anti-inflammatory role of EEHC. IL-6 stimulates lymphocytes, macrophages, and neutrophils at the site of inflammation, leading to excessive production of ROS and lysosomal enzymes, resulting in tissue damage in gastric ulcers. TNF- α plays a crucial role in IND-induced mucosal damage by reducing blood flow to the gastric mucosa and upregulating the expression of gastrin and vascular endothelial growth factor in the gastric mucosa, thereby hindering the ulcer healing process. TNF- α also activates the NF- κ B pathway as an intermediate for the transcription process of certain adhesion molecules, leading to the infiltration of inflammatory cells observed in mice treated with IND [3]. IL-1 β is a pro-inflammatory cytokine produced during gastric inflammation

and enhances the inflammatory response, causing an imbalance between detrimental and defensive factors such as increased angiogenesis, increased mucous membrane permeability, and enhanced infiltration of inflammatory cells. IL-10 is an anti-inflammatory cytokine that can reduce the inflammatory response, maintain a balance between inflammation and anti-inflammation by inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines. IL-10 helps reduce mucosal damage, alleviate inflammation, dampen excessive immune responses, and inhibit the proliferation of inflammatory cells [16]. In the present study, the decrease in TNF- α , IL-1, IL-6 levels, and the significant increase in IL-10 levels in serum indicate a reduction in the oxidative and inflammatory conditions. A previous study suggested that the anti-inflammatory effects of the extract are mediated through the downregulation of cytokines such as TNF- α , IL-1, and IL-6 [32]. The authors explained that this improvement is attributed to the polyphenolic content of the extract, which possesses strong antioxidant, anti-inflammatory, and tissue-repairing properties.

Macroscopic and histopathologic evaluation

The visual observations presented in Fig. 4 provide valuable insights into the protective effects of EEHC and OME against gastric mucosal damage induced by IND. The distilled water control group (Fig. 4Aa) did not exhibit mucosal ulcerations or bleeding lesions, indicating a healthy gastric mucosa. In contrast, IND-treated mice displayed distinct localized ulcerative and hemorrhagic lesions in the gastric mucosa (Fig. 4Ab). This observation aligns with the expected effects of IND, causing visible damage to the gastric lining. Mice treated with EEHC and OME showed a marked inhibition of total gastric lesions (Fig. 4Ac, 4Ad). The mucosal lesions decreased in a dose-dependent manner, suggesting a potential protective effect of both EEHC and OME against IND-induced gastric mucosal damage. The most pronounced inhibitory effect on the increased area of gastric mucosal lesions caused by IND was observed in the EEHC-treated group at a dose of 400 mg/kg (Fig. 4Ac).

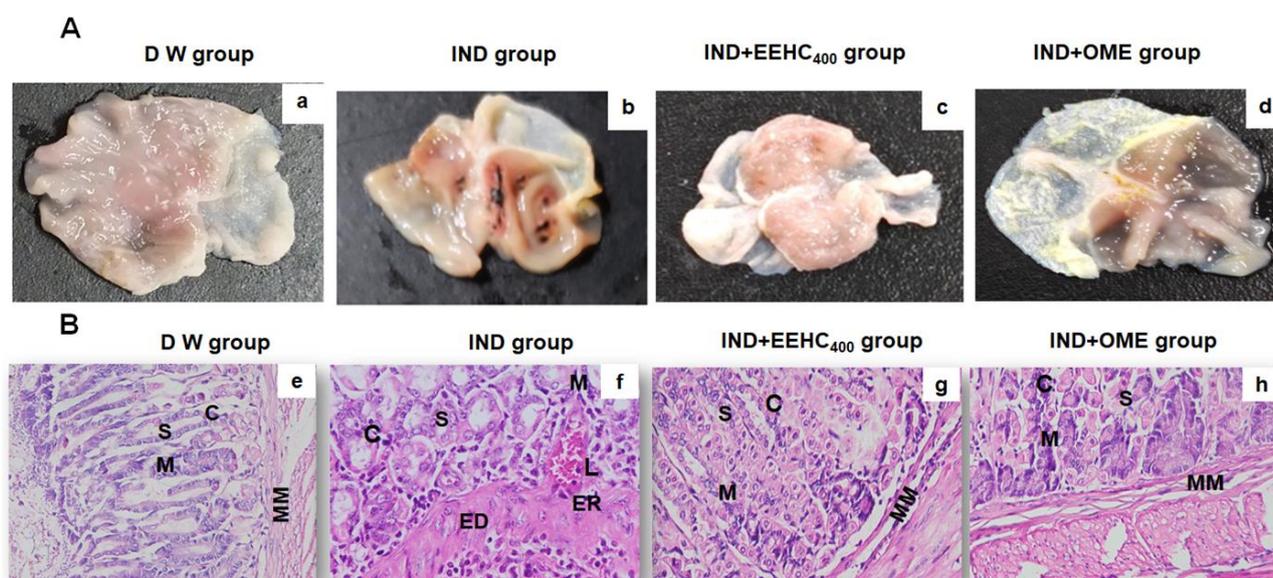


Fig. 4. Efficacy of treatment with *H. capitellata* leaf extract on the morphology and pathology of the stomach in a mouse model of indomethacin-induced gastric ulcer. A. Morphology of the gastric mucosa, B. Gastric pathology (H&E staining, magnification 400 \times). Legend: Mucosal barrier (M), chief cells (C), surface epithelial cells (S), muscularis mucosae (MM), lymphocytes (L), edematous gastric mucosa (ED), erosion of the gastric mucosa (ER)

This indicates a potential dose-dependent response, with higher doses of EEHC providing greater protection against mucosal damage. Overall, these visual observations corroborate the biochemical and molecular findings, suggesting that EEHC has a protective effect against IND-induced gastric ulcerations and lesions. The dose-dependent response and the comparative efficacy with OME further support the potential therapeutic value of EEHC in preventing or mitigating gastric mucosal damage induced by inflammatory agents such as IND.

The detailed histological observations in Fig. 4B provide crucial insights into the protective effects of *H. capitellata* leaf extract (EEHC) against severe gastric mucosal injuries induced by IND. Severe mucosal edema and erosion, extensive localized surface mucosal injury, infiltration of lymphocytes, deep infiltration of inflammatory cells, erosion of the muscular layer resulting in congestion or hemorrhage, and necrotic ulcerative lesions in the gastric glands were observed after IND treatment (Fig. 4Bf). These findings illustrate the damaging impact of IND on the gastric mucosa. Treatment with *H. capitellata* leaf extract (Fig. 4Bg) significantly suppressed the IND-induced gastric mucosal injuries. Notable observations include the process of surface epithelial cell regeneration, a significant reduction in the infiltration of inflammatory cells, restoration of muscular layers, and the absence of mucosal erosion. The mucosal recovery expression in the IND+EEHC₄₀₀ group (Fig. 4Bh) was comparable to the IND+OME group. This suggests that EEHC, particularly at a dose of 400 mg/kg, exhibited a level of mucosal recovery comparable to the standard medication omeprazole (OME). The mucosal recovery in the IND+EEHC₄₀₀ group showed no significant difference compared to the distilled water control group (Fig. 4Be). This indicates that the protective effects of EEHC were successful in mitigating the severe mucosal injuries induced by IND, restoring the gastric mucosa to a condition similar to the untreated control group. So, these histological observations provide compelling evidence of the gastroprotective effects of *H. capitellata*

leaf extract against severe gastric mucosal injuries induced by IND. The regenerative processes and the absence of significant differences compared to the control group suggest that EEHC has the potential to aid in the recovery and repair of gastric mucosa subjected to inflammatory insults.

Histological observations demonstrated the regeneration of gastric mucosal epithelium in mice treated with EEHC and OME. According to Ajayi et al., the regeneration of ulcer bed mucosal epithelium is a crucial process for healing gastrointestinal mucosal injuries [23]. Without the restoration of a continuous mucosal barrier, the mucosa becomes susceptible to mechanical, chemical, and infectious damage, thereby impeding the ulcer healing process. Previous reports have also shown that reducing the infiltration of lymphocytes into ulcerated gastric tissues is associated with promoting the healing of chronic ulcers caused by IND in mice [33]. The findings of the present study are consistent with these previous findings.

Conclusions. This study validates the efficacy of *H. capitellata* leaf ethanol extract (EEHC) in alleviating gastric mucosal damage. EEHC demonstrated a comprehensive impact, including reduced ulcer index, decreased white blood cell (WBC) count, lowered malondialdehyde (MDA) concentration, and modulation of oxidative enzymes (myeloperoxidase and catalase). Significant changes were also observed in pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6, IL-1 β), increased red blood cell (RBC) counts, and enhanced endogenous antioxidants (glutathione and total antioxidant capacity). Notably, the anti-inflammatory cytokine IL-10 increased compared to the indomethacin-treated group. Histological analysis revealed gastric mucosal epithelial regeneration with EEHC treatment. The study explored active compounds, predicted targets, and mechanisms of EEHC's anti-inflammatory actions through pharmacological analysis. These effects primarily involved reinforcing the antioxidant defense system and modulating inflammatory markers. In conclusion, *H. capitellata* leaf extract exhibits distinctive

anti-inflammatory properties, showing promise for novel plant-based therapeutic strategies in managing gastric ulcer inflammation and serving as a potential source of medicinal ingredients for further research.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. Guerra GCB, Andrade AWL, et al. Gastric ulcer healing property of *Bryophyllum pinnatum* leaf extract in chronic model *in vivo* and gastroprotective activity of its major flavonoid. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:744192. DOI: <http://doi.org/10.3389/fphar.2021.744192>
2. Qureshi MS, Reddy AV, Kumar GS. Protective effect of *Hydrolea zeylanica* Vahl. leaf extract in ethanol and cold restraint stress induced ulcers in rats. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2017;10(1):49-54. DOI: <http://doi.org/10.5958/0974-360X.2017.00012.9>
3. Nabil M, Raey MAE, Abdo W, et al. Gastro-protective effects of *Albizia anthelmintica* leaf extract on indomethacin-induced gastric ulcer in wistar rats: *in silico* and *in vivo* studies. *Antioxidants*. 2021;10(2):176. DOI: <http://doi.org/10.3390/antiox10020176>
4. Park JU, Kang JH, Rahman MAA, et al. Gastroprotective effects of plants extracts on gastric mucosal injury in experimental sprague-dawley rats. *BioMed Research International*. 2019;2019:8759708. DOI: <http://doi.org/10.1155/2019/8759708>
5. Huyen LT, Hau NTT, Son VH, et al. A new β -carboline alkaloid from the aerial part of *Hedyotis capitellata*. *Natural Product Communications*. 2021;16(10):1-4. DOI: <http://doi.org/10.1177/1934578X211047705>
6. Rohaya A. Biological activity of *Hedyotis* spp. and chemical constituents of *Hedyotis capitellata*. Malaysia: Universiti Putra Malaysia; 2005.
7. Hung HY, Cheng KC, Kuo PC, et al. Chemical constituents of *Hedyotis diffusa* and their anti-inflammatory bioactivities. *Antioxidants*. 2022;11(2):335. DOI: <http://doi.org/10.3390/antiox11020335>
8. Artanti N, Hanafi M, Andriyani R, et al. Isolation of an anti-cancer asperuloside from *Hedyotis corymbosa* L. *Journal of Tropical Life Science*. 2015;5(2):98-101. DOI: <https://doi.org/10.11594/jtls.05.02.06>
9. Duc LV, Thanh TB, Giang NP, et al. Anti-inflammatory and anticancer activities of *Hedyotis capitellata* growing in Vietnam. *World Journal of Medical Sciences*. 2017;14(2):22-28. DOI: <http://doi.org/10.5829/idosi.wjms.2017.22.28>
10. Loi DT. Vietnamese Medicinal Plants and Herbs. Hanoi: Medical Publisher; 2006. Vietnamese.
11. Muhamad M, Sze WA, Zulkifli NS, et al. Qualitative analysis on the phytochemical compounds and total phenolic content of *Cissus hastata* (semperai) leaf extract. *International Journal of Plant Biology*. 2023;14(1):53-62. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijpb14010005>
12. Mansoori A, Singh N, Dubey SK, et al. Phytochemical characterization and assessment of crude extracts from *Lantana camara* L. for antioxidant and antimicrobial activity. *Frontiers in Agronomy*. 2020;2:582268. DOI: <http://doi.org/10.3389/fagro.2020.582268>
13. World Health Organization (WHO). General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine; 2000.
14. Hurst SA. Declaration of Helsinki and protection for vulnerable research participants. *JAMA*. 2014;311(12):1252. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2014.1272>
15. Luyen LT, Quang NN. National guideline on ethics in biomedical research. Hanoi: Ministry of Health of Vietnam; 2013. Vietnamese.
16. Tastekin E, Ayvaz S, Usta U, et al. Indomethacin-induced gastric damage in rats and the protective effect of donkey milk. *Archives of Medical Science*. 2018;14(3):671-678. DOI: <http://doi.org/10.5114/aoms.2016.59645>
17. Jong-Min L, Chang-Hyun S, Dong-Chan P, et al. Protective effects of triple fermented barley extract (FBe) on indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2019;19:49. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12906-019-2457-0>
18. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*. 1968;25:192-205. DOI: [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](http://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)

19. Popović D, Kocić G, Katić V, et al. Anthocyanins protect hepatocytes against CCl₄-induced acute liver injury in rats by inhibiting pro-inflammatory mediators, polyamine catabolism, lipocalin-2, and excessive proliferation of kupffer cells. *Antioxidants*. 2019;8(10):451. DOI: <http://doi.org/10.3390/antiox8100451>
20. Danisman B, Cicek B, Yildirim S, et al. Carnosic acid ameliorates indomethacin-induced gastric ulceration in rats by alleviating oxidative stress and inflammation. *Biomedicines*. 2023;11(3):829. DOI: <http://doi.org/10.3390/biomedicines11030829>
21. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999;47:3954-3962. DOI: <http://doi.org/10.1021/jf990146l>
22. Ullah A, Munir S, Badshah SL, et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*. 2020;25(22):5243. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules25225243>
23. Ajayi AF, Olaleye BS. Age-related changes in haematological parameters and biochemical markers of healing in the stomach of rats with acetic acid induced injury. *Toxicology Reports*. 2020;7:1272-1281. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.09.007>
24. Adefisayo MA, Akomolafe RO, Akinsomisoye SO, et al. Gastroprotective effect of methanol extract of *Vernonia amygdalina* (del.) leaf on aspirin-induced gastric ulcer in Wistar rats. *Toxicology Reports*. 2017;4:625-633. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.11.004s>
25. Mornet E, Stura E, Lia-Baldini AS, et al. Structural evidence for a functional role of human tissue nonspecific alkaline phosphatase in bone mineralization. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(33):31171-31178. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M102788200>
26. Ajayi AF, Olaleye SB. Age-related changes in the response of the rat gastric mucosa to acetic acid- and indomethacin-induced ulceration. *Archives of Basic and Applied Medicine*. 2015;3:79-88.
27. Lim JM, Song CH, Park SJ, et al. Protective effects of triple fermented barley extract (FBe) on indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2019;19:49-60. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12906-019-2457-0>
28. Abbas AM, Sakr HF. Effect of selenium and grape seed extract on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2013;69(3):527-537. DOI: <http://doi.org/10.1007/s13105-013-0241-z>
29. Fahmy SR, Amer MA, Mohannad H, et al. Ameliorative effect of the sea cucumber *Holothuria arenicola* extract against gastric ulcer in rats. *Journal of Basic and Applied Zoology*. 2015;72:16-25. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.03.001>
30. Küçükler S, Kandemir FM, Yıldırım S. Protective effect of chrysin on indomethacin induced gastric ulcer in rats: Role of multi-pathway regulation. *Biotechnic and Histochemistry*. 2022;97(7):490-503. DOI: <http://doi.org/10.1080/10520295.2021.2014569>
31. Gilani SJ, Bin-Jumah MN, Al-Abbasi FA, et al. Protective effect of fustin against ethanol-activated gastric ulcer via downregulation of biochemical parameters in rats. *ACS Omega*. 2022;7(27):23245-23254. DOI: <http://doi.org/10.1021/acsomega.2c01341>
32. El-Rady NMA, Dahpy MA, Ahmed A, et al. Interplay of biochemical, genetic, and immunohistochemical factors in the etiopathogenesis of gastric ulcer in rats: a comparative study of the effect of pomegranate loaded nanoparticles versus pomegranate peel extract. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:649462. DOI: <http://doi.org/10.3389/fphys.2021.649462>
33. Kobayashi T, Ohta Y, Yoshino J, et al. Teprenone promotes the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcer in rats by inhibiting neutrophils infiltration and lipid peroxidation in ulcerated gastric tissue. *Pharmacological Research*. 2001;43(1):23-30. DOI: <http://doi.org/10.1006/phrs.2000.0748>

Received 6 May 2024

Revised 28 May 2024

Accepted 10 June 2024

Information about the authors

Tran T.P. Nhung, MSc, Institute of Biotechnology and Food Technology, Industrial University of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh, Vietnam, E-mail: tranthiphuongnhung@iuh.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5733-8545>.

Le P.T. Quoc, PhD, Institute of Biotechnology and Food Technology, Industrial University of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh, Vietnam, E-mail: lephamtanquoc@iuh.edu.vn, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2309-5423>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-7

УДК 615.222:599.323.4

Антиаритмический эффект амиодарона на модели адреналовых желудочковых аритмий у крыс с гипергликемией и сочетанием гипергликемии с гиперхолестеринемией

Е.Д. Козлов , А.В. Зорькина 

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», ул. Большевикская, д. 68, г. Саранск, 430005, Российская Федерация
Автор для переписки: Е.Д. Козлов (dr.kozlov@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Амиодарон, антиаритмический препарат III класса, показал свою эффективность в отношении желудочковых нарушений ритма, индуцированных адреналином у метаболически-нейтральных животных. Однако, его эффективность на моделях с сахарным диабетом до сих пор не изучена. **Цель исследования:** Оценить эффект амиодарона на течение адреналин-индуцированных желудочковых аритмий у животных с экспериментальной гипергликемией (условно, сахарный диабет 1-го типа) и сочетанием гипергликемии с гиперхолестеринемией (условно, сахарный диабет 2-го типа). **Материалы и методы:** Данное экспериментальное исследование проведено на белых нелинейных крысах-самцах массой 180-220 гр. Сахарный диабет 1 типа индуцировали однократным внутрибрюшным введением аллоксана в дозе 135 мг/кг. Сахарный диабет 2 типа воспроизводили путем однократного внутрибрюшного введения аллоксана в дозе 135 мг/кг с последующим ежедневным внутривенным введением 1% масляного раствора холестерина в дозе 40 мг/кг/сут в течение 30 сут. Желудочковые аритмии моделировали внутривенным введением адреналина гидрохлорида 50 мг/кг внутривенно однократно на 30-е сутки экспериментального моделирования диабета. Оценивали изменения на ЭКГ и летальность животных в течение 30 минут; а также уровни глюкозы плазмы и общего холестерина в группах. **Результаты:** Амиодарона гидрохлорид (5 мг/кг внутривенно, за 1-2 минуты до воспроизведения адреналовых аритмий) не подавлял желудочковую экстрасистолию и желудочковую тахикардию, индуцированные адреналином, у крыс с сахарным диабетом 2 типа, но подавлял желудочковые аритмии у крыс с сахарным диабетом 1 типа, по сравнению с метаболически-нейтральными крысами. Мы полагаем, что снижение антиаритмической эффективности амиодарона может быть объяснено увеличением его токсичности на фоне сопутствующей гиперхолестеринемии, а также отсроченным началом действия антиаритмика. **Заключение:** Впервые показано снижение антиаритмической эффективности амиодарона в отношении адреналин-индуцированных желудочковых аритмий у крыс с сочетанием гипергликемии и гиперхолестеринемии. Необходимы дальнейшие клинические исследования, чтобы проверить

полученные данные и найти эффективную и безопасную дозу амиодарона у пациентов с сахарным диабетом.

Ключевые слова: амиодарон; эффективность; сахарный диабет 1 типа; сахарный диабет 2 типа; адреналовые аритмии; аритмии; желудочковая экстрасистолия, желудочковая тахикардия

Для цитирования: Козлов ЕД, Зорькина АВ. Антиаритмический эффект амиодарона на модели адреналовых желудочковых аритмий у крыс с гипергликемией и сочетанием гипергликемии с гиперхолестеринемией. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(1):100-111. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-7

Antiarrhythmic effect of amiodarone on epinephrine-induced ventricular arrhythmias in rats with experimental hyperglycemia and its combination with hypercholesterolemia

Evgeniy D. Kozlov , Angelina V. Zorkina 

Ogarev Mordovia State University,
68 Bolshevistskaya St., Saransk, 430005, Russia
Corresponding author: Evgeniy D. Kozlov (dr.kozlov@yandex.ru)

Abstract

Background: Amiodarone, a class III antiarrhythmic agent, has been shown to be effective against epinephrine-induced ventricular arrhythmias in metabolically neutral animals. However, its effectiveness in models of diabetes mellitus has not yet been studied. **The aim of the study:** To evaluate the effect of amiodarone on the course of adrenaline-induced ventricular arrhythmias in animals with experimental hyperglycemia (conditionally corresponding to type 1 diabetes) and a combination of hyperglycemia with hypercholesterolemia (conditionally, type 2 diabetes). **Materials and methods:** This experimental study was conducted on nonlinear male albino Wistar rats weighing 180-220 g. Type 1 diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of alloxan at a dose of 135 mg/kg. Type 2 diabetes was reproduced by a single intraperitoneal administration of alloxan at a dose of 135 mg/kg followed by daily intragastric administration of a 1% cholesterol oil solution at a dose of 40 mg/kg/day for 30 days. Ventricular arrhythmias were modelled by a single intravenous injection of adrenaline hydrochloride at a dose of 50 mg/kg on the 30th day of the experiment. Changes in ECG and animal mortality within 30 minutes were assessed, as well as fasting plasma glucose and total cholesterol levels in the groups. **Results:** Amiodarone hydrochloride (5 mg/kg intravenously, 1-2 minutes prior to inducing epinephrine arrhythmias) did not suppress adrenaline-induced premature ventricular contractions and ventricular tachycardia in rats with type 2 diabetes but did suppress these ventricular arrhythmias in rats with type 1 diabetes, compared to metabolically neutral rats. We hypothesize that the reduction in the antiarrhythmic efficacy of amiodarone may be explained by an increase in its toxicity in the presence of concomitant hypercholesterolemia, as well as by a delayed onset of the antiarrhythmic effect. **Conclusion:** We are the first to demonstrate a reduction in the antiarrhythmic efficacy of amiodarone in relation to epinephrine-induced ventricular arrhythmias in rats with a combination of hyperglycemia and hypercholesterolemia. Further clinical studies are needed to verify these findings and to determine an effective and safe dose of amiodarone for patients with diabetes mellitus.

Keywords: amiodarone; efficacy; type 1 diabetes; type 2 diabetes; epinephrine-induced arrhythmias; arrhythmias; PVCs; ventricular tachycardia

For citation: Kozlov ED, Zorkina AV. Antiarrhythmic effect of amiodarone on epinephrine-induced ventricular arrhythmias in rats with experimental hyperglycemia and its combination with hypercholesterolemia. *Research Results in Biomedicine*. 2026;12(1):100-111. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-7

Введение. Желудочковые нарушения сердечного ритма (ЖНР), способные трансформироваться в фибрилляцию желудочков и привести к внезапной сердечной смерти (ВСС), ежегодно во всем мире уносят около 18 миллионов человеческих жизней [1]. Сахарный диабет (СД) является общепризнанным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [2] и ВСС [3]. При этом СД обладает риском, эквивалентным ишемической болезни сердца, и обычно поражает сердце посредством кардиальной автономной нейропатии (КАД), ишемической болезни сердца (ИБС) и/или диабетической кардиомиопатии (ДКМ) [4].

И хотя за последние годы достигнут значительный прогресс в интервенционной терапии ВСС, включающей радиочастотную абляцию и аппаратную терапию (имплантируемые кардиовертеры-дефибрилляторы), фармакотерапия до сих пор является основой лечения ЖНР [5]. Среди антиаритмических препаратов амиодарон является самым часто назначаемым [6] и самым мощным агентом III класса, эффективным как при наджелудочковых, так и ЖНР [7]. Однако всё больше сообщений свидетельствуют о низком [8, 9] или отрицательном [10, 11] влиянии амиодарона на ВСС и/или общую сердечную смертность у пациентов со структурными заболеваниями сердца, включая пациентов с СД. Есть основания полагать, что сахарный диабет может компрометировать антиаритмическую эффективность амиодарона и повышать его кардиальную токсичность. В экспериментальном исследовании [12] показано, что аллоксановая гипергликемия снижает антиаритмический эффект трех разных классов антиаритмиков

(флекаинида, E-4031 и верапамила) на модели адреналовой аритмии у крыс. В клиническом исследовании [13] показано, что пациенты, имевшие сахарный диабет и получавшие амиодарон перед имплантацией устройства поддержки функции левого желудочка (LVAD) имели неудовлетворительные показатели долгосрочной выживаемости.

Нам не удалось найти исследований, напрямую оценивающих эффективность и безопасность амиодарона в отношении желудочковых нарушений ритма при сахарном диабете, поэтому мы инициировали данное экспериментальное исследование.

Цель исследования. Оценить эффективность амиодарона в отношении желудочковых нарушений ритма на модели адреналовой аритмии у лабораторных животных с экспериментальной гипергликемией (сахарный диабет 1-го типа) и сочетанием гипергликемии с гиперхолестеринемией (сахарный диабет 2-го типа).

Материалы и методы исследования **Лабораторные животные**

Все протоколы экспериментов с участием лабораторных животных были одобрены локальным этическим комитетом МГУ им Н.П. Огарёва (протокол № 102 от 31.01.2022г). Эксперименты проведены на 92 белых нелинейных крысах-самцах массой 180-220 гр., которые содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении, свободном доступе к воде и пище. После 1 недели карантина крысы были случайным образом распределены на 3 группы: (1) контроля (метаболически-нейтральные), (2) гипергликемии, условно принятая как сахарный диабет 1 типа (СД 1 типа), (3)

гипергликемии и гиперхолестеринемии, условно принятая как сахарный диабет 2 типа (СД 2 типа).

Воссоздание экспериментальных нарушений метаболизма

СД 1 типа у крыс был индуцирован однократным внутрибрюшным введением аллоксана в дозе 135 мг/кг (после предварительной 24-часовой депривации пищи при сохраненном доступе к воде). СД 2 типа воспроизводился путем однократного внутрибрюшного введения аллоксана в дозе 135 мг/кг с последующим ежедневным введением масляного раствора холестерина в дозе 40 мг/кг per os в течение 30 сут, по методу О.В. Артемьевой и А.В. Зорькиной (2005). Группа контроля однократно внутрибрюшинно получала эквивалентный объем 0,9% р-р натрия хлорида и затем - стандартный рацион вивария.

Биохимические исследования

На утро 30-х суток часть животных каждой группы (по 10 из группы) забивали гильотинным способом (после предварительной наркотизации этиминалом натрия в дозе 60 мг/кг внутрибрюшинно однократно) для получения образцов крови из декапитационной раны. В полученных образцах крови исследовали уровень общего холестерина (ОХС) по методу Илька и глюкозы плазмы в реакции с орто-толуидином. Биохимические исследования проводились на фотоэлектрокалориметре КФК-2МП и спектрофотометре СФ-46.

Моделирование адреналовых аритмий

На 30-е сутки эксперимента оставшихся крыс каждой группы сначала наркотизировали этиминалом натрия (60 мг/кг внутрибрюшинно однократно) и после интубации трахеи осуществляли ИВЛ с 1% фторотаном в 100% кислороде. Половине животных каждой группы вводили исследуемый антиаритмик – амиодарона гидрохлорид (5 мг/кг однократно внутривенно), а второй половине - эквивалентный объем 0,9% раствора натрия хлорида. И спустя

1-2 минуты вводили раствор адреналина гидрохлорида в дозе 50 мг/кг внутривенно однократно для моделирования ЖНР.

Оценка антиаритмического эффекта

На протяжении экспериментального моделирования желудочковых дизритмий проводили запись ЭКГ во II стандартном отведении. В течение 30 минут оценивали частоту сердечных сокращений (ЧСС), частоту желудочковых экстрасистол (ЖЭ), желудочковой тахикардии (ЖТ), фибрилляции желудочков (ФЖ), частоту нарушений проводимости и летальность.

Исследование острой токсичности амиодарона

Экспериментальные исследования по определению острой токсичности амиодарона проводили на 120 белых лабораторных мышах обоего пола, массой 18–20 граммов. Нарушения метаболизма (условно СД 1 и СД 2) у экспериментальных групп моделировались по вышеуказанным методикам. Амиодарон вводился внутрибрюшинно. Показатель острой токсичности (LD₅₀) вычисляли по методу Беренса.

Статистическая обработка результатов

Данные представлены в виде таблиц и рисунков. Категориальные переменные представлены в виде чисел и процентов. Непрерывные переменные отображены в виде среднего значения и стандартной ошибки средней. Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Статистические различия между двумя средними значениями зависимых переменных оценивали с помощью парного t-критерия Стьюдента или Фридмана, в зависимости от нормальности распределения. Различия в независимых непрерывных переменных между двумя группами проверялись на статистическую значимость с использованием t-критерия Стьюдента или U-критерия Манна-Уитни, в зависимости от распределения данных. Различия в независимых непрерывных переменных между тремя и более группами

с ненормальным распределением оценивались с использованием критерия Краскала-Уоллиса с последующим тестом Ньюмена-Кейлса. Различия в категориальных переменных проверялись на статистическую значимость с помощью теста χ^2 . В случае, когда размеры выборки были небольшими (<5%) при анализе таблиц сопряженности был использован точный тест Фишера. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$. Все статистические исследования

проводили в программе Jamovi (версия 2.5.3).

Результаты

1. Биохимические показатели животных с СД 1 и СД 2 типа.

Развитие хронической гипергликемии (модель сахарного диабета 1 типа) и сочетанного нарушения метаболизма – хронической гипергликемии с гиперхолестеринемией (модель сахарного диабета 2 типа) подтверждено достоверно повышенными уровнями глюкозы плазмы и общего холестерина у крыс (Табл. 1).

Таблица 1

Уровни глюкозы плазмы и общего холестерина у крыс СД 1 и СД 2 типа на 30-е сутки эксперимента

Table 1

Fasting plasma glucose and total cholesterol levels in type 1 and type 2 diabetes rats on day 30 of the experiment

Группа	Глюкоза плазмы, ммоль/л	Общий холестерин, ммоль/л
Контроль, n=10	4,73 ± 0,4	1,84 ± 0,1
СД 1 тип, n=10	16,9 ± 1,7 †	2,24 ± 0,2
СД 2 тип, n=10	17,6 ± 1,8 †	2,81 ± 0,1 † §

Примечание: † – $p < 0,01$ по сравнению с группой контроля; ‡ – $p < 0,001$ по сравнению с группой контроля, § – $p < 0,05$ по сравнению с группой СД 1 типа.

Note: † – $p < 0.01$ compared to control rats; ‡ – $p < 0.001$ compared to control rats, § – $p < 0.05$ compared to type 1 diabetes rats.

К 30-м суткам, средний уровень глюкозы плазмы крыс с СД 1 был значительно выше чем в группе контроля (16,9±1,7 и 4,73±0,4 ммоль/л, соответственно, $p < 0,01$), тогда как уровень общего холестерина достоверно не различался между данными группами (2,24±0,2 и 1,84±0,1 ммоль/л, в группе СД 1 и контроля, соответственно, $p = 0,103$). Животные с СД 2 имели достоверно повышенные уровни как глюкозы плазмы (17,6±1,8 ммоль/л), так и общего холестерина (2,81±0,1 ммоль/л) по сравнению с группой контроля (4,73±0,4 ммоль/л и 1,84±0,1 ммоль/л, соответственно).

2. Антиаритмическая эффективность амиодарона на модели адреналовой аритмии у крыс с СД 1 и СД 2 типа.

Все исследуемые группы животных исходно имели сопоставимые показатели ЧСС до начала экспериментального

моделирования адреналовых аритмий (Табл. 2). ЧСС животных во всех трех группах через 1 минуту после введения амиодарона так же достоверно не отличалась от исходных значений. Через 1 минуту после введения адреналина животным отмечено достоверное снижение ЧСС на 27% и 37%, 42% и 50%, 30% и 40% в группе контроля и метаболически-нейтральных животных, получивших амиодарон, СД 1 типа и СД 1 типа, получивших амиодарон, СД 2 типа и СД 2 типа, получивших амиодарон, соответственно. Стоит отметить, что ЧСС крыс с СД 1 типа, получивших амиодарон, через 1 минуту после введения адреналина была достоверно ниже аналогичного показателя в группе контроля (Табл. 2).

Частота желудочковых аритмий, индуцированных введением адреналина в экспериментальных группах отражена на рисунке 1.

Таблица 2

ЭКГ-характеристики крыс с СД 1 и СД 2 типа при моделировании адреналовых желудочковых аритмий

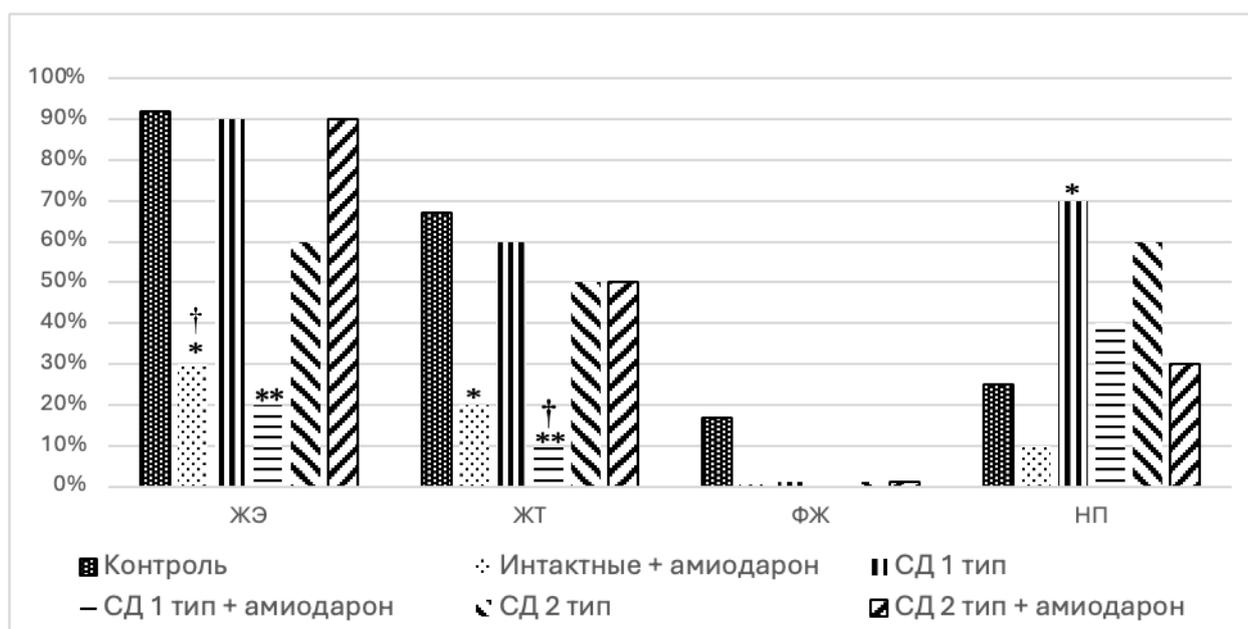
Table 2

ECG characteristics in type 1 and type 2 diabetes rats during the modeling of epinephrine-induced ventricular arrhythmias

Группа / показатель	Контроль (n=12)	Метаболически-нейтральные + амиодарон (n=10)	СД 1 тип (n=10)	СД 1 тип + амиодарон (n=10)	СД 2 тип (n=10)	СД 2 тип + амиодарон (n=10)
ЧСС исходная, уд/мин	365 ± 18	355 ± 24	372 ± 21	382 ± 25	342 ± 21	384 ± 18
ЧСС через 1 мин после амиодарона, уд/мин		336 ± 27		366 ± 21		396 ± 15
ЧСС через 1 мин после адреналина, уд/мин	265 ± 16 ^b	224 ± 13 ^b	214 ± 14 ^b	191 ± 8 ^{b,c}	239 ± 16 ^b	231 ± 12 ^b

Примечание: а – p<0,01 по сравнению с исходной ЧСС в данной группе; b – p<0,001 по сравнению с исходной ЧСС в данной группе; c – p<0,05 по сравнению с ЧСС в группе контроля через 1 минуту после введения адреналина.

Note: a – p<0.01 compared to baseline heart rate in this group; b – p<0.001 compared to baseline heart rate in this group; c – p<0.05 compared to heart rate in the control rats, 1 minute after the epinephrine administration.



Примечание: * – p<0,05 по сравнению с группой контроля; ** – p<0,01 по сравнению с группой контроля; † – p<0,05 по сравнению с данной метаболической группой, не получавшей амиодарон. ЖЭ – желудочковая экстрасистолия; ЖТ – желудочковая тахикардия; ФЖ – фибрилляция желудочков, НП – нарушения проводимости.

Рис. 1. Частота адреналин-индуцированных желудочковых аритмий и нарушений проводимости у животных группы контроля, метаболически-нейтральных животных, получавших амиодарон (интактные + амиодарон), СД 1 типа, СД 1 типа, получавших амиодарон (СД 1 тип + амиодарон), СД 2 типа и СД 2 типа, получавших амиодарон (СД 2 тип + амиодарон).

Note: * – p<0.05 compared to the control rats; ** – p<0.01 compared to the control rats; † – p<0.05 compared to same metabolic model not receiving amiodarone. ЖЭ – premature ventricular contractions; ЖТ – ventricular tachycardia; ФЖ – ventricular fibrillation, НП – conduction disturbances.

Fig. 1. Incidence of epinephrine-induced ventricular arrhythmias and conduction disturbances in animals of control group, metabolically neutral rats receiving amiodarone (intact + amiodarone), type 1 diabetes rats, type 1 diabetes rats receiving amiodarone (type 1 diabetes + amiodarone), type 2 diabetes rats, and type 2 diabetes rats receiving amiodarone (type 2 diabetes + amiodarone).

Однократное внутривенное введение амиодарона в дозе 5 мг/кг перед моделированием адреналовой аритмии животным без метаболических нарушений привело к достоверному снижению частоты желудочковых аритмий: ЖЭ зарегистрированы у 3 (30%), а ЖТ у 2 (20%) метаболически-нейтральных крыс, получавших амиодарон, по сравнению с 11 (92%) и 8 (67%) крысами, соответственно, в группе контроля (не получавших амиодарон) (Рис. 1). Летальность в группе метаболически-нейтральных животных, получавших амиодарон была достоверно ниже, чем в группе контроля (0; 0% и 5; 42% животных, соответственно, $p=0,0396$). Достоверной разницы в частоте нарушений проводимости среди животных без метаболических нарушений, получавших и не получавших амиодарон не зафиксировано (Рис. 1).

В группе животных с СД 1 типа введение амиодарона привело к достоверному уменьшению частоты ЖЭ и ЖТ (Рис. 1). ЖЭ зарегистрированы только в 2 (20%) случаях по сравнению с 11 (92%) в группе контроля и 9 (90%) – в группе животных с СД 1 типа не получавших исследуемого антиаритмика. ЖТ имело лишь одно (10%) животное по сравнению с 8 (67%) в группе контроля и 6 (60%) в группе крыс с СД 1 типа, не получавших амиодарона. Летальность животных в группе СД 1 типа, получавших амиодарон составила 20% и не отличалась достоверно от группы контроля (42%) и СД 1 типа без введения амиодарона (40%, $p=1,0$). Частота нарушений проводимости у крыс с СД 1

типа, получавших амиодарон также достоверно не различались от группы контроля и СД 1 типа без предварительного введения амиодарона (Рис. 1).

В группе СД 2 типа, введение амиодарона не привело к достоверному снижению частоты ЖНР (Рис. 1). ЖЭ регистрировались у 9 (90%) животных с СД 2 типа, получавших амиодарон, в сравнении с 11 (92%) – в группе контроля и 6 (60%) – в группе СД 2 типа, не получавших амиодарона. ЖТ имели 5 (50%) животных по сравнению с 8 (67%) в группе контроля и 5 (50%) в группе СД 2 типа, не получавших амиодарона. При этом, у 2 (20%) животных с СД 2 типа, получавших амиодарон возникли пароксизмы устойчивой желудочковой тахикардии, которых не отмечалось в других сериях. Атриовентрикулярные блокады 1-й и 2-й степени развились у 3 (30%) животных; их частота не отличалась от таковой в группе контроля ($n=3$; 25%) и СД 2 типа, не получавших амиодарона ($n=6$; 60%). Однако, несмотря на сопоставимую частоту и «отягощенность» ЖНР в группе крыс с СД 2, получавших амиодарон, летальность ($n=1$; 10%) достоверно не отличалась от группы контроля ($n=5$; 42%) и животных с СД 2 типа, не получавших амиодарона ($n=1$; 10%).

3. Исследование острой токсичности амиодарона у животных с СД 1 и СД 2 типа.

Эксперимент проведен на 120 белых нелинейных мышах обоего пола, массой 18-20 граммов. Полученные результаты отражены в таблице 3.

Таблица 3

ЛД₅₀ амиодарона у животных с СД 1 и СД 2 типа

Table 3

LD₅₀ of amiodarone in type 1 and type 2 diabetes mice

Препарат	Контроль (n=40)	СД 1 тип (n=40)	СД 2 тип (n=40)
Амиодарон, мг/кг	234,18 ± 7,42	113,22 ± 5,13*	85,33 ± 5,79*

Примечание: * $p<0,05$ по сравнению с группой контроля.
Note. * $p<0.05$ compared to control mice.

Показано, что токсичность амиодарона возрастала в условиях нарушений метаболизма (СД 1 и СД 2 типа) по сравнению с группой

контроля. Причем, ЛД₅₀ была наименьшей в группе сочетания гипергликемии с гиперхолестеринемией (СД 2 типа).

Обсуждение. Сахарный диабет является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний во всем мире и в большинстве случаев ассоциируется с серьезными сердечно-сосудистыми осложнениями, включая ЖНР, которые значительно повышают риск смерти у пациентов с диабетом. Из-за сложной и многофакторной природы взаимосвязь между СД и сердечными аритмиями еще не до конца понятна. Отклонения, наблюдаемые на ЭКГ и в работе сердца у пациентов с диабетом, в основном связаны с изменениями в работе вольтаж-зависимых ионных каналов, которые являются критическими факторами, определяющими продолжительность и морфологию сердечного потенциала действия. На клеточном уровне при СД удлинение потенциала действия и дефекты сократительной функции обычно возникают из-за сочетания снижения токов K^+ , измененных токов Na^+ и Ca^{2+} наряду с нарушением внутриклеточного метаболизма Ca^{2+} в диабетических кардиомиоцитах [14]. Механизмом, с помощью которого гипергликемия способствует электрической нестабильности миокарда желудочков, может быть повышение симпатической активности, увеличение цитозольного Ca^{2+} кардиомиоцитов или сочетание обоих механизмов [15]. При этом крысы как с СД 1, так и СД 2 типа, по-видимому, имеют схожие нарушения в работе вольтаж-зависимых ионных каналов кардиомиоцитов [14]. В нашем исследовании частота как ЖЭ, так и ЖТ достоверно не отличалась между метаболически-нейтральными крысами, крысами с условным СД 1 и 2 типа (не получавших амиодарон) (Рис. 1), что потенциально свидетельствует об отсутствии значимых различий в задействованных механизмах аритмогенеза, обусловленных работой вольтаж-зависимых ионных каналов.

Традиционно для модификации аномальных ионных токов, и тем самым,

устранения сердечных аритмий, используют антиаритмики. Амиодарон, антиаритмический препарат широкого спектра действия, при внутривенном введении оказывает свой эффект за счет нескольких механизмов, включая выраженное ингибирование входящих токов Na^+ и Ca^{2+} , а также β -адренергических рецепторов (в меньшей степени) [16]. И хотя данные механизмы эффективны для подавления адреналовых желудочковых аритмий у метаболически нейтральных животных [17, 18], их эффективность при сопутствующих нарушениях метаболизма изучена недостаточно. В настоящем исследовании впервые показан различный ответ на терапию амиодароном между животными с аллоксановым диабетом и сочетанием аллоксанового диабета с гиперхолестеринемией, подвергшихся адреналин-индуцированным ЖНР. У крыс с аллоксановым диабетом наблюдалось значительное снижение частоты и тяжести ЖНР на фоне введения амиодарона, что свидетельствует о его эффективности в этой группе. Данный эффект может быть обусловлен выраженным ингибирующим влиянием амиодарона на Ca^{2+} каналы и кардиальную автономную нервную систему, за счет повышения тонуса блуждающего нерва и снижения симпатической преганглионарной активности [19]. Напротив, крысы с условным СД 2 типа не продемонстрировали аналогичного терапевтического ответа, что подчеркивает потенциальную резистентность или снижение эффективности амиодарона при сочетании диабета с гиперхолестеринемией. На наш взгляд, различия в ответе на терапию амиодароном могут быть обусловлены рядом факторов.

Во-первых, мы выяснили, что у животных с СД 1 и СД 2 типа, в сравнении с животными без нарушений метаболизма возрастала токсичность амиодарона (Табл. 3). При этом LD_{50} амиодарона была наименьшей в группе с сочетанным нарушением метаболизма (гипергликемия-

гиперхолестеринемия), что может гипотетически объяснить кардиодепрессивный эффект амиодарона, способствовавший не только его сниженной эффективности в отношении ЖНР, но и появлению устойчивой желудочковой тахикардии у крыс с СД 2 типа.

В свою очередь более значимое снижение ЛД₅₀ амиодарона у животных с СД 2 типа может быть результатом изменения фармакокинетики и фармакодинамики амиодарона, обусловленных дислипидемией. В нескольких лабораторных [20, 21] и клинических исследованиях [22] показано изменение объема распределения амиодарона в тканях в пользу большего захвата тканями сердца, опосредованного липопротеиновыми рецепторами, что теоретически, может способствовать повышению кардиальной токсичности амиодарона в условиях нарушения липидного обмена.

Еще одним возможным объяснением сниженной эффективности амиодарона в отношении ЖНР при СД 2 типа может служить отсроченное начало действия исследуемого антиаритмика. В исследовании [23] было показано, что антиаритмические эффекты амиодарона у пациентов с СД 2 типа и неконтролируемой фибрилляцией или трепетанием предсердий были отсроченными по сравнению с лицами без диабета ($6,8 \pm 6,0$ часов в группе контроля против $98 \pm 14,8$ часов в группе СД 2 типа, $p=0,0004$).

Заключение. Данное исследование показало, что, хотя амиодарон эффективно подавляет ЖЭ и ЖТ, вызванные адреналином у метаболически нейтральных животных и крыс с аллоксановым диабетом, его терапевтическая эффективность снижена у крыс с сочетанием диабета и гиперхолестеринемии. Измененный метаболизм и фармакокинетика амиодарона, обусловленные сочетанием хронической гипергликемии с дислипидемией могут способствовать

вариабельному ответу на терапию амиодароном. Мы полагаем, что диабет и связанные с ним нарушения обмена веществ необходимо учитывать при выборе антиаритмической терапии. Дальнейшие исследования на популяции пациентов с сахарным диабетом и сопутствующими нарушениями метаболизма могут помочь в проверке данной гипотезы и определении эффективной и безопасной дозы амиодарона у дынных пациентов.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Shomanova Z, Ohnewein B, Scherthaner C, et al. Classic and Novel Biomarkers as Potential Predictors of Ventricular Arrhythmias and Sudden Cardiac Death. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(2):578. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9020578>
2. Junttila MJ, Kiviniemi AM, Lepojärvi ES, et al. Type 2 diabetes and coronary artery disease: Preserved ejection fraction and sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2018;15(10):1450-1456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2018.06.017>
3. Tsartsalis D, Korela D, Karlsson LO, et al. Risk and Protective Factors for Sudden Cardiac Death: An Umbrella Review of Meta-Analyses. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:848021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.848021>
4. Pappachan JM, Varughese GI, Sriraman R, et al. Diabetic cardiomyopathy: Pathophysiology, diagnostic evaluation and management. *World Journal of Diabetes*. 2013;4(5):177-189. DOI: <https://doi.org/10.4239/wjd.v4.i5.177>

5. Huang CLH, Wu L, Jeevaratnam K, et al. Update on antiarrhythmic drug pharmacology. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2020;31(2):579-592. DOI: <https://doi.org/10.1111/jce.14347>
6. LaPointe NMA, Dai D, Thomas L, et al. Antiarrhythmic drug use in patients <65 years with atrial fibrillation and without structural heart disease. *American Journal of Cardiology*. 2015;115(3):316-322. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.11.005>
7. Hamilton D, Nandkeolyar S, Lan H, et al. Amiodarone: A Comprehensive Guide for Clinicians. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2020;20(6):549-558. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40256-020-00401-5>
8. Kudenchuk PJ, Brown SP, Daya M, et al. Resuscitation Outcomes Consortium - Amiodarone, Lidocaine or Placebo Study (ROC-ALPS): Rationale and Methodology Behind an Out-of-Hospital Cardiac Arrest Antiarrhythmic Drug Trial. *American Heart Journal*. 2014;167(5):653-659. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.02.010>
9. Wagner D, Kronick SL, Nawer H, et al. Comparative Effectiveness of Amiodarone and Lidocaine for the Treatment of In-Hospital Cardiac Arrest. *Chest*. 2023;163(5):1109-1119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2022.10.024>
10. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(3):225-237. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043399>
11. Gopinathannair R, Pothineni NVK, Trivedi JR, et al. Amiodarone Use and All-Cause Mortality in Patients With a Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11(11):e023762. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.023762>
12. Ito I, Hayashi Y, Kawai Y, et al. Diabetes mellitus reduces the antiarrhythmic effect of ion channel blockers. *Anesthesia and Analgesia*. 2006;103(3):545-550. DOI: <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000229709.29185.88>
13. Xia Y, Forest S, Friedmann P, et al. Factors Associated With Prolonged Survival in Left Ventricular Assist Device Recipients. *Annals of Thoracic Surgery*. 2019;107(2):519-526. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2018.08.054>
14. Ozturk N, Uslu S, Ozdemir S. Diabetes-induced changes in cardiac voltage-gated ion channels. *World Journal of Diabetes*. 2021;12(1):1-18. DOI: <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i1.1>
15. Marfella R, Rossi F, Giugliano D. Hyperglycemia and QT interval: time for re-evaluation. *Diabetes, Nutrition and Metabolism*. 2001;14(2):63-65.
16. Kodama I, Kamiya K, Toyama J. Cellular electropharmacology of amiodarone. *Cardiovascular Research*. 1997;35(1):13-29. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(97\)00114-4](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(97)00114-4)
17. Wójcicki J, Jaroszynska M, Drożdżik M, et al. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of propranolol and atenolol in normolipidaemic and hyperlipidaemic obese subjects. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. 2003;24(5):211-218. DOI: <https://doi.org/10.1002/bdd.357>
18. Awaji T, Wu ZJ, Hashimoto K. Acute antiarrhythmic effects of intravenously administered amiodarone on canine ventricular arrhythmia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1995;26(6):869-878. DOI: <https://doi.org/10.1097/00005344-199512000-00004>
19. Dan GA, Martinez-Rubio A, Agewall S, et al. Antiarrhythmic drugs-clinical use and clinical decision making: a consensus document from the European Heart Rhythm Association (EHRA) and European Society of Cardiology (ESC) Working Group on Cardiovascular Pharmacology, endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) and International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (ISCP). *EP Europace*. 2018;20(5):731-732. DOI: <https://doi.org/10.1093/europace/eux373>
20. Brocks DR, Hamdy DA, Ben-Eltriki M, et al. Effect of rat serum lipoproteins on mRNA levels and amiodarone metabolism by cultured primary rat hepatocytes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;102(1):262-270. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.23348>
21. Shayeganpour A, Korashy H, Patel JP, et al. The impact of experimental hyperlipidemia on the distribution and metabolism of amiodarone in rat. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;361(1-2):78-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.05.019>
22. Hashimoto N, Doki K, Kawano S, et al. Increased serum amiodarone concentration in hypertriglyceridemic patients: Effects of drug distribution to serum lipoproteins. *Clinical and Translational Science*. 2022;15(3):771-781. DOI: <https://doi.org/10.1111/cts.13199>
23. Iervasi G, Clerico A, Bonini R, et al. Effect of antiarrhythmic therapy with intravenous

loading dose of amiodarone: evidence for an altered response in diabetic patients. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*. 1998;18(3):109-120.

References

1. Shomanova Z, Ohnewein B, Scherthaner C, et al. Classic and Novel Biomarkers as Potential Predictors of Ventricular Arrhythmias and Sudden Cardiac Death. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(2):578. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9020578>
2. Junttila MJ, Kiviniemi AM, Lepojärvi ES, et al. Type 2 diabetes and coronary artery disease: Preserved ejection fraction and sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2018;15(10):1450-1456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2018.06.017>
3. Tsartsalis D, Korela D, Karlsson LO, et al. Risk and Protective Factors for Sudden Cardiac Death: An Umbrella Review of Meta-Analyses. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:848021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.848021>
4. Pappachan JM, Varughese GI, Sriraman R, et al. Diabetic cardiomyopathy: Pathophysiology, diagnostic evaluation and management. *World Journal of Diabetes*. 2013;4(5):177-189. DOI: <https://doi.org/10.4239/wjd.v4.i5.177>
5. Huang CLH, Wu L, Jeevaratnam K, et al. Update on antiarrhythmic drug pharmacology. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2020;31(2):579-592. DOI: <https://doi.org/10.1111/jce.14347>
6. LaPointe NMA, Dai D, Thomas L, et al. Antiarrhythmic drug use in patients <65 years with atrial fibrillation and without structural heart disease. *American Journal of Cardiology*. 2015;115(3):316-322. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.11.005>
7. Hamilton D, Nandkeolyar S, Lan H, et al. Amiodarone: A Comprehensive Guide for Clinicians. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2020;20(6):549-558. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40256-020-00401-5>
8. Kudenchuk PJ, Brown SP, Daya M, et al. Resuscitation Outcomes Consortium - Amiodarone, Lidocaine or Placebo Study (ROC-ALPS): Rationale and Methodology Behind an Out-of-Hospital Cardiac Arrest Antiarrhythmic Drug Trial. *American Heart Journal*. 2014;167(5):653-659. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2014.02.010>
9. Wagner D, Kronick SL, Nawer H, et al. Comparative Effectiveness of Amiodarone and Lidocaine for the Treatment of In-Hospital Cardiac Arrest. *Chest*. 2023;163(5):1109-1119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2022.10.024>
10. Bardy GH, Lee KL, Mark DB, et al. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(3):225-237. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043399>
11. Gopinathannair R, Pothineni NVK, Trivedi JR, et al. Amiodarone Use and All-Cause Mortality in Patients With a Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11(11):e023762. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.023762>
12. Ito I, Hayashi Y, Kawai Y, et al. Diabetes mellitus reduces the antiarrhythmic effect of ion channel blockers. *Anesthesia and Analgesia*. 2006;103(3):545-550. DOI: <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000229709.29185.88>
13. Xia Y, Forest S, Friedmann P, et al. Factors Associated With Prolonged Survival in Left Ventricular Assist Device Recipients. *Annals of Thoracic Surgery*. 2019;107(2):519-526. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2018.08.054>
14. Ozturk N, Uslu S, Ozdemir S. Diabetes-induced changes in cardiac voltage-gated ion channels. *World Journal of Diabetes*. 2021;12(1):1-18. DOI: <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i1.1>
15. Marfella R, Rossi F, Giugliano D. Hyperglycemia and QT interval: time for re-evaluation. *Diabetes, Nutrition and Metabolism*. 2001;14(2):63-65.
16. Kodama I, Kamiya K, Toyama J. Cellular electropharmacology of amiodarone. *Cardiovascular Research*. 1997;35(1):13-29. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(97\)00114-4](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(97)00114-4)
17. Wójcicki J, Jaroszynska M, Drożdżik M, et al. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of propranolol and atenolol in normolipaeamic and hyperlipidaemic obese subjects. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. 2003;24(5):211-218. DOI: <https://doi.org/10.1002/bdd.357>
18. Awaji T, Wu ZJ, Hashimoto K. Acute antiarrhythmic effects of intravenously administered amiodarone on canine ventricular arrhythmia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 1995;26(6):869-878. DOI: <https://doi.org/10.1097/00005344-199512000-00004>
19. Dan GA, Martinez-Rubio A, Agewall S, et al. Antiarrhythmic drugs-clinical use and clinical decision making: a consensus document from the European Heart Rhythm Association (EHRA) and European Society of Cardiology (ESC) Working

Group on Cardiovascular Pharmacology, endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) and International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (ISCP). EP Europace. 2018;20(5):731-732. DOI: <https://doi.org/10.1093/europace/eux373>

20. Brocks DR, Hamdy DA, Ben-Eltriki M, et al. Effect of rat serum lipoproteins on mRNA levels and amiodarone metabolism by cultured primary rat hepatocytes. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013;102(1):262-270. DOI: <https://doi.org/10.1002/jps.23348>

21. Shayeganpour A, Korashy H, Patel JP, et al. The impact of experimental hyperlipidemia on the distribution and metabolism of amiodarone in rat. International Journal of Pharmaceutics. 2008;361(1-2):78-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.05.019>

22. Hashimoto N, Doki K, Kawano S, et al. Increased serum amiodarone concentration in hypertriglyceridemic patients: Effects of drug distribution to serum lipoproteins. Clinical and Translational Science. 2022;15(3):771-781. DOI: <https://doi.org/10.1111/cts.13199>

23. Iervasi G, Clerico A, Bonini R, et al. Effect of antiarrhythmic therapy with intravenous loading dose of amiodarone: evidence for an altered response in diabetic patients. International Journal of Clinical Pharmacology Research. 1998;18(3):109-120.

Статья поступила в редакцию 19 июня 2024 г.
Поступила после доработки 20 сентября 2024 г.
Принята к печати 8 октября 2024 г.

Received 19 June 2024

Revised 20 September 2024

Accepted 8 October 2024

Информация об авторах

Евгений Дмитриевич Козлов, старший преподаватель кафедры амбулаторно-поликлинической терапии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск, Российская Федерация, E-mail: dr.kozlov@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8373-6109>.

Ангелина Владимировна Зорькина, доктор медицинских наук, профессор кафедры амбулаторно-поликлинической терапии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск, Российская Федерация, E-mail: wind-lina@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1122-9532>.

Information about the authors

Evgeniy D. Kozlov, Senior Lecturer at the Department of Outpatient Therapy, Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia, E-mail: dr.kozlov@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8373-6109>.

Angelina V. Zorkina, Doct. Sci. (Medicine), Professor at the Department of Outpatient Therapy, Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia, E-mail: wind-lina@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1122-9532>.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА MEDICINE



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-8

УДК 618.29–073.97:612.172.2.062:612.8

Кардиотокография с элементами искусственного интеллекта (обзор)

В.В. Коноплёва^{1,2} , С.В. Шамарин¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко», ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Российская Федерация

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко», ул. Киевская, д. 69, г. Симферополь, 295017, Российская Федерация
Автор для переписки: С.В. Шамарин (shamarin-med@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: Внутриутробная гипоксия плода – это патологическое состояние, характеризующееся недостаточным снабжением тканей плода кислородом, при дефиците последнего имеет место каскад патологических осложнений, включая декомпенсацию, метаболический ацидоз и, в некоторых случаях, смерть. На сегодняшний день инструментальным методом оценки состояния плода и диагностики фетальной гипоксии является кардиотокография. В последние годы появились публикации, касающиеся искусственного интеллекта в области фетального мониторинга. **Цель исследования:** Оценить роль искусственного интеллекта в области фетального мониторинга или кардиотокографии в диагностике гипоксии или дистресса плода. **Материалы и методы:** Выполнен обзор литературы, посвященный искусственному интеллекту в области фетального мониторинга в диагностике гипоксии или дистресса плода при беременности и в родах, по источникам литературы в базах данных Pubmed, Elibrary, Scopus за последние 35 лет. **Результаты:** Анализ данных литературы показал улучшение качества диагностики гипоксических состояний плода при использовании элементов искусственного интеллекта в области кардиотокографии. Модели машинного обучения повышают эффективность прогнозирования состояния плода и имеют более высокую точность диагностики по сравнению с традиционными методами, 96,8-98,0% и 80,0-84,4% соответственно. **Заключение:** Элементы искусственного интеллекта в области фетального мониторинга или кардиотокографии показывают улучшение качества диагностики гипоксических состояний плода в антенатальном периоде и родах. Модели машинного обучения повышают эффективность прогнозирования состояния плода, точность диагностики систем КТГ на основе ИИ достигает 96,0-98,0%. Современная диагностическая технология на основе искусственного интеллекта в области КТГ может являться виртуальным цифровым помощником для врачей-акушеров в принятии медицинских решений.

Ключевые слова: искусственный интеллект; дистресс плода; кардиотокография

Для цитирования: Коноплёва ВВ, Шамарин СВ. Кардиотокография с элементами искусственного интеллекта (обзор). Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(1):112-138. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-8

Artificial intelligence models in cardiotocography (review)

Violeta V. Konopleva^{1,2} , Stanislav V. Shamarin¹ 

¹ Burdenko Voronezh State Medical University,
10 Studencheskaya St., Voronezh, 394036, Russia

² Semashko Republican Clinical Hospital,
69 Kievskaya St., Simferopol, 295017, Russia

Corresponding author: Stanislav V. Shamarin (shamarin-med@yandex.ru)

Abstract

Background: Fetal hypoxia is a pathological state characterized by insufficient oxygen supply to the human fetal tissue. Oxygen deficiency causes a cascade of pathological complications, including decompensation, metabolic acidosis, and, in some cases, fetal death. Cardiotocography (fetal monitoring) is an instrumental method used to assess fetal well-being and screening for fetal distress. Over the past few years, numerous publications on artificial intelligence (AI) in fetal monitoring have appeared. **The aim of the study:** To evaluate the role of artificial intelligence in fetal monitoring or cardiotocography (CTG) and screening for hypoxia or fetal distress. **Materials and methods:** A literature review was conducted on the use of artificial intelligence for diagnosing foetal hypoxia or distress during pregnancy and childbirth. Sources from the PubMed, eLIBRARY and Scopus databases published over the past 35 years were used. **Results:** Analysis of literature data has revealed improvements in the screening of fetal hypoxia using artificial intelligence models in cardiotocography. Machine learning had high diagnostic accuracy compared to traditional methods, ranging from 96.8% to 98.0% and from 80.0% to 84.4%, respectively. **Conclusion:** Artificial intelligence in cardiotocography improves the screening of fetal hypoxia in the antenatal period and labor. Diagnostic accuracy of artificial intelligence in cardiotocography in screening for hypoxia or fetal distress can exceed 96.0%. Modern diagnostic models based on artificial intelligence in CTG can serve as a virtual digital assistant for obstetricians in making medical decisions.

Keywords: fetal distress; cardiotocography; fetal electrocardiography

For citation: Konopleva VV, Shamarin SV. Artificial intelligence models in cardiotocography (review). Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):112-138. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-8

Введение. Внутриутробная гипоксия плода – это патологическое состояние, характеризующееся недостаточным снабжением тканей плода кислородом и жизненно важными источниками энергии,

в частности глюкозой. При отсутствии своевременного восстановления адекватного кислородного обеспечения этот дефицит вызывает каскад патологических последствий, включая

декомпенсацию, метаболический ацидоз и, в конечном счете, необратимые повреждения клеток [1].

Гипоксия плода поражает примерно 10% всех беременностей и является причиной 40% перинатальных потерь, подчеркивая ее значимость в современном акушерстве [1-6]. Дистресс плода – патологическое состояние, обусловленное временной или постоянной кислородной недостаточностью, и развивающееся в родах [1, 7-10].

На сегодняшний день инструментальным методом оценки состояния плода и диагностики фетальной гипоксии является кардиотокография [1, 7, 11-15].

Кардиотокография – определение, краткое описание.

Кардиотокография (КТГ) – ведущий метод оценки состояния плода человека и маточной активности (схваток) у женщин. Данный функциональный метод диагностики в акушерстве применяется для мониторинга состояния плода как на протяжении всей беременности, так и в процессе родов. Отсутствие метода точного прогнозирования гипоксии плода диктует развитие фетального мониторинга (американское название) или кардиотокографии (европейское название) [1, 7, 16, 17].

Аntenатальная кардиотокография (фетальный мониторинг) – это регистрация изменений частоты сердечных сокращений плода и маточной активности до начала родов. В ходе родов существуют различные факторы, которые могут повлечь за собой возникновение асфиксии или дистресса плода. Поэтому частоту сердечных сокращений плода и маточную активность контролируют и в процессе родов. Данная методика называется интранатальной кардиотокографией. Сокращения матки могут уменьшить приток крови по пуповине к плоду, что снижает поступление кислорода. Кроме того, эпидуральная анестезия, введение окситоцина, артериальная гипертензия,

изменение цвета околоплодных вод или гипертермия у роженицы требуют проведения вышеназванного мониторинга. Это осуществляется с помощью аппарата кардиотокографа, который регистрирует частоту сердечных сокращений плода (тахограмму), маточную активность (токограмму) и шевеления плода (актограмму) на бумаге в виде кардиотокограммы [1, 7, 16, 17, 18].

Выделяют две технологии регистрации ЧСС плода с целью своевременного выявления гипоксии или дистресса плода – электронный доплеровский фетальный мониторинг и электрокардиографию плода (ЭКГ) плода.

При электронном доплеровском фетальном мониторинге регистрируется первоначальный аналоговый доплеровский сигнал тонов сердца плода, полученный ультразвуковым методом, который позже оцифровывается, а каждый кардиоинтервал пересчитывается в ЧСС плода в ударах в минуту. В России данные записи осуществляют на фетальных мониторах Российского ("УНИКОС", Москва, "Сономед", Москва, "Илифия", Москва, "МАК", Челябинск), а также импортного производства ("Huntleig", Великобритания, "GE" США, "PHILLIPS", Евросоюз и др.).

Другая технология - непрямая ЭКГ плода. Она проводится на фетальных мониторах "Monica AN24" (Великобритания) с помощью наружных ЭКГ электродов, которые накладываются на живот матери. Сначала на ЭКГ фильтруют R-зубцы плода от R-зубцов матери, а затем при помощи математического алгоритма каждый кардиоинтервал между R-R зубцами пересчитывается в ЧСС плода в ударах в минуту. Однако данная методика не нашла широкого применения из-за недостаточной надежности по сравнению с ультразвуковой кардиотокографией в диагностике гипоксических состояний плода при беременности и в родах [16, 19]. Существует прямая ЭКГ плода с помощью фиксации спирального электрода

Goldtrace Fetal (FSE) на коже головки плода. Она реализована в мониторах "Neoventa" (Швеция), что позволяет получить более качественный сигнал фетальных R-зубцов [20].

Для улучшения фетального мониторинга в течение родов используется подъем сегмента ST и изменения T-волны ЭКГ плода как маркеров дистресса плода [21]. Однако этот прибор применяется только в родах, а в структуре перинатальной смертности ведущая роль принадлежит антенатальной гипоксии плода [22, 23].

Традиционная КТГ с визуальным анализом.

В основе ультразвуковой кардиографии имеет место наружный фетальный мониторинг. Кардиографический датчик фиксируется на передней брюшной стенке в области наилучшего выслушивания сердечных тонов плода, а тензометрический датчик для записи сократительной деятельности матки - в области ее дна [1, 7, 18].

Основными анализируемыми параметрами КТГ на сегодняшний день являются базальная частота сердечных сокращений плода (БЧСС), вариабельность ритма (амплитуда и частота осцилляций), акцелерации, децелерации, число шевелений плода в час и маточная активность [1, 7, 17].

Савельева Г.М. с соавторами (2022) выявляют начальные признаки гипоксии плода, используя следующие параметры: снижение вариабельности сердечного ритма, тахикардию (до 180 уд/мин) или умеренную брадикардию (до 100 уд/мин), кратковременную (до 50% записи) монотонность ритма и ослабление реакции на функциональные пробы [24]. При выраженном страдании плода наблюдается выраженная брадикардия (менее 100 уд/мин) или тахикардия (более 180 уд/мин), монотонность ритма (свыше 50% записи), парадоксальная реакция на функциональные пробы (поздние децелерации в ответ на шевеление плода при нестрессовом тесте) или же ее отсутствие [24].

Анализ кардиотокограмм в антенатальном периоде и в родах имеет некоторые различия. В родах согласно рекомендациям Международной федерации гинекологии и акушерства (FIGO) 2015 года типы кардиотокограмм классифицируют на нормальные, сомнительные (подозрительные) и патологические [1, 7, 17]. Нормальный тип КТГ характеризуется базальным ритмом 110-160 уд/мин, вариабельностью 5-25 уд/мин и отсутствием повторяющихся децелераций. Для сомнительного типа характерно отсутствие хотя бы одного из признаков нормального и патологического типов кривой. Патологический тип в свою очередь проявляется базальным ритмом менее 100 уд/мин; сниженной вариабельностью более 50 мин. или повышенной вариабельностью более 30 мин. или синусоидальным ритмом; кроме того, повторными поздними или пролонгированными децелерациями более 30 мин. или более 20 мин., если снижена вариабельность; или наличием одной пролонгированной децелерации более 5 мин. [1].

Кроме описанной выше классификации интранатальных кардиотокограмм по FIGO, существует скрининг антенатального состояния по наличию акцелераций, обусловленных движением плода – нестрессовый тест (НСТ) [24]. Тест называется нестрессовым, так как выполняется до начала родов, когда нет регулярных схваток и плод не подвергается «стрессу» маточных сокращений. Тест считается положительным (реактивным, нормальным), если в течение 20 мин. исследования на КТГ регистрируются не менее 2 акцелераций. Если 2 акцелерации регистрируются за более короткий период времени (более 10 мин), тест прекращают, считая его реактивным. Отмечают, что должно быть зарегистрировано хотя бы одно шевеление плода и отсутствие децелерации в течение записи. Иначе в конце проведения КТГ записи тест считается отрицательным (ареактивным, патологическим) [24].

Современная зарубежная классификация типов НСТ по антенатальной методике кардиотокографии на основе визуального анализа включает такие параметры, как базальный ритм, вариабельность, децелерации, малые акцелерации (до 32 недель гестации) и большие акцелерации (в сроке 32 недели беременности и более). Типы антенатальных кардиотокограмм классифицируют на нормальные, атипичные и патологические [17].

В качестве метода диагностики при неосложненном течении беременности проводят КТГ с 33 недель беременности 1 раз в две недели. При выявлении нарушения сердечного ритма плода в родах для исключения дистресса плода проводят непрерывную КТГ в течение не менее 20 минут. Запись КТГ проводится с 23-й недели беременности при осложненном течении беременности, а также в случаях высокого базального ритма (верхняя граница нормы), низкой вариабельности, отсутствия акцелераций или их низкой амплитуды, частых децелераций [1, 7].

Фетальный мониторинг в родах, а именно в активную фазу родов осуществляется минимум в течение 20 мин. каждый второй час. Дополнительно регистрацию КТГ следует производить при определенных случаях – спонтанном отхождении околоплодных вод, после амниотомии, перед и после применения эпидуральной анестезии. Непрерывная регистрация ЧСС плода начинается со второго периода родов [7].

Метод КТГ в родах может быть периодический или непрерывный. Периодическую регистрацию в родах применяют у женщин без факторов риска нарушений состояния плода. В свою очередь непрерывную регистрацию проводят при определенных факторах риска. Они включают в себя исходные нарушения состояния плода, многоплодную беременность, тазовое предлежание плода, запоздалые или преждевременные роды, сахарный диабет,

рубец на матке, изосенсибилизацию по резус-фактору или системе АВ0, родостимуляцию окситоцином, обезболивание в родах, много- или маловодие, преэклампсию, задержку роста плода (ЗРП), нарушение кровотока в системе «мать - плацента - плод», аномалии родовой деятельности, гипертермию в родах и мекониальную окраску околоплодных вод [1, 7].

Предпочтительнее проводить регистрацию ЧСС плода лежа на боку, полулежа, лучше сидя или даже стоя [7]. Кроме того, еще один из анализируемых показателей, на который необходимо обратить внимание – это ЧСС матери и плода. С одной стороны, возможно учащение ЧСС женщины при гипертермии, во время схватки или потуги и она может приближаться к фетальной. С другой стороны, при аритмии плода его ЧСС может снижаться и достигать значений материнской. Для того, чтобы ЧСС матери и плода не накладывались друг на друга на кардиотокограмме на практике используют чаще пульсоксиметрический датчик, позволяющий правильно регистрировать ЧСС матери [7].

Используя при традиционной КТГ с визуальным анализом следующие шесть параметров – базальную ЧСС и вариабельность ритма плода, акцелерации, децелерации, маточную активность (схватки), актограмму, акушерская служба проводит своевременную диагностику нарушений состояния плода при беременности и в родах. Однако точность выявления внутриутробной гипоксии и дистресса плода составляет менее 80-90% [19].

Автоматизированная КТГ с компьютерным анализом.

Визуальная, то есть субъективная оценка кривых КТГ может быть мало достоверной, так как врачи могут трактовать одну кардиотокограмму по-разному. Поэтому в медицинской практике начал использоваться компьютерный анализ, который обеспечивает

непротиворечивость результатов и повышает точность диагностики [25, 26, 27].

В России первым применил собственную методику автоматизированной антенатальной кардиотокографии с 1983г. Демидов В.Н. с соавторами (1991, 2008) с компьютерным расчетом ПСП (показатель состояния плода) [25, 26]. Анализатор состояния плода «Уникос» (Москва) производит поправку на сон, определяет длительность исследования и учитывает двигательную активность плода. В настоящее время существует интранатальная версия монитора, которая проводит оценку родовой деятельности (длительность схваток, возникновение гипертонуса матки и аномалии в регулярности, интенсивности и продолжительности сокращений матки), определяет время, необходимое для экстренного родоразрешения в случае возникновения дистресса плода (преждевременная отслойка плаценты, истинный узел пуповины). Чувствительность данного анализа КТГ при выявлении гипоксии плода составила 77%, специфичность – 91,8% и средняя точность – 84,4% [28].

Многолетний опыт применения в родовспомогательных учреждениях Воронежской области автоматизированной системы анализа КТГ по В.Н. Демидову показал достаточно высокую точность оценки состояния плода (до 90%) [19].

Другим способом оценки кардиотокограмм во время беременности являются различные шкалы, которые предполагают бальную оценку кардиотокограмм по сумме измененных и нормальных параметров (Фишер, Кребс) [19]. Система балльной оценки W.Fischer была предложена в 1976 г. Каждому из анализируемых параметров (базальная частота сердечных сокращений, амплитуда осцилляций, частота осцилляций, акцелерации, децелерации) присваивалось от 0 до 2 баллов. По сумме баллов делается заключение о состоянии

плода: 8-10 баллов – отсутствие гипоксии у плода; 5-7 баллов – умеренные признаки гипоксии; 4 балла и менее - выраженные признаки гипоксии. Система была модифицирована в 1978 г. Н. Krebs: от 9 до 12 баллов - удовлетворительное состояние плода; от 6 до 8 баллов - гипоксия плода, угрозы гибели в ближайшие сутки нет; 5 баллов и менее – выраженная гипоксия плода, угроза внутриутробной гибели. В последние годы данные шкалы начали использовать в фетальных мониторах с автоматическим расчетом, преимущественно китайского производства. Однако точность оценки состояния плода по данным шкалам остается низкой (70,3%) [19].

Следующая методика автоматического (компьютерного) антенатального анализа КТГ – критерии Dawes-Redman (Доуза-Редмана). Для этого используют не более десяти параметров КТГ – потеря сигнала, шевеления плода в час, частота базального ритма, сокращения, акцелерации более 15 уд/мин, малые акцелерации более 10 уд/мин, децелерации более 20 потерянных ударов, значения кратковременной – КВВ (STV) и долговременной – ДВВ (LTV) вариабельности [29, 30, 31].

Для расчета параметра STV (Short Time Variation) – производится разбиение кривой ЧСС на так называемые эпохи, длительностью 3,75 с. Для каждой эпохи считается среднее значение ЧСС. Затем определяется среднее значение модуля разности ЧСС для соседних эпох, что соответствует величине STV. В норме параметр STV составляет более или равно 4 мс. Если этот показатель равен 3 мс прогноз гибели плода составляет 29%, если STV менее 2,5 мс – 72% соответственно. LTV (Long Time Variation) – долговременная вариабельность, определяется как разница между минимальным и максимальным значением ЧСС. Этот параметр также называется амплитудой осцилляций [30, 31]. Точность оценки состояния плода по критериям Dawes-Redman в антенатальном периоде составляет не более 91,0% [19].

Появились работы, освещающие автоматический анализ трудно интерпретируемых ритмов плода. Один из методов – спектральный анализ, который был использован в работе Ricardo S.C. et al (2024) [32]. Модели, в основе которых данный метод, способны выявлять синусоидальный тип кардиотокограмм или псевдосинусоидальный, связанный с артефактами и помехами в ходе исследования. Наиболее важной переменной для классификации сигналов было значение PE (potential energy) в частотном интервале. Значение PE менее 0,2965 классифицировало сигналы как нормальные; значение PE, попадающее в диапазон (0,2965-0,4792); и кратковременная изменчивость, превышающая 0,0992, классифицировали сигналы как псевдосинусоидальные. Сигналы классифицировались как синусоидальные, если они удовлетворяли любому из следующих критериев: значение PE больше или равно 0,4792 или значение в диапазоне (0,2965-0,4792) и кратковременная изменчивость меньше или равна 0,0992. Частота обнаружения синусоидального, псевдосинусоидального и нормального ритма составила 92,3%, 88,8% и 97,3%, соответственно. Чувствительность данного метода составила для синусоидального или псевдосинусоидального ритма плода 100%, а специфичность – 97,3% [32].

Giulio Steyde et al. (2024) также описывает применение спектрального метода анализа ЧСС плода [33]. В работе исследовали 2178 записей КТГ у женщин в сроках гестации от 32 до 38 недель беременности с гестационным сахарным диабетом и задержкой роста плода. Результаты показывают, что спектральный метод лучше дифференцирует патологический ритм плода от нормального по сравнению с другими математическими методами [33].

Все вышеперечисленные модели основаны на применении классических методов математики, статистики с использованием набора из десяти или чуть более параметров КТГ.

Искусственный интеллект. Терминология. Классификация.

Термин «искусственный интеллект» (ИИ) был впервые предложен Джоном Маккарти в «Дартмутском летнем исследовательском проекте по искусственному интеллекту» в 1955 году. Он определил интеллектуальную функцию как вычислительную составляющую способности достигать целей. Само определение искусственного интеллекта Маккарти объяснил, как науку и технологию создания интеллектуальных компьютерных программ.

В последние годы ИИ стал шире применяться в медицинской практике. Акушерство и перинатология не стали исключением, где ИИ начал использоваться для повышения эффективности перинатальной диагностики и снижения риска перинатальной смертности [34].

К основным направлениям ИИ относят машинное обучение (Machine Learning – ML), обработка естественного языка (Natural Language Processing – NLP) и роботизированная медицина [34]. Методы ML (дерево решений – DT, «случайный лес» – RF, метод опорных векторов – SVM и наивный байесовский классификатор) необходимы для автоматизированного создания моделей, предназначенных для решения большого количества задач, например, классификация пациентов по группам риска на основе анализа структурированных данных. DT и RF используются для классификации и прогнозирования. RF – это метод ансамблевого обучения для классификации и регрессии. Построив множество DT и суммировав выходы каждого слабого отдельного дерева, RF исправляет проблему перенапряжения в DT [35]. Такой метод ИИ, как машинное обучение, активно внедряется и для прогнозирования многих патологических состояний [36]. Разработано и глубокое машинное обучение (DL) на основе нейронных сетей ANN. Распространенные

разновидности DL – сверточная нейронная сеть (CNN), рекуррентная нейронная сеть (RNN) и глубокая нейронная сеть (DCNN). CNN, например, хорошо работает с большим количеством объектов и при обработке изображений [35]. Значительная роль нейронных сетей в сегодняшнем мире отражена во многих публикациях [37].

Другой подвид машинного обучения – NLP (Natural language processing). Он в свою очередь позволяет извлечь значимую информацию из неструктурированных клинических данных, таких как электронные медицинские карты, чтобы дополнить ими структурированные данные. Процесс NLP включает обработку текста и его классификацию [35]. Некоторые методы ИИ будут освещены ниже, а также перечислены в работе

М.В.Мокшанова (2024) “Применение искусственного интеллекта в анализе данных: обзор текущего состояния и будущих направлений” [38].

Искусственный интеллект и кардиотокография.

Интерпретация КТГ по-прежнему остается серьезной проблемой из-за высокой частоты ложноположительных результатов и низкой чувствительности. Применение методов ИИ в перинатологии расширяет возможности диагностики гипоксических состояний плода. На данном этапе такие исследования малочисленны, единичны по источнику и ретроспективны. Ниже на рисунке 1 представлена (Ivshin et al., 2020) концептуальная схема применения методов ИИ в перинатологии [35].



Рис. 1. Концептуальная схема применения методов ИИ в перинатологии
Fig. 1. Conceptual scheme demonstrating the use of AI methods in perinatology

Chen C. et al. (2023) отмечают возможность внедрения направлений ИИ, таких как машинное обучение (ML) и глубокое обучение (DL), в профессиональной сфере акушеров-гинекологов и использования в клинической практике [39].

Kadarina TM. et al. (2023) в своей работе также отмечают значимую роль

машинного обучения в сфере акушерства и гинекологии [40].

В последнее десятилетие доступность больших клинических баз данных, а также появление методов машинного и глубокого обучения в здравоохранении привели к резкому росту числа исследований с применением этих методов для анализа сигналов в кардиотокографии [41]. Melaet

R. et al. (2024) также описывают значение моделей на основе ИИ в выявлении патологического типа КТГ [42].

Далее будут освещены публикации, посвященные КТГ и элементам ИИ, представляющие ценность для практикующих специалистов в области акушерства и гинекологии.

В своем исследовании Dlugatch R. et al. (2024) рассмотрели использование метода кардиотокографии на основе искусственного интеллекта DSS (decision support system) [43]. В работе были приведены некоторые условия, которым должна соответствовать КТГ на основе искусственного интеллекта. К ним отнесли точность и эффективность оценки рисков, способность к персонализации и индивидуализированной медицине, отсутствие значимости в отношении типа учреждения, разрабатывающего технологии, прозрачность процесса диагностики. В основе данной разработки - система поддержки принятия решений на основе искусственного интеллекта AI-DSS (Оксфордская система OxSys). Это интеллектуальная компьютеризированная система, которая помогает специалистам в принятии более надежных решений и более точной диагностике патологических состояний плода [43].

O'Sullivan ME. et al. (2021) отмечают, что современные компьютерные системы, использующие более продвинутое машинное обучение, обладают анализом широкого диапазона [44]. Среди преимуществ – постоянная доступность и отсутствие влияния на них человеческих факторов, таких как рассеянность, усталость, предвзятость, когнитивная перегрузка и страх причинить вред. Современная система Omniview-SisPorto, версии 3.5 классифицирует КТГ на четыре класса (нормальная, сомнительная, патологическая и претерминальная) на основе рекомендаций FIGO. В основе ее работы – глубокое машинное обучение DL, а именно многомасштабная сверточная нейронная сеть – MCNN. Данная система позволяет определять поздние, длительные

или повторяющиеся децелерации, сниженную вариабельность. Результаты исследований показали, что совпадение между заключениями человека и компьютерной системой обнаружения сокращений, акцелераций и децелераций составило 87, 71 и 68% соответственно [44].

Spairani E. et al. (2023) для анализа кардиотокограмм начали использовать систему, в основе которой лежат Марковские модели – Hidden Markov Models (HMM) [45]. Это классическая модель машинного обучения. Данная система анализирует каждый отрезок кардиотокограммы и извлекает небольшой набор признаков – покой или активность плода, чтобы в дальнейшем определить состояние плода. После изучения сигналов 35 кардиотокограмм, относящихся к разным срокам беременности, были получены автоматические заключения состояния плода. Общее соответствие между прогнозами HMM и заключениями врача составило 90% [45].

Georgieva A. et al. (2022) отмечает одно из преимуществ вышеперечисленных систем, работа которых основана на ИИ - их возможность в ходе обработки медицинских сигналов быть устойчивыми к внешним артефактам (шуму и помехам) [46].

Как многим известно, КТГ зачастую имеет решающее значение для оценки состояния плода, а для точной оценки необходим хороший (без артефактов или помех) доплеровский сигнал тонов сердца плода. Современный алгоритм расчета частоты сердечных сокращений (ЧСС) плода, основанный на автокорреляции доплеровского ультразвукового сигнала, часто приводит к периодическим сбоям из-за его неспособности точно дифференцировать сигналы тонов сердца от шума и помех. Поэтому Zeng R. et al. (2021) разработали классификацию доплеровских ультразвуковых сигналов по типам на основе ИИ [47]. В исследовании использовали одномерную сверточную нейронную сеть (1D CNN) для обработки

сигналов, а именно сверточные слои (convolutional layer, CNN). Классификация включала в себя: одиночное сердцебиение плода, артефакт, сигнал низкого уровня и множественные сердечные сокращения. Разделение ультразвуковых сигналов на различные типы позволяет оценивать параметры, недоступные при обычном мониторинге плода. Например, различие между частотой сердечных сокращений матери и плода. Точность результатов составила 79,6-80,9%. Тем не менее, система ИИ не позволяет классифицировать сигналы со 100% точностью и все же может принять артефакт за сердцебиение плода, поэтому необходимы дальнейшие исследования [47].

Zeng R. et al. (2021) говорит о том, что повысить точность диагностики можно путем дополнения в анализ сигнала маточных сокращений или схваток [47]. Данная модель ИИ более эффективна во время родов. Учитывая более высокую вероятность потери КТГ сигнала в ходе родов, интеграция этой модели может улучшить качество анализа кардиограмм [47].

Hirono Y. et al. (2024) также отмечают клиническую ценность данной методики, которая заключается в том, что она потенциально позволяет выявлять аномалии развития плода во время мониторинга. Например, возможна диагностика аритмий плода, которые ранее выявлялись только с помощью ультразвуковых диагностических устройств или электрокардиограммы плода [48].

Gude V. et al. (2022) в своем исследовании отразили, что компьютерный анализ данных КТГ при помощи ИИ уменьшает субъективность оценки состояния плода [49]. Авторы разработали интегративную модель, которая идентифицирует закономерности в таких параметрах, как ЧСС плода и сокращения матки, а затем с высокой эффективностью прогнозирует соответствующие значения с помощью

модели глубокого обучения, а именно разновидности рекуррентных нейронных сетей – Long Short-Term Memory (LSTM), с целью классификации и прогнозирования внутриутробного состояния плода. Данные значения впоследствии классифицировались с помощью ансамблевого классификатора, который является прикладным направлением ИИ. Оценка состояния плода проводилась с использованием искусственных нейронных сетей (artificial neural network – ANN). Параметры КТГ (ЧСС плода и сокращения матки) обрабатывались при помощи модели глубокого обучения, которая извлекает необходимые признаки и классифицирует их с помощью алгоритма сборки, состоящего из «случайного леса» (RF) и метода опорных векторов (SVM). В ходе исследования было выявлено, что метод опорных векторов и нейронная сеть обладают более высокой точностью, чувствительностью и специфичностью в диагностике патологического состояния плода, чем «случайный лес». Алгоритм данной классификации показал точность теста – 85%. Авторы сообщили, что производительность модели может быть улучшена путем обучения на большом количестве наблюдений [49].

Еще один нейроклассификатор FCM-ANFIS (нейро-нечеткая система логического вывода ANFIS), описанный Fei Y. et al. (2020) [50]. Он объединяет в себе теорию нечетких множеств и нейросетевые технологии, а также основан на кластеризации данных КТГ для антенатального мониторинга плода. Данная модель обладает способностью к адаптации в условиях сложности при интерпретации антенатальных КТГ. FCM-ANFIS показала самую высокую точность, скорость запоминания и чувствительность. Также в отличие от других моделей данный нейроклассификатор имел самый низкий уровень ошибок в классификации и снижал вероятность неправильной классификации, например, «сомнительных» типов КТГ и

«нормальных». В заключение следует отметить, что модель FCM-ANFISM превзошла традиционные методы машинного обучения по мнению авторов в интерпретации КТГ с помощью ИИ. Точность диагностики нейроклассификатором составила 87,01% [50].

В связи с тем, что в настоящее время в клинической практике оценка КТГ в основном проводится путем визуального анализа результатов зачастую возникает ошибочная интерпретация реального состояния плода. Spairani E. et al. (2022) отмечают, что внедрение КТГ-анализа на основе ИИ снизило бы субъективность интерпретации результатов КТГ [51]. В своей работе авторы показали, что система ИИ проводит дихотомическую классификацию (нормальные и патологические типы КТГ) с помощью гибридной архитектуры нейронной сети, состоящей из многослойного персептрона (MLP) и сверточной нейронной сети (CNN). Известно, что классификационные возможности методов искусственного интеллекта лучше всего проявляются только при работе с большими объемами данных, поэтому для такого исследования было необходимо значительное количество кардиотокограмм, чтобы повысить эффективность результатов работы. Авторами КТГ проводилась с помощью фетальных мониторов Philips и Corometrics, оснащенных ультразвуковым датчиком и трансабдоминальным токодинамометром. Исходные сигналы передавались данными устройствами в программное обеспечение 2CTG2, которое сохраняло данные ЧСС плода и маточной активности с частотой дискретизации 2 Гц. Каждое исследование КТГ длилось не менее 60 минут. Затем медицинская группа классифицировала каждую запись на нормальную и патологическую. Различные числовые коды были связаны с различной внутриутробной патологией, что упрощало извлечение записей, относящихся к различным категориям из всей базы данных. Нейронная сеть

состояла из двух ветвей: MML, получающей массив из 15 регрессоров, и CNN, получающей набор изображений размером 64×64 . Последние были получены путем нескольких преобразований. Средняя точность, достигнутая одним MLP в ходе 30 тренировочных испытаний на 2800 тестовых примерах, составила 75,5%, т.е. 2115 правильных классификаций против 685 ошибочных. В результате этой работы были получены 17483 записей КТГ – 7733 нормальных и 9750 патологических. Патологическая группа включала в себя данные о пациентках с различными заболеваниями как материнского, так и внутриутробного происхождения, такими как сахарный диабет, пороки развития, задержка роста плода (ЗРП) и т.д. Поскольку цель исследования заключалась в разделении здоровых плодов и патологических, каждая запись в наборе данных была разделена на две категории. Записи, относящиеся к группе физиологической беременности (нормальные), были обозначены 0, а записи, относящиеся к патологическим, были обозначены символом 1. Затем сигналы ЧСС плода были преобразованы в набор изображений. CNN анализировала двумерные объекты (изображения) путем кодирования информационного содержимого сигнала сердцебиения плода в 2D. Точность предложенной нейронной сети достигла 80,1% [51].

Liang H. et al. (2022) отобрали современный метод классификации, используя модели 1D-CNN и GRU (Gated Recurrent Unit), для извлечения абстрактных характеристик сердцебиения плода и сигналов сокращения матки [52]. Для оценки выбрали несколько оценочных показателей, точность которых составляла 96%, чувствительность – 95%, а специфичность – 96%. Смысл модели GRU заключается в анализе сигналов ЧСС плода и впоследствии классификации состояния плода. Полученные сигналы обрабатывались при помощи 2D-CNN и преобразовывали одномерную

информацию в двумерные частотно-временные изображения. Модель GRU обладает более простой структурой сети и меньшим объемом вычислений, кроме того, ее производительность аналогична LSTM (разновидность RNN). Эксперимент показал, что данная разработка эффективна и может обеспечить врачам более стабильную, эффективную и удобную диагностику состояния плода [52].

Такие же направления ИИ (CNN) использовались и в исследовании Aswathi Mohan PP. et al. (2023) [53], а мультимодальные сверточные нейронные сети в работе Petrozziello A. et al. (2019) [54].

Имеют место работы, посвященные такому осложнению, как дистресс плода, а именно его возможным предикторам.

Mendis L. et al. (2023) сообщают, что они первыми обобщили инновационные методы анализа КТГ в своем обзоре [55]. Ими были описаны физиологические методы классификации, которые использовались в автоматизированных фетальных мониторах для выявления нарушений состояния плода. Данный обзор актуален, так как дистресс плода - это наиболее распространенная причина мертворождения во всем мире. Ее возникновение связано с определенным механическим давлением на плод во время родов, что снижает поступление кислорода к плоду. Низкий уровень кислорода ведет к перестройке аэробного метаболизма на анаэробный. В результате этого накапливается кислота, которая оказывает негативное влияние на клетки головного мозга плода. Это может привести к травме головного мозга и даже детскому церебральному параличу. Таким образом, одновременный мониторинг ЧСС плода и сокращений матки с помощью КТГ может помочь клиницистам оценить, как течение родов, так и состояние плода. Авторы отмечают, что для такого анализа КТГ и для эффективного прогноза очень важно качество входных сигналов ЧСС плода и сокращений матки. Методы

глубокого обучения работают непосредственно с необработанными сигналами КТГ. Данный процесс направлен на извлечение соответствующей информации или характеристик из исходных сигналов КТГ. Данные выделенные параметры служат индикаторами состояния плода, позволяя медицинским работникам или современным моделям с ИИ контролировать и оценивать клиническую ситуацию. Авторы указывают, что на сегодняшний день модели могут классифицировать входные сигналы ЧСС плода и маточной активности. Кроме того, разработаны искусственные нейронные сети. Эти очень мощные модели способны изучать сложные паттерны и взаимосвязи в данных с помощью нейронных слоев. В этой области была продемонстрирована эффективность 1D CNN. Этот тип CNN может обрабатывать временные ряды данных ЧСС плода, извлекая определенные признаки и классифицируя сигналы на нормальные или патологические. Кроме того, при разработке функциональных возможностей систем ИИ необходимо учитывать зашумленность сигнала и низкую частоту дискретизации, что обеспечивает максимально возможную точность подсчета ЧСС плода [55].

Alotaibi D. et al. (2024) в свою очередь упоминают применение машинного глубокого обучения и нейронных сетей [56]. Дистресс плода - это тяжелая патология, которую необходимо своевременно диагностировать, чтобы снизить перинатальные осложнения. Методы непрерывного мониторинга необходимы для наиболее раннего выявления такой патологии. В данном обзоре подчеркивается важность анализа данных КТГ с использованием различных методов искусственного интеллекта MLT и DLL. Они позволяли классифицировать случаи гипоксии плода на острую или хроническую. Более того, благодаря ИИ были поставлены более точные

заклучения и разработаны индивидуальные схемы лечения. В исследовании использовался набор данных, состоящий из 300 сигналов КТГ, запись которых длилась 20 минут, с использованием программного обеспечения для анализа ЧСС плода. Модель ANN идентифицировала три состояния плода (нормальное, сомнительное, патологическое) [56].

Francis F. et al. (2024) в своей статье затрагивает такие же направления ИИ [57], как и Harish S. et al. (2024) [58], а именно машинное обучение и глубокое машинное обучение.

Темой гипоксии плода заинтересован и Tarvonen M. et al. (2024) [59]. В своей работе он отображает возможность выявления и оценки гипоксии плода при помощи современных технологий ИИ. Так, новая методика ML SALKA с высокой чувствительностью и специфичностью определяет особенности ЧСС плода во время родов. SALKA распознает потенциальные ранние признаки дистресса плода. Чувствительность теста SALKA составила 0,981, показатель положительного прогноза – 0,822 (95%), а показатель ложноотрицательного результата – 0,01 (95%) [59].

Frasch MG. et al. (2023) отмечает, что искусственный интеллект позволяет разработать инструменты поддержки принятия клинических решений при ведении родов [60]. Апробация и внедрение таких инструментов может снизить частоту и тяжесть перинатальных травм головного мозга. Согласно недавнему отчету Национальной службы здравоохранения Великобритании (NHS) 70% внутриутробных травм головного мозга можно было бы предотвратить, если бы специалисты вовремя отреагировали на нарушения в родах, например, на дистресс плода [60].

M'Varek IB. et al. (2023) представили DeepCTG 1.0 – модель для прогнозирования гипоксии с помощью КТГ [61]. В ее основе лежит предварительная обработка сигналов,

извлечение функций и линейная интерполяция. Для улучшения предварительной обработки сигналов было предложено сначала определять частоту сердечных сокращений матери, которая иногда ошибочно регистрируется монитором вместо ЧСС плода. Несмотря на эти ограничения, авторы пришли к выводу, что их модель работает несколько лучше, чем другие модели, основанные на относительно простых статистических моделях (логистическая регрессия / методы опорных векторов). Для расчета необходимых характеристик изучали кардиотокограммы за последние 30 минут перед родоразрешением. В работе исследовали 552 записи КТГ с соответствующими данными о матери и плоде (срок беременности, возраст матери, паритет родов) и состоянии плода (рН крови плода, оценка по шкале Апгар через 1 и 5 минут, вес). Случаи с последующим кесаревым сечением не учитывались в работе. Это связано с тем, что между окончанием записи КТГ и моментом оперативного родоразрешения был достаточный промежуток времени. С другой стороны, исключение этих случаев может привести к очень сильному искажению результатов отбора, что отрицательно скажется на эффективности модели при ее использовании в клинической практике. Исследователи отмечают, что этот вопрос ранее не рассматривался в литературе, и необходимо провести дополнительные исследования, чтобы учесть роды путем кесарева сечения при построении данной модели. Более того, важно указывать причину, по которой было проведено оперативное родоразрешение. Коэффициент полезного действия модели составил 0,74. Это позволяет получить гораздо более низкую частоту ложноположительных результатов по сравнению с заключениями медицинских специалистов (12% против 25%). Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию системы для улучшения раннего выявления гипоксии

плода, например, путем использования сигнала на ранних стадиях родов для прогнозирования исхода родов [61].

Sajal B. (2021) обращает внимание, что основной причиной перинатальной смертности сегодня являются антенатальные осложнения [62]. Данную патологию можно легко выявить при беременности с помощью нестрессового теста. Но сегодня все большую актуальность приобретают модели машинного обучения, которые выступают в качестве системы поддержки принятия клинических решений. Они способны помочь специалистам в принятии своевременных и более обоснованных решений. Было собрано около 1800 записей КТГ в третьем триместре беременности. Эти данные были обработаны с помощью алгоритма отбора признаков для выявления важных переменных в наборе. После чего этот набор данных был случайным образом разделен на 2 независимые выборки. В качестве анализа был выбран алгоритм «случайного леса», который точно классифицировал кардиотокограммы на нормальные, подозрительные или патологические. В результате было выделено несколько категорий. Из них 77,85% нормальных, 19,88% подозрительных и 8,28% патологических. Авторы указывают, что данная модель может быть использована медицинскими работниками для выявления беременных женщин группы высокого риска и принятия решения о том, какая медицинская помощь должна быть им оказана [62].

Этот же метод классификации с помощью «случайного леса» продемонстрирован в исследовании Chen M. et al. (2022) [63]. Они упоминают алгоритм Apriori. Он основан на поиске частотных множеств элементов в наборе данных и построен на ассоциациях и корреляциях между наборами элементов. После чего уже происходит классификация [63].

Все современные направления искусственного интеллекта могут использоваться не только для своевременного выявления гипоксии плода, но и предотвращения более тяжелых осложнений, которые будут упомянуты ниже.

Несмотря на существование прямой связи между патологическими картинами КТГ и впоследствии неблагоприятными исходами беременности, многие специалисты не в состоянии распознать сложные паттерны ЧСС плода и высокие риски, такие как асфиксия, ЗРП (задержка роста плода) и мертворождение. Jones GD. et al. (2024) сообщили о разработке первого алгоритма машинного обучения для выявления беременностей высокого риска с сопутствующими неблагоприятными исходами (преждевременные роды), в основе которого лежит мониторинг сердечного ритма плода с помощью ИИ [64]. В ходе работы были получены данные о ЧСС плода с исходами преждевременных родов и с выявленным впоследствии неблагоприятным состоянием новорожденных. Используя клинически подтвержденный алгоритм ИИ, авторы из каждой кардиотокограммы выделили семь различных паттернов сердечного ритма плода, которые затем были отфильтрованы от артефактов. Шесть алгоритмов машинного обучения были обучены с использованием определенного алгоритма (классификатор на основе «случайного леса»), чтобы идентифицировать каждую КТГ как нормальную или патологическую с вероятностью преждевременных родов. В ходе исследования было определено 4867 патологических кардиотокограмм с неблагоприятным исходом и 4014 записей, отражающих нормально протекающую беременность. Эпизоды высокой вариабельности были выше в группе с нормальным исходом ($p < 0,001$), в то время как эпизоды низкой вариабельности оказались значительно выше в группе с преждевременным неблагоприятным исходом ($p < 0,001$). Чувствительность

составила 76,2%, специфичность 87,5%, что указывает на высокую способность прогнозировать исходы беременности. Таким образом, данное исследование успешно продемонстрировало, что алгоритмы машинного обучения способны выявлять преждевременные роды высокого риска с сопутствующими неблагоприятными исходами при помощи мониторинга сердечного ритма плода. Эти результаты показывают высокий потенциал машинного обучения в повышении точности и эффективности дородового мониторинга плода, особенно в случаях высокого риска, когда своевременное вмешательство имеет решающее значение [64].

В своем исследовании Frasch MG. et al. (2021) описывают современный механизм глубокого обучения для предотвращения тяжелых осложнений состояния плода [65]. В его основе лежит своевременное выявление на кардиотокограмме критической точки «А» и предотвращение точки «В», что отражает декомпенсированное состояние плода. В точку «А» отнесли такие показатели, как появление децелераций, чрезмерная активность матки и т.д. К точке «В» отнесли снижение вариабельности, учащение сердцебиения плода и другие. Среди мер, которые разработчики предлагают принять в случае обнаружения точки «А», например, уменьшение дозы окситоцина, оценка возможности безопасных вагинальных родов. В ходе исследования модель достигла точности 93,6% [65].

Среди методов машинного обучения представлены и такие, как линейная интерполяция и фрактальный анализ.

Исследование, проведенное Zhong M. et al. (2022) посвящено оценке состояния плода с помощью ИИ (UNet – сеть глубокого обучения) [66]. В работе авторы учитывали морфологические характеристики сигналов и использовали традиционные методы фильтрации сигнала от артефактов. Алгоритмы для автоматизированного анализа ЧСС плода

вначале вычисляли базальный ритм ЧСС плода, а затем эпизоды акцелераций и децелераций. Исследование показало, что если точно рассчитать базальный ритм ЧСС, то можно определить все патологические эпизоды, за исключением синусоидальных паттернов. Записи КТГ были сделаны на устройствах производства Lian-Med Technology Co., Ltd. (Гуанчжоу, Китай). Также были использованы ультразвуковой доплеровский фетальный монитор Lian-Med F3 (LM-F3), система центрального акушерского мониторинга Lian-Med (LM-ObVue) и система управления акушерской информацией Lian-Med (LM-OBIS). Монитор F3 использовался для получения данных КТГ, ObVue использовался для помощи врачам в определении состояния плода, а OBIS – для сбора и записи информации из электронных медицинских карт беременных женщин. В ходе работы исследователи собрали в общей сложности 43888 записей КТГ в период с января 2012 по декабрь 2020 года. Все беременные женщины были старше 18 лет и родили живых доношенных детей. Для того, чтобы получить высококачественные сигналы ЧСС плода были соблюдены следующие правила: одноплодная беременность; частота потери сигналов составляла менее 10% за 10 минут; роды в сроке 36-42 недель гестации; общая продолжительность записи КТГ от 60 до 90 минут [66].

Устройство на основе искусственного интеллекта STGNet отслеживало несколько параметров. К ним относится ЧСС плода, сигнал сокращения матки, профиль движений плода и т.д. Затем данный аппарат классифицировал сигналы ЧСС плода и автоматически рассчитывал базальный ритм. В данном устройстве также используется UNet – это сеть глубокого обучения, в основе которой имело место структура кодирования-декодирования. Кроме того, для уменьшения шума в сигналах применили линейную интерполяцию. Дифференцировать ЧСС плода на

патологическую и нормальную помогает также фрактальный анализ. Он исследует природу долгосрочных корреляций сигнала variability сердечного ритма плода [66].

Такой же фрактальный анализ для определения ЧСС плода был использован в работе Ponsiglione AM. et al. (2021) и отнесен к нетрадиционному анализу [67].

Другой метод оценки ЧСС плода FHR-LINet использовался для быстрого выявления нарушений внутриутробного состояния плода. Он примерно на 25%

эффективнее по сравнению с современной мультимодальной сверточной нейронной сетью. Данная диагностическая система позволила обеспечить своевременное выявление дистресса плода и предотвращение риска перинатальной смертности [65].

Ниже на рисунке 2 представлена (Frasch M.G. et al., 2021) блок-схема анализа сердечного ритма плода с использованием искусственного интеллекта CTGNet [65].

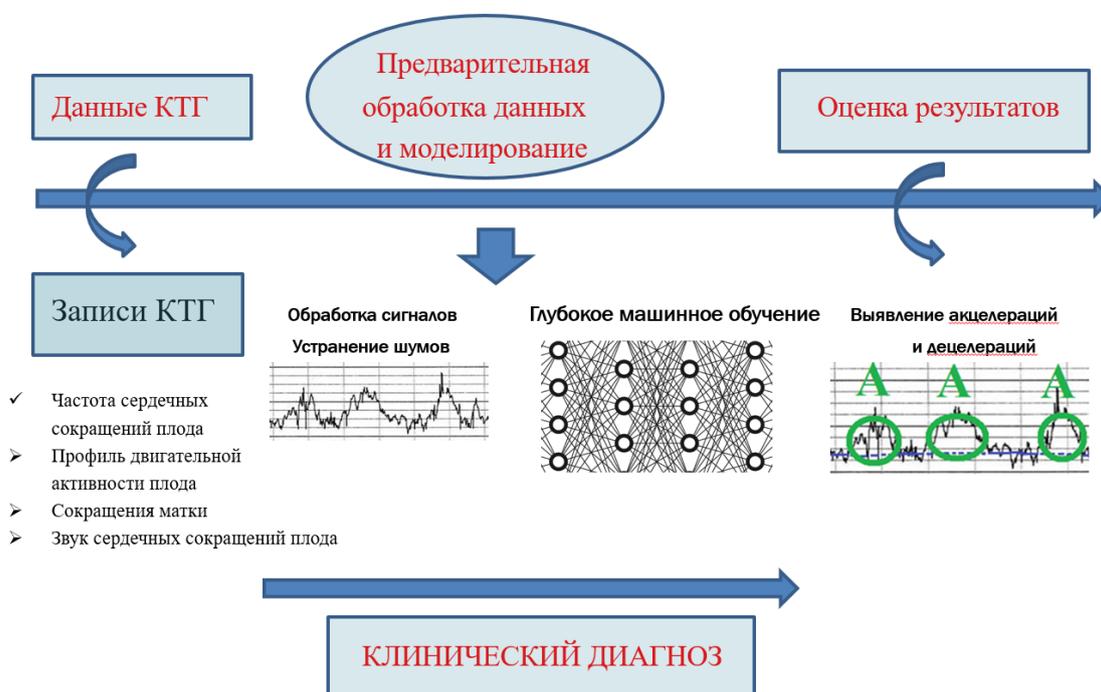


Рис. 2. Блок-схема анализа сердечного ритма плода с использованием CTGNet
Fig. 2. A flowchart of fetal heart rate analysis using the proposed CTGNet

Одним из показателей ИИ, отражающим тактику врача акушера-гинеколога, является time to predict (TTP). Он описан в статье Mendis L. et al. (2024) о применении метода глубокого обучения для предотвращения субъективной оценки состояния плода [68]. Используя в своей работе данный показатель, авторы на 25% сокращают время, необходимое для выявления патологии плода, по сравнению с современной мультимодальной сверточной нейронной сетью (MCNN). Чувствительность – 20%

ложноположительных результатов. Преимущество данной диагностической системы в том, что она потенциально обеспечивает более раннее вмешательство при нарушениях внутриутробного состояния плода и улучшает клинические результаты [68].

Sahin H. et al. (2020) отмечают, что роль алгоритмов машинного обучения в выявлении заболеваний становится все более важной в настоящее время [69]. Результаты экспериментов показали, что классификатор с использованием

ансамбля пакетов показал удовлетворительные результаты, а при использовании «случайного леса» имел лучшие результаты с точностью 99,2% [69].

Существуют и другие модели для оценки состояния плода. Например, модифицированная модель GANomaly была создана Bertieaux J. et al. (2022) для обнаружения аномалий в сигналах КТГ при помощи структуры кодер-декодер с дискриминатором, что сводит к минимуму ошибки при изучении сигнала КТГ [70].

Еще одна модель CTGGAN (Generative Adversarial Networks – порождающие состязательные сети) предложена Zichang Yu et al. (2024), которая использует генерирующие состязательные сети (GANs) для анализа сигналов ЧСС плода [71].

CCWGAN-GP-нейронная сеть, разработанная Zhang Y. Et al. (2022), в основе которой лежит классификатор состояния плода, способен работать с достаточно большой выборкой по сравнению с другими системами, поэтому точность на 12% выше соответственно [72].

Другим методом анализа состояния плода является алгоритм компьютерной диагностики ацидоза плода (Hybrid-FHR), описанный Zhao Z. et al. (2024), который помогает врачам принимать своевременно решения для снижения осложнений [73]. Для извлечения пространственно-временного представления признаков одномерных сигналов ЧСС плода была разработана магистральная модель многомасштабной временной сверточной сети сжатия и возбуждения (SE-TCN) на основе расширенной причинно-следственной свертки. Она эффективно фиксировала долгосрочную зависимость сигналов ЧСС за счет расширения поля восприятия ядра свертки каждого уровня при сохранении относительно небольшого размера параметра. Кроме того, был исследован метод кросс-модального объединения признаков (CMFF), который использовал механизмы многоголового

внимания для изучения взаимосвязей между различными модальностями, получения более информативных представлений признаков и повышения точности диагностики. Механизм многоголового внимания (англ. multi-head attention mechanism) – это механизм внимания с несколькими головами, который позволяет модели одновременно принимать во внимание информацию из разных подпространств векторных представлений. Авторы указали, что данный метод превосходит традиционные методы, которые применялись ранее, со средней точностью 96,8%, специфичностью 97,5%, чувствительностью 96% [73].

Saο Z. et al. (2023) описывают мультимодальную систему для антенатального мониторинга плода, способную автоматически извлекать признаки КТГ и классифицировать их [74]. В ее основе лежит сверточная нейронная сеть (CNN). Признаки КТГ были извлечены из предварительно обработанных сигналов КТГ с помощью CNN. Также был применен LightGBM – классификатор повышения градиента в машинном обучении, который использовал древовидные алгоритмы обучения. MMDLA способствует реализации интеллектуального мониторинга состояния плода в антенатальном периоде. Данный метод достиг точности 90,77% [74].

Black S. et al. (2024) в своем исследовании предлагают нововведение в практическом применении – системы с ИИ для дистанционного мониторинга состояния плода (NeuroFetalNet) [75]. В основе работы данной модели опять же метод глубокого машинного обучения и классификация данных с помощью наивного байесовского классификатора, дерева принятия решений, многослойного перцептрона и радиальной базисной функции. Авторы указывают, что внедрение в систему здравоохранения таких современных систем могло бы

улучшить охрану здоровья матери и ребенка [75].

Заключение. Таким образом, исследования, посвященные искусственному интеллекту в области фетального мониторинга или кардиотокографии, показывают улучшение качества диагностики гипоксических состояний плода в антенатальном периоде и родах. Однако они имеют в настоящее время уровень разработок и анализа данных.

Модели машинного обучения повышают эффективность прогнозирования состояния плода и позволяют снизить перинатальную смертность [76]. Следует подчеркнуть более высокую точность диагностики систем КТГ на основе ИИ по сравнению с традиционными методами, 96,8-99,2% и 80,0-84,4% соответственно [19, 28, 69, 73].

Современная диагностическая технология на основе искусственного интеллекта в области КТГ может являться виртуальным цифровым помощником для акушеров в принятии медицинских решений [77]. Все это диктует необходимость дальнейших исследований в области КТГ и ИИ. Полученные данные могут быть использованы для улучшения перинатальных исходов.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Российское общество акушеров-гинекологов. Клинические рекомендации «Признаки внутриутробной гипоксии плода,

требующие предоставления медицинской помощи матери» [Электронный ресурс]. 2023 [дата обращения 20.05.2025]. URL: <https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-priznaki-vnutriutrobnoi-gipoksii-ploda-trebuishchie/klinicheskie-rekomendatsii/>

2. Norman M. Identifying the true scale of perinatal deaths. *Acta Paediatrica*. 2017;106(9):1376-1377. DOI: <https://doi.org/10.1111/apa.13933>

3. Hodgins S. Pre-eclampsia as Underlying Cause for Perinatal Deaths: Time for Action. *Global Health: Science and Practice*. 2015;17;3(4):525-527. DOI: <https://doi.org/10.9745/GHSP-D-15-00350>

4. Rêgo MGS, Vilela MBR, Oliveira CM, et al. Perinatal deaths preventable by intervention of the Unified Health System of Brazil. *Revista Gaúchade Enfermagem*. 2018;39:e20170084. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-1447.2018.2017-0084>

5. Helps Ä, Leitao S, Greene R, et al. Perinatal mortality audits and reviews: Past, present and the way forward. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2020;250:24-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2020.04.054>

6. Helps Ä, Leitao S, Gutman A, et al. National perinatal mortality audits and resultant initiatives in four countries. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2021;267:111-119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.10.012>

7. Приходько АМ, Романов АЮ, Тысячный ОВ, и др. Современные принципы кардиотокографии в родах. *Медицинский совет*. 2020;3:90-97. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-90-97>

8. Tharmaratnam S. Fetal distress. *Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2000;14(1):155-172. DOI: <https://doi.org/10.1053/beog.1999.0069>

9. Gilstrap LC. A Guest Editorial: Distress over fetal distress. *Obstetrical and Gynecological Survey*. 1996;51(3):143-144. DOI: <https://doi.org/10.1097/00006254-199603000-00001>

10. Penning S, Garite TJ. Management of fetal distress. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 1999;26(2):259-274. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0889-8545\(05\)70073-5](https://doi.org/10.1016/s0889-8545(05)70073-5)

11. Баев ОР, Приходько АМ, Зиганшина ММ, и др. Антенатальные и интранатальные

- факторы риска, ассоциированные с гипоксией плода в родах. *Акушерство и гинекология*. 2022;8:47-53. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.8.47-53>
12. Логинов ВВ, Давыдов ДГ, Приходько АМ, и др. Особенности адаптации плода к кардиотокографическому исследованию как критерий оценки его состояния. *Акушерство и гинекология*. 2021;3:138-144. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.3.138-144>
13. Paladugu V, Sreedhar S, Chitra R, et al. Association of CTG Diagnosis of Intrapartum Fetal Distress and Immediate Postpartum Acidemia in Foetal Umbilical Artery. *Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. 2023;73(1):28-35. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13224-022-01702-2>
14. Schifrin BS. CTG and the timing and mechanism of fetal neurological injuries. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2004;18(3):437-456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2004.03.001>
15. Kapila R, Saleti S. Optimizing fetal health prediction: Ensemble modeling with fusion of feature selection and extraction techniques for cardiotocography data. *Computational Biology and Chemistry*. 2023;107:107973. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2023.107973>
16. Шамарин СВ, Енькова ЕВ, Ипполитова ЛИ, и др. Электронный доплеровский фетальный мониторинг и непрямая ЭКГ плода в современном акушерстве (обзор). *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023;9(2):234-253. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-2-0-7>
17. Шамарин СВ. Международная система интерпретации данных кардиотокограмм: FIGO и другие. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2016;15(4):723-733.
18. Шамарин СВ. Международные стандарты кардиотокографии. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2010;9(2):357-365.
19. Шамарин СВ. Клинический опыт использования современных методик анализа КТГ в России. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2015;14(3):510-515.
20. Cagninelli G, Dall'asta A, DI Pasquo E, et al. STAN: a reappraisal of its clinical usefulness. *Minerva Obstetrics and Gynecology*. 2021;73(1):34-44. DOI: <https://doi.org/10.23736/s2724-606x.20.04690-0>
21. Еремина ОВ, Баев ОР, Приходько АМ, и др. Использование комбинации кардиотокографии и автоматического анализа сегмента ST электрокардиограммы плода для мониторинга его состояния в родах. *Акушерство и гинекология*. 2014;11:49-56.
22. Blencowe H, Hug L, Moller AB, et al. Definitions, terminology and standards for reporting of births and deaths in the perinatal period: International Classification of Diseases (ICD-11). *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2025;168(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijgo.15794>
23. Gutman A, Harty T, O'Donoghue K, et al. Perinatal mortality audits and reporting of perinatal deaths: systematic review of outcomes and barriers. *Journal of Perinatal Medicine*. 2022;50(6):684-712. DOI: <https://doi.org/10.1515/jmp-2021-0363>
24. Савельева ГМ, Сухих ГТ, Серов ВН, и др. редакторы. *Акушерство: национальное руководство*. 2-е издание, переработанное и дополненное. ГЭОТАР-Медиа; 2022.
25. Демидов ВН, Логвиненко ВА, Бычков ПА, и др. Опыт комплексной оценки состояния плода во время беременности. *Акушерство и гинекология*. 1991;8:6-8.
26. Демидов ВН, Огай ОЮ, Сигизбаева ИИ. Оценка информативности автоматизированной антенатальной кардиотокографии. *Акушерство и гинекология*. 2008;6:33-39.
27. Aye CYL, Redman CWG, Georgieva A. The effect of augmentation of labour with syntocinon on the fetal CTG using objective computerised analysis: a nested case-control study. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2014;176:112-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.02.032>
28. Фризина АВ, Замалева РС, Черепанова НА. Использование антенатальной кардиотокографии для диагностики гипоксии плода. *Практическая медицина*. 2018;16(6):56-60. DOI: <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2018-16-6-56-60>
29. Redman CWG. Improving assessment of fetal health [Электронный ресурс]. *The clinical services journal "Huntleigh Diagnostics Ltd"*. 2013 [дата обращения: 20.12.2024];1-4. URL: <https://www.clinicalservicesjournal.com/story/12094/improving-assessment-of-fetal-health>

30. Dawes GS, Moulden M, et al. Computerized analysis of antepartum fetal heart rate. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1995;173(4):1353-1354. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(95\)91391-2](https://doi.org/10.1016/0002-9378(95)91391-2)
31. Dawes GS, Moulden M, Redman CWG. Short-Term Fetal Heart Rate Variation, Decelerations, and Umbilical Flow Velocity Waveforms Before Labor. *Obstetrics and Gynecology*. 1992;80(4):673-678.
32. Savirón-Cornudella R, Bielsa AL, Esteban-Escano J, et al. Diagnosis of cardiotocographic sinusoidal patterns by spectral analyses. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2024;93:106174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2024.106174>
33. Steyde G, Spairani E, Magenes G, et al. Fetal heart rate spectral analysis in raw signals and PRSA-derived curve: normal and pathological fetuses discrimination. *Medical and Biological Engineering and Computing*. 2024;62(2):437-447. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11517-023-02953-5>
34. Матыцина НП, Кудлай ВС. Основные направления развития искусственного интеллекта в различных сферах деятельности Российской Федерации. *Символ науки*. 2024;12-1-1:99-101.
35. Ившин АА, Гусев АВ, Новицкий РЭ. Искусственный интеллект: предиктивная аналитика перинатального риска. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2020;19(6):133-144. DOI: <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2020-6-133-144>
36. Чен З. Прогнозирование васкулитной нейропатии с использованием подходов контролируемого машинного обучения. *Информатика. Экономика. Управление*. 2024;3(1):301-310. DOI: <https://doi.org/10.47813/2782-5280-2024-3-1-0301-0310>
37. Подзорова МИ, Птицына ИВ, Бахтиярова ОН. Нейронная сеть, как одно из перспективных направлений искусственного интеллекта. *Modern European Researches*. 2022;3(1):169-176.
38. Мокшанов МВ. Применение искусственного интеллекта в анализе данных: обзор текущего состояния и будущих направлений. *Universum: технические науки*. 2024;122(5):40-48. DOI: <https://doi.org/10.32743/UniTech.2024.122.5.175>
39. Chen C, Xie W, Cai Z, et al. Deep Learning for Cardiotocography Analysis: Challenges and Promising Advances. In: Huang DS, Premaratne P, Jin B, et al. editors. *Advanced Intelligent Computing Technology and Applications*. ICIC 2023. *Lecture Notes in Computer Science*, vol 14087. Springer, Singapore; 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-4742-3_29
40. Kadarina TM, Basari, Gunawan D. ML-Based Interpretation of Cardiotocography Data: Current State and Future Research. In: *The Role of Artificial Intelligence Technology in Human and Computer Interactions in the Industrial Era 5.0. Proceedings of the 7th IEEE International Conference of Computer Science and Information Technology, ICOSNIKOM 2023 Nov 10-11. Indonesia: Hybrid, Binjia; 2023*. DOI: <https://doi.org/10.1109/ICOSNIKOM60230.2023.10364517>
41. M'Barek IB, Jauvion G, Ceccaldi PF. Computerized cardiotocography analysis during labor - A state-of-the-art review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2023;102(2):130-137. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.14498>
42. Melaet R, de Vries IR, Kok RD, et al. Artificial intelligence based cardiotocogram assessment during labor. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2024;295:75-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.02.007>
43. Dlugatch R, Georgieva A, Kerasidou A. AI-driven decision support systems and epistemic reliance: a qualitative study on obstetricians' and midwives' perspectives on integrating AI-driven CTG into clinical decision making. *BMC Medical Ethics*. 2024;25:6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12910-023-00990-1>
44. O'Sullivan ME, Considine EC, O'Riordan M, et al. Challenges of Developing Robust AI for Intrapartum Fetal Heart Rate Monitoring. *Frontiers in Artificial Intelligence*. 2021;4:765210. DOI: <https://doi.org/10.3389/frai.2021.765210>
45. Spairani E, Steyde G, Tagliaferri S, et al. Fetal states identification in cardiotocographic tracings through discrete emissions multivariate hidden Markov models. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2023;240:107736. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2023.107736>
46. Georgieva A, Abry P, Nunes I, et al. Editorial: Fetal-maternal monitoring in the age of artificial intelligence and computer-aided decision support: A multidisciplinary perspective. *Frontiers*

- in *Pediatrics*. 2022;10:1007799. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1007799>
47. Zeng R, Lu Y, Long S, et al. Cardiotocography signal abnormality classification using time-frequency features and Ensemble Cost-sensitive SVM classifier. *Computers in Biology and Medicine*. 2021;130:104218. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104218>
48. Hirono Y, Kai C, Yoshida A, et al. Extracting fetalheart signals from Doppler using semi-supervised convolutional neural networks. *Frontiers in Physiology*. 2024;15:1293328. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1293328>
49. Gude V, Corns S. Integrated Deep Learning and Supervised Machine Learning Model for Predictive Fetal Monitoring. *MDPI journal. Diagnostics*. 2022;12(11):2843. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112843>
50. Fei Y, Chen Q, Huang X, et al. Automatic Classification of Antepartum Cardiotocography Using Fuzzy Clustering and Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System. In: 2020 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM). Seoul, Korea (South); 2020. DOI: <https://doi.org/10.1109/BIBM49941.2020.9313143>
51. Spairani E, Daniele B, Signorini MG, et al. A deep learningmixed-data type approach for the classification of FHR signals. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022;10:887549. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.887549>
52. Liang H, Lu Y, Liu Q, et al. Fully Automatic Classification of Cardiotocographic Signals with 1D-CNN and Bi-directional GRU. In: IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Proceedings of the 44th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (EMBC); 2022 July 11-15; Glasgow, Scotland, United Kingdom; 2022. DOI: <https://doi.org/10.1109/EMBC48229.2022.9871253>
53. Aswathi Mohan PP, Uma V. Fetal Hypoxia Detection using CTG Signals and CNN Models. *International Research Journal on Advanced Science Hub*. 2023;5:434-441. DOI: <http://dx.doi.org/10.47392/irjash.2023.S059>
54. Petrozziello A, Redman CWG, Papageorghiou AT, et al. Multimodal Convolutional Neural Networks to Detect Fetal Compromise During Labor and Delivery. *IEEE Access*. 2019;7:112026-112036. DOI: <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2933368>
55. Mendis L, Palaniswami M, Brownfoot F, et al. Computerised Cardiotocography Analysis for the Automated Detection of Fetal Compromise during Labour: A Review. *Bioengineering*. 2023;10(9):1007. DOI: <https://doi.org/10.3390/bioengineering10091007>
56. Alotaibi D, Aldossary H, Albrahim R, et al. Fetal Hypoxia Detection Using Machine Learning: A Narrative Review. *AI*. 2024;5(2):516-532. DOI: <https://doi.org/10.3390/ai5020026>
57. Francis F, Luz S, Wu H, et al. Machine learning on cardiotocography data to classify fetal outcomes: A scoping review. *Computers in Biology and Medicine*. 2024;172:108220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2024.108220>
58. Harish S, Reeja SR. Comprehensive Review of Fetal Health Monitoring using DL and ML techniques with Ultrasound and Cardiotocography data. In: International Conference on Emerging Systems and Intelligent Computing (ESIC); 2024 Feb 9-10; Bhubaneswar, India; 2024. DOI: <https://doi.org/10.1109/ESIC60604.2024.10481665>
59. Tarvonen M, Manninen M, Lamminaho P, et al. Computer Vision for Identification of Increased Fetal Heart Variability in Cardiotocogram. *Neonatology*. 2024;121(4):460-467. DOI: <https://doi.org/10.1159/000538134>
60. Frasc MG. Fetal heart rate variability: An ocean of meanings beyond ups and downs. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2023;130(12):1557-1558. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.17391>
61. M'Barek IB, Jauvion G, Vitrou J, et al. DeepCTG 1.0: an interpretable model to detect fetal hypoxia from cardiotocographydata during labor and delivery. *Frontiers in Pediatrics*. 2023;11:1190441. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1190441>
62. Baxi S. Machine learning based clinical decision support system to predict fetal hypoxia in women during antenatal check-up. *Paripex - Indian Journal Of Research*. 2021;10(4):82-90. DOI: <https://doi.org/10.36106/paripex/0609546>
63. Chen M, Yin Z. Classification of Cardiotocography Based on the Apriori Algorithm and Multi-Model Ensemble Classifier. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10:888859. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.888859>

64. Jones GD, Cooke W, Vatish M. Identifying high-risk pre-term pregnancies using the fetal heart rate and machine learning. medRxiv. 2024;24303280. DOI: <https://doi.org/10.1101/2024.02.26.24303280>
65. Frasch MG, Strong SB, Nilosek D, et al. Detection of Preventable Fetal Distress During Labor From Scanned Cardiotocogram Tracings Using Deep Learning. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9:736834. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2021.736834>
66. Zhong M, Yi H, Lai F, et al. CTGNet: Automatic analysis of fetal heart rate from cardiotocograph using artificial intelligence. *Maternal-Fetal Medicine*. 2022;4(2):103-112. DOI: <https://doi.org/10.1097/FM9.000000000000147>
67. Ponsiglione AM, Cosentino C, Cesarelli G, et al. A Comprehensive Review of Techniques for Processing and Analyzing Fetal Heart Rate Signals. *Sensors*. 2021;21(18):6136. DOI: <https://doi.org/10.3390/s21186136>
68. Mendis L, Palaniswami M, Keenan E, et al. Rapid detection of fetal compromise using input length invariant deep learning on fetal heart rate signals. *Scientific Reports*. 2024;14(1):12615. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63108-6>
69. Sahin H, Subasi A. Classification of the cardiotocogram data for anticipation of fetal risks using machine learning techniques. *Procedia Computer Science*. 2020;168:34-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2020.02.248>
70. Bertieaux J, Shateri M, Labeau F, et al. Cardiotocography Signal Abnormality Detection Based on Deep Semi-Unsupervised Learning. *Proceedings of the IEEE/ACM 10th International Conference on Big Data Computing, Applications and Technologies (BDCAT '23)*. Association for Computing Machinery; 2022 Sep 29; New York, USA; 2022. DOI: <https://doi.org/10.1145/3632366.3632391>
71. Yu Z, Hu Y, Lu Y, et al. CTGGAN: Reliable Fetal Heart Rate Signal Generation Using GANs. *Proceedings of the 2024 International Joint Conference on Neural Networks (IJCNN)*; 2024 June; Yokohama, Japan; 2024. DOI: <https://doi.org/10.1109/IJCNN60899.2024.10650729>
72. Zhang Y, Zhao Z, Deng Y, et al. FHRGAN: Generative adversarial networks for synthetic fetal heart rate signal generation in low-resource settings. *Information Sciences*. 2022;594:136-150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ins.2022.01.070>
73. Zhao Z, Zhu J, Jiao P, et al. Hybrid-FHR: a multi-modal AI approach for automated fetal acidosis diagnosis. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2024;24(1):19. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12911-024-02423-4>
74. Cao Z, Wang G, Xu L, et al. Intelligent antepartum fetal monitoring via deep learning and fusion of cardiotocographic signals and clinical data. *Health Information Science and Systems*. 2023;11(1):16. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13755-023-00219-w>
75. Sun B, Zhao J, Miao X, et al. NeuroFetalNet: Advancing Remote Electronic Fetal Monitoring with a New Dataset and Comparative Analysis of FHR and UCP Impact. *Proceedings of the 2024 IEEE International Conference on Digital Health (ICDH)*; 07-13 July 2024; Shenzhen, China; 2024. DOI: <https://doi.org/10.1109/ICDH62654.2024.00039>
76. Fergus P, Chalmers C, Montanez CC, et al. Modelling Segmented Cardiotocography Time-Series Signals Using One-Dimensional Convolutional Neural Networks for the Early Detection of Abnormal Birth Outcomes. In: *IEEE Transactions on Emerging Topics in Computational Intelligence*. 2021;5(6):882-892. DOI: <https://doi.org/10.1109/TETCI.2020.3020061>
77. Baghel N, Burget R, Dutta MK. 1D-FHRNet: Automatic Diagnosis of Fetal Acidosis from Fetal Heart Rate Signals. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2021;71(1):102794. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2021.102794>

References

1. Russian Society of Obstetricians and Gynaecologists.. Clinical guidelines: Signs of fetal intrauterine hypoxia requiring maternal medical care [Internet]. 2023 [cited 2025 May 20]. Russian. Available from: <https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-priznaki-vnutritrobnoi-gipoksii-ploda-trebuiushchie/klinicheskie-rekomendatsii/>
2. Norman M. Identifying the true scale of perinatal deaths. *Acta Paediatrica*. 2017;106(9):1376-1377. DOI: <https://doi.org/10.1111/apa.13933>
3. Hodgins S. Pre-eclampsia as Underlying Cause for Perinatal Deaths: Time for Action. *Global Health: Science and Practice*. 2015;17(3(4):525-527. DOI: <https://doi.org/10.9745/GHSP-D-15-00350>
4. Rêgo MGS, Vilela MBR, Oliveira CM, et al. Perinatal deaths preventable by intervention of the Unified Health System of Brazil. *Revista*

- Gauchade Enfermagem. 2018;39:e20170084. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-1447.2018.2017-0084>
5. Helps Ä, Leitao S, Greene R, et al. Perinatal mortality audits and reviews: Past, present and the way forward. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2020;250:24-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2020.04.054>
6. Helps Ä, Leitao S, Gutman A, et al. National perinatal mortality audits and resultant initiatives in four countries. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2021;267:111-119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.10.012>
7. Prikhodko AM, Romanov AYU, Tsyachnyy OV, et al. Modern principles of cardiotocography in childbirth. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2020;3:90-97. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-90-97>
8. Tharmaratnam S. Fetal distress. *Best Practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2000;14(1):155-172. DOI: <https://doi.org/10.1053/beog.1999.0069>
9. Gilstrap LC. A Guest Editorial: Distress over fetal distress. *Obstetrical and Gynecological Survey*. 1996;51(3):143-144. DOI: <https://doi.org/10.1097/00006254-199603000-00001>
10. Penning S, Garite TJ. Management of fetal distress. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 1999;26(2):259-274. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0889-8545\(05\)70073-5](https://doi.org/10.1016/s0889-8545(05)70073-5)
11. Baev OR, Prikhodko AM, Ziganshina MM, et al. Antenatal and intrapartum risk factors associated with fetal hypoxia in labor. *Obstetrics and Gynecology*. 2022;8:47-53. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.8.47-53>
12. Loginov VV, Davydov DG, Prikhod'ko AM, et al. Fetal adaptation to cardiotocography as a criterion of fetal condition. *Obstetrics and Gynecology*. 2021;3:138-144. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.3.138-144>
13. Paladugu V, Sreedhar S, Chitra R, et al. Association of CTG Diagnosis of Intrapartum Fetal Distress and Immediate Postpartum Acidemia in Foetal Umbilical Artery. *Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. 2023;73(1):28-35. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13224-022-01702-2>
14. Schifrin BS. CTG and the timing and mechanism of fetal neurological injuries. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2004;18(3):437-456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2004.03.001>
15. Kapila R, Saleti S. Optimizing fetal health prediction: Ensemble modeling with fusion of feature selection and extraction techniques for cardiotocography data. *Computational Biology and Chemistry*. 2023;107:107973. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2023.107973>
16. Shamarin SV, Enkova EV, Ippolitova LI, et al. Doppler fetal monitoring and noninvasive fetal ECG in modern obstetrics (review). *Research Results in Biomedicine*. 2023;9(2):234-253. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-2-0-7>
17. Shamarin SV. FIGO CTG interpretation for Russian EFM experts. *Sistemnyj analiz i upravlenie v biomeditsinskih sistemah*. 2016;15(4):723-733. Russian.
18. Shamarin SV. International CTG standards. *Sistemnyj analiz i upravlenie v biomeditsinskih sistemah*. 2010;9(2):357-365. Russian.
19. Shamarin SV. The use of electronic fetal monitoring in Russia. *System analysis and management in biomedical systems*. 2015;14(3):510-515. Russian.
20. Cagninelli G, Dall'asta A, DI Pasquo E, et al. STAN: a reappraisal of its clinical usefulness. *Minerva Obstetrics and Gynecology*. 2021;73(1):34-44. DOI: <https://doi.org/10.23736/s2724-606x.20.04690-0>
21. Eremina OV, Bayev OR, Prikhodko AM, et al. Cardiotocography used in combination with automatic ST segment analysis of the electrocardiogram of a fetus for its status monitoring during labor and delivery. *Obstetrics and Gynecology*. 2014;11:49-56. Russian.
22. Blencowe H, Hug L, Moller AB, et al. Definitions, terminology and standards for reporting of births and deaths in the perinatal period: International Classification of Diseases (ICD-11). *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2025;168(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijgo.15794>
23. Gutman A, Harty T, O'Donoghue K, et al. Perinatal mortality audits and reporting of perinatal deaths: systematic review of outcomes and barriers. *Journal of Perinatal Medicine*. 2022;50(6):684-712. DOI: <https://doi.org/10.1515/jmp-2021-0363>
24. Savelyeva GM, Sukhikh GT, Serov VN, et al. editors. *Obstetrics: National Guide*. 2nd edition, revised and supplemented. GEOTAR-Media; 2022. Russian.

25. Demidov VN, Logvinenko VA, Bychkov PA, et al. Experience in the complex evaluation of fetal condition during pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*. 1991;8:6-8. Russian.
26. Demidov VN, Ogai OYu, Sigizbayeva IN. Assessment of the informative value of automated antenatal cardiotocography. *Obstetrics and Gynecology*. 2008;6:33-39. Russian.
27. Aye CYL, Redman CWG, Georgieva A. The effect of augmentation of labour with syntocinon on the fetal CTG using objective computerised analysis: a nested case-control study. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*. 2014;176:112-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.02.032>
28. Frizina AV, Zamaleeva RS, Cherepanova NA. The use of antenatal cardiotocography for the diagnosis of fetal hypoxia (literature review). *Practical Medicine*. 2018;16(6):56-60. Russian. DOI: <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2018-16-6-56-60>
29. Redman CWG. Improving assessment of fetal health [Internet]. The clinical services journal "Huntleigh Diagnostics Ltd". 2013 [cited 2024 Dec 20];1-4. Available from: <https://www.clinicalservicesjournal.com/story/12094/improving-assessment-of-fetal-health>
30. Dawes GS, Moulden M, et al. Computerized analysis of antepartum fetal heart rate. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1995;173(4):1353-1354. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(95\)91391-2](https://doi.org/10.1016/0002-9378(95)91391-2)
31. Dawes GS, Moulden M, Redman CWG. Short-Term Fetal Heart Rate Variation, Decelerations, and Umbilical Flow Velocity Waveforms Before Labor. *Obstetrics and Gynecology*. 1992;80(4):673-678.
32. Savirón-Cornudella R, Bielsa AL, Esteban-Escano J, et al. Diagnosis of cardiotocographic sinusoidal patterns by spectral analyses. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2024;93:106174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2024.106174>
33. Steyde G, Spairani E, Magenes G, et al. Fetal heart rate spectral analysis in raw signals and PRSA-derived curve: normal and pathological fetuses discrimination. *Medical and Biological Engineering and Computing*. 2024;62(2):437-447. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11517-023-02953-5>
34. Matytsina NP, Kudlai VS. Main directions of artificial intelligence development in various spheres of activity of the Russian Federation. *Symbol of Science*. 2024;12-1-1:99-101. Russian.
35. Ivshin AA, Gusev AV, Novitskiy RE. Artificial intelligence: predictive analytics of perinatal risks. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2020;19(6):133-144. Russian. DOI: <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2020-6-133-144>
36. Chen Z. Prediction of vasculitic neuropathy using supervised machine learning approaches. *Informatics. Economics. Management*. 2024;3(1):301-310. Russian. DOI: <https://doi.org/10.47813/2782-5280-2024-3-1-0301-0310>
37. Podzorova MI, Ptitsyna IV, Bakhtiyarova HE. Neural network as one of the promising directions of artificial intelligence. *Modern European Researches*. 2022;3(1):169-176. Russian.
38. Mokshanov MV. The use of artificial intelligence in data analysis: an overview of the current state and future directions. *Universum: technical sciences*. 2024;122(5):40-48. Russian. DOI: <https://doi.org/10.32743/UniTech.2024.122.5.17513>
39. Chen C, Xie W, Cai Z, et al. Deep Learning for Cardiotocography Analysis: Challenges and Promising Advances. In: Huang DS, Premaratne P, Jin B, et al. editors. *Advanced Intelligent Computing Technology and Applications. ICIC 2023. Lecture Notes in Computer Science*, vol 14087. Springer, Singapore; 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-4742-3_29
40. Kadarina TM, Basari, Gunawan D. ML-Based Interpretation of Cardiotocography Data: Current State and Future Research. In: *The Role of Artificial Intelligence Technology in Human and Computer Interactions in the Industrial Era 5.0. Proceedings of the 7th IEEE International Conference of Computer Science and Information Technology, ICOSNIKOM 2023 Nov 10-11. Indonesia: Hybrid, Binjia; 2023*. DOI: <https://doi.org/10.1109/ICoSNiKOM60230.2023.10364517>
41. M'Barek IB, Jauvion G, Ceccaldi PF. Computerized cardiotocography analysis during labor - A state-of-the-art review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2023;102(2):130-137. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.14498>
42. Melaet R, de Vries IR, Kok RD, et al. Artificial intelligence based cardiotocogram assessment during labor. *European Journal of*

Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology. 2024;295:75-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.02.007>

43. Dlugatch R, Georgieva A, Kerasidou A. AI-driven decision support systems and epistemic reliance: a qualitative study on obstetricians' and midwives' perspectives on integrating AI-driven CTG into clinical decision making. BMC Medical Ethics. 2024;25:6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12910-023-00990-1>

44. O'Sullivan ME, Considine EC, O'Riordan M, et al. Challenges of Developing Robust AI for Intrapartum Fetal Heart Rate Monitoring. Frontiers in Artificial Intelligence. 2021;4:765210. DOI: <https://doi.org/10.3389/frai.2021.765210>

45. Spairani E, Steyde G, Tagliaferri S, et al. Fetal states identification in cardiotocographic tracings through discrete emissions multivariate hidden Markov models. Computer Methods and Programs in Biomedicine. 2023;240:107736. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2023.107736>

46. Georgieva A, Abry P, Nunes I, et al. Editorial: Fetal-maternal monitoring in the age of artificial intelligence and computer-aided decision support: A multidisciplinary perspective. Frontiers in Pediatrics. 2022;10:1007799. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.1007799>

47. Zeng R, Lu Y, Long S, et al. Cardiotocography signal abnormality classification using time-frequency features and Ensemble Cost-sensitive SVM classifier. Computers in Biology and Medicine. 2021;130:104218. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104218>

48. Hirono Y, Kai C, Yoshida A, et al. Extracting fetal heart signals from Doppler using semi-supervised convolutional neural networks. Frontiers in Physiology. 2024;15:1293328. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1293328>

49. Gude V, Corns S. Integrated Deep Learning and Supervised Machine Learning Model for Predictive Fetal Monitoring. MDPI journal. Diagnostics. 2022;12(11):2843. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112843>

50. Fei Y, Chen Q, Huang X, et al. Automatic Classification of Antepartum Cardiotocography Using Fuzzy Clustering and Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System. In: 2020 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM). Seoul, Korea (South); 2020. DOI: <https://doi.org/10.1109/BIBM49941.2020.9313143>

51. Spairani E, Daniele B, Signorini MG, et al. A deep learning mixed-data type approach for the classification of FHR signals. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2022;10:887549. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.887549>

52. Liang H, Lu Y, Liu Q, et al. Fully Automatic Classification of Cardiotocographic Signals with 1D-CNN and Bi-directional GRU. In: IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Proceedings of the 44th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (EMBC); 2022 July 11-15; Glasgow, Scotland, United Kingdom; 2022. DOI: <https://doi.org/10.1109/EMBC48229.2022.9871253>

53. Aswathi Mohan PP, Uma V. Fetal Hypoxia Detection using CTG Signals and CNN Models. International Research Journal on Advanced Science Hub. 2023;5:434-441. DOI: <http://dx.doi.org/10.47392/irjash.2023.S059>

54. Petrozziello A, Redman CWG, Papageorgiou AT, et al. Multimodal Convolutional Neural Networks to Detect Fetal Compromise During Labor and Delivery. IEEE Access. 2019;7:112026-112036. DOI: <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2933368>

55. Mendis L, Palaniswami M, Brownfoot F, et al. Computerised Cardiotocography Analysis for the Automated Detection of Fetal Compromise during Labour: A Review. Bioengineering. 2023;10(9):1007. DOI: <https://doi.org/10.3390/bioengineering10091007>

56. Alotaibi D, Aldossary H, Albrahim R, et al. Fetal Hypoxia Detection Using Machine Learning: A Narrative Review. AI. 2024;5(2):516-532. DOI: <https://doi.org/10.3390/ai5020026>

57. Francis F, Luz S, Wu H, et al. Machine learning on cardiotocography data to classify fetal outcomes: A scoping review. Computers in Biology and Medicine. 2024;172:108220. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2024.108220>

58. Harish S, Reeraja SR. Comprehensive Review of Fetal Health Monitoring using DL and ML techniques with Ultrasound and Cardiotocography data. In: International Conference on Emerging Systems and Intelligent Computing (ESIC); 2024 Feb 9-10; Bhubaneswar, India; 2024. DOI: <https://doi.org/10.1109/ESIC60604.2024.10481665>

59. Tarvonen M, Manninen M, Lamminaho P, et al. Computer Vision for Identification of Increased Fetal Heart Variability in Cardiocogram. *Neonatology*. 2024;121(4):460-467. DOI: <https://doi.org/10.1159/000538134>
60. Frasch MG. Fetal heart rate variability: An ocean of meanings beyond ups and downs. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2023;130(12):1557-1558. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.17391>
61. M'Barek IB, Jauvion G, Vitrou J, et al. DeepCTG 1.0: an interpretable model to detect fetal hypoxia from cardiocography data during labor and delivery. *Frontiers in Pediatrics*. 2023;11:1190441. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1190441>
62. Baxi S. Machine learning based clinical decision support system to predict fetal hypoxia in women during antenatal check-up. *Paripex - Indian Journal Of Research*. 2021;10(4):82-90. DOI: <https://doi.org/10.36106/paripex/0609546>
63. Chen M, Yin Z. Classification of Cardiocography Based on the Apriori Algorithm and Multi-Model Ensemble Classifier. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10:888859. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.888859>
64. Jones GD, Cooke W, Vatish M. Identifying high-risk pre-term pregnancies using the fetal heart rate and machine learning. *medRxiv*. 2024;24303280. DOI: <https://doi.org/10.1101/2024.02.26.24303280>
65. Frasch MG, Strong SB, Nilosek D, et al. Detection of Preventable Fetal Distress During Labor From Scanned Cardiocogram Tracings Using Deep Learning. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9:736834. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2021.736834>
66. Zhong M, Yi H, Lai F, et al. CTGNet: Automatic analysis of fetal heart rate from cardiocograph using artificial intelligence. *Maternal-Fetal Medicine*. 2022;4(2):103-112. DOI: <https://doi.org/10.1097/FM9.0000000000000147>
67. Ponsiglione AM, Cosentino C, Cesarelli G, et al. A Comprehensive Review of Techniques for Processing and Analyzing Fetal Heart Rate Signals. *Sensors*. 2021;21(18):6136. DOI: <https://doi.org/10.3390/s21186136>
68. Mendis L, Palaniswami M, Keenan E, et al. Rapid detection of fetal compromise using input length invariant deep learning on fetal heart rate signals. *Scientific Reports*. 2024;14(1):12615. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63108-6>
69. Sahin H, Subasi A. Classification of the cardiocogram data for anticipation of fetal risks using machine learning techniques. *Procedia Computer Science*. 2020;168:34-39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2020.02.248>
70. Bertieaux J, Shateri M, Labeau F, et al. Cardiocography Signal Abnormality Detection Based on Deep Semi-Unsupervised Learning. *Proceedings of the IEEE/ACM 10th International Conference on Big Data Computing, Applications and Technologies (BDCAT '23)*. Association for Computing Machinery; 2022 Sep 29; New York, USA; 2022. DOI: <https://doi.org/10.1145/3632366.3632391>
71. Yu Z, Hu Y, Lu Y, et al. CTGGAN: Reliable Fetal Heart Rate Signal Generation Using GANs. *Proceedings of the 2024 International Joint Conference on Neural Networks (IJCNN)*; 2024 June; Yokohama, Japan; 2024. DOI: <https://doi.org/10.1109/IJCNN60899.2024.10650729>
72. Zhang Y, Zhao Z, Deng Y, et al. FHRGAN: Generative adversarial networks for synthetic fetal heart rate signal generation in low-resource settings. *Information Sciences*. 2022;594:136-150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ins.2022.01.070>
73. Zhao Z, Zhu J, Jiao P, et al. Hybrid-FHR: a multi-modal AI approach for automated fetal acidosis diagnosis. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 2024;24(1):19. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12911-024-02423-4>
74. Cao Z, Wang G, Xu L, et al. Intelligent antepartum fetal monitoring via deep learning and fusion of cardiocographic signals and clinical data. *Health Information Science and Systems*. 2023;11(1):16. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13755-023-00219-w>
75. Black S, Jiaqi Zhao, Xinrong Miao, Yanqiao Wu. NeuroFetalNet: Advancing Remote Electronic Fetal Monitoring with a New Dataset and Comparative Analysis of FHR and UCP Impact. *EasyChair*. 2024. DOI:10.1109/ICDH62654.2024.00039
76. Fergus P, Chalmers C, Montanez CC, et al. Modelling Segmented Cardiocography Time-Series Signals Using One-Dimensional Convolutional Neural Networks for the Early Detection of Abnormal Birth Outcomes. *IEEE Transactions on Emerging Topics in Computational Intelligence*. 2021;5(6):882-892. DOI: <https://DOI.org/10.1109/TETCI.2020.3020061>

77. Baghel N, Burget R, Dutta MK. 1D-FHRNet: Automatic Diagnosis of Fetal Acidosis from Fetal Heart Rate Signals. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2021;71(1):102794. DOI: 10.1016/j.bspc.2021.102794

Статья поступила в редакцию 29 мая 2025 г.
Поступила после доработки 15 августа 2025 г.
Принята к печати 10 сентября 2025 г.

Received 29 May 2025
Revised 15 August 2025
Accepted 10 September 2025

Информация об авторах

Виолета Владиславовна Коноплёва,
прикрепленное лицо для выполнения
диссертации к кафедре акушерства и
гинекологии №2 ФГБОУ ВО «Воронежского
государственного медицинского университета
имени Н.Н. Бурденко», г. Воронеж; врач ГБУЗ
РК «Республиканская клиническая больница
им. Н.А. Семашко», г. Симферополь,
Российская Федерация; E-mail:
sokol.vita2010@yandex.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-4380-3650>.

Станислав Вячеславович Шамарин,
кандидат медицинских наук, доцент кафедры
акушерства и гинекологии №2 ФГБОУ ВО
«Воронежский государственный медицинский
университет имени Н.Н. Бурденко», г.
Воронеж, Российская Федерация, E-mail:
shamarin-med@yandex.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-9259-180X>.

Information about the authors

Violeta V. Konopleva, Research trainee
(dissertation candidate) affiliated with the
Department of Obstetrics and Gynecology No. 2,
Burdenko Voronezh State Medical University,
Voronezh; doctor, Semashko Republican Clinical
Hospital, Simferopol, Russia, E-mail:
sokol.vita2010@yandex.ru, ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-4380-3650>.

Stanislav V. Shamarin, Cand. Sci. (Medicine),
Associate Professor in the Department of
Obstetrics and Gynecology No. 2, Burdenko
Voronezh State Medical University, Voronezh,
Russia, E-mail: shamarin-med@yandex.ru,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9259-180X>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-9

УДК 616.36-003.826-07

Возрастные диагностические и дефицитарные особенности пациентов с метаболически-ассоциированной жировой болезнью печени

И.Л. Кляритская , К.Г. Бондарь 

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»,
бул. Ленина, д. 5/7, г. Симферополь, 295051, Российская Федерация
Автор для переписки: И.Л. Кляритская (klira3@yandex.ru)

Резюме

Актуальность: В связи с увеличением доли пожилого населения и нерациональных стереотипов питания повышается распространённость метаболически-ассоциированной жировой болезни печени (МАЗБП), развитие которой может способствовать ухудшению гериатрического статуса таких пациентов. Однако возрастные диагностические и дефицитарные особенности МАЗБП в настоящее время недостаточно изучены и противоречивы. **Цель исследования:** Анализ возрастных диагностических и дефицитарных особенностей пациентов с МАЗБП. **Материалы и методы:** В исследование включено 25 пациентов с МАЗБП в возрасте 45-59 лет, 40 пациентов с МАЗБП в возрасте 60-74 лет и 20 человек с таким же заболеванием в возрасте 75 лет и старше. При обследовании всех пациентов выполнялись ультразвуковое исследование, эзофагогастродуоденоскопия, эластометрия печени и селезёнки, биохимический анализ крови. Оценка дефицитарного статуса выполнена по специальной программе для ЭВМ. **Результаты:** Показаны наибольшие различия между пациентами зрелого и пожилого возраста с наибольшим и статистически значимым превышением всех параметров у пациентов 60-74 лет с МАЗБП относительно лиц 45-59 лет, за исключением уровня тромбоцитов в крови, содержание которых было ниже у пациентов 60-74 лет ($182,6 \pm 8,1 \times 10^9/\text{л}$), чем в зрелом возрасте – $205,4 \pm 7,3 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,01$). Среди пациентов пожилого возраста в 3,6 раза выше степень варикозного расширения вен пищевода, достигающая $1,8 \pm 0,1$ против $0,5 \pm 0,2$ ($p < 0,01$), а также существенно выше показатель жёсткости печени – $18,2 \pm 2,1$ кПа против $9,4 \pm 1,5$ кПа ($p < 0,01$). Дефицитарный статус пациентов с МАЗБП пожилого возраста характеризуется субклинически выраженной депрессией ($9,2 \pm 0,2$ баллов), а лиц старческого возраста – клинически выраженной депрессией ($12,4 \pm 0,4$ баллов) ($p < 0,05$), умеренными когнитивными нарушениями ($26,4 \pm 0,4$ баллов) и лёгкой деменцией ($22,6 \pm 0,3$ баллов, $p < 0,05$), синдромом старческой преаестии в $12,5 \pm 2,1\%$ и $35,0 \pm 2,9\%$ ($p < 0,001$), саркопенией в $22,5 \pm 1,8\%$ и $30,0 \pm 2,4\%$ соответственно ($p < 0,05$). **Заключение:** Возрастными диагностическими особенностями МАЗБП являются повышенные показатели степени варикозного расширения вен пищевода, содержания в крови аспартатаминотрансферазы, жёсткости печени и сниженные уровни тромбоцитов в крови. Пациенты старческого возраста с МАЗБП относительно группы пожилого возраста с МАЗБП имеют более высокий уровень депрессии, когнитивных нарушений

и распространённости синдрома старческой преастении. Данные параметры следует использовать в качестве ведущих диагностических критериев МАЖБП у пациентов пожилого и старческого возраста.

Ключевые слова: возрастные особенности; дефицитарный профиль; метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени; комплексная гериатрическая оценка; диагностические параметры; гериатрическая помощь

Для цитирования: Кляритская ИЛ, Бондарь КГ. Возрастные диагностические и дефицитарные особенности пациентов с метаболически-ассоциированной жировой болезнью печени. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(1):139-153. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-9

Age-related diagnostic and deficiency features patients with metabolic-associated fatty liver disease

Irina L. Klyaritskaya , Kristina G. Bondar 

Vernadsky Crimean Federal University,
5/7 Lenin Blvd., Simferopol, 295051, Russia

Corresponding author: Irina L. Klyaritskaya (klira3@yandex.ru)

Abstract

Background: Due to the growing elderly population and persistent nutritional misconceptions, the prevalence of metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) is rising. This condition can further worsen the geriatric health status of affected individuals. However, age-related diagnostic and deficiency features of MAFLD are currently insufficiently studied and contradictory. **The aim of the study:** An analysis of age-related diagnostic and deficiency features of patients with MAFLD. **Materials and methods:** The clinical study included 25 patients with MAFLD aged 45-59 years, 40 patients with MAFLD aged 60-74 years, and 20 people with the same disease aged 75 years and older. All patient age groups underwent a standardized evaluation protocol, including ultrasound examination, esophagogastroduodenoscopy (EGD), liver and spleen elastometry, measurement of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and platelet levels, assessment of esophageal varices severity, and calculation of body mass index (BMI). The assessment of the deficiency status was performed using a special computer program with the identification of anxiety syndromes, depression, sarcopenia, senile preasthenia and cognitive impairment. The Statistica 10.0 program and the Correlation Analysis module were used for statistical processing. **Results:** The greatest differences in the studied diagnostic parameters were shown between mature and elderly patients, with the greatest and statistically significant excess of all parameters in patients aged 60-74 years with MAFLD relative to individuals aged 45-59 years, with the exception of the level of platelets in the blood, the content of which was lower in patients aged 60-74 years ($182.6 \pm 8.1 \times 10^9/l$) than in mature age – $205.4 \pm 7.3 \times 10^9/l$ ($p < 0.01$). Among elderly patients, the degree of esophageal varices is 3.6 times higher, reaching 1.8 ± 0.1 versus 0.5 ± 0.2 ($p < 0.01$), and the liver stiffness index is also significantly higher – 18.2 ± 2.1 kPa versus 9.4 ± 1.5 kPa ($p < 0.01$), the aspartate aminotransferase content in the blood is 89.3 ± 4.0 U/l versus 56.9 ± 2.7 U/l ($p < 0.01$), respectively. Less significant differences between these age groups were found in the spleen stiffness index and body mass index. Between elderly and senile patients with MAFLD, the differences were less pronounced

than between the previous groups, but, as between patients 45-59 years old and 60-74 years old, the greatest differences were in the level of aspartate aminotransferase and esophageal varices. The deficiency status of elderly patients with MAFLD is characterized by subclinical depression (9.2 ± 0.2 points), and in elderly individuals by clinically expressed depression (12.4 ± 0.4 points) ($p < 0.05$), moderate cognitive impairment (26.4 ± 0.4 points) and mild dementia (22.6 ± 0.3 points, $p < 0.05$), senile preasthenia syndrome in $12.5 \pm 2.1\%$ and $35.0 \pm 2.9\%$ ($p < 0.001$), sarcopenia in $22.5 \pm 1.8\%$ and $30.0 \pm 2.4\%$, respectively ($p < 0.05$). **Conclusion:** The age-related features of CKD include increased levels of esophageal varicose veins, blood levels of aspartate aminotransferase, liver stiffness, and decreased levels of platelets in the blood. Senile patients with CKD have higher levels of depression, cognitive impairment, and the prevalence of senile preasthenia gravis compared to the elderly group with CKD. These parameters should be used as the leading diagnostic criteria for CKD in elderly and senile patients.

Keywords: age-related features; deficiency profile; metabolic-associated fatty liver disease; comprehensive geriatric assessment; diagnostic parameters; geriatric care

For citation: Klyaritskaya IL, Bondar KG. Age-related diagnostic and deficiency features patients with metabolic-associated fatty liver disease. Research Results in Biomedicine. 2026;12(1):139-153. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-0-9

Введение. Метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЗБП), или неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – является хроническим заболеванием, при котором происходит накопление липидов более чем в 5 % гепатоцитов (стеатоз) в отсутствие других этиологических факторов стеатоза (злоупотребление алкоголем, прием некоторых лекарственных средств, голодание, моногенные заболевания и другие) [1]. МАЗБП охватывает патологический спектр от простого стеатоза до стеатогепатита и цирроза печени [2].

МАЗБП в настоящее время является самым распространённым заболеванием печени в мире, поражающим примерно 30% населения планеты и особенно в старческом возрасте [3]. МАЗБП может прогрессировать с течением времени и возраста, вызывая воспаление в ткани печени (метаболически ассоциированный стеатогепатит), фиброз печени и, в конечном счете, цирроз печени [4]. Раннее выявление и лечение МАЗБП может помочь предотвратить прогрессирование в более тяжелый фиброз печени и улучшить общее состояние печени. Фиброз печени является наиболее важным прогностическим фактором для связанных

с печенью событий при МАЗБП [5]. Прогрессирующий фиброз, также называемый компенсированным прогрессирующим хроническим заболеванием печени в соответствии с последним консенсусом Baveno VII является независимым фактором риска развития как заболеваний, связанных с печенью, так и заболеваний и смертей, не связанных с печенью [6].

Наиболее важным фактором, определяющим общий прогноз и исходы, связанные с печенью, является стадия фиброза [7]. У пациентов с прогрессирующим фиброзом в пожилом и старческом возрасте смертность от всех причин в 1,9-3,9 раза выше, чем в других возрастных группах [8]. Таким образом, выявление этой подгруппы пациентов является ключом к оптимизации их клинического ведения, включая наблюдение за развитием гепатоцеллюлярной карциномы, персонализированное снижение веса, профилактику сердечно-сосудистых заболеваний и рассмотрение возможности специфического лечения в рамках клинических испытаний [9, 10]. Однако возрастные особенности протекания МАЗБП изучены недостаточно, равно как и дефицитный статус таких пациентов.

Цель исследования. Анализ возрастных диагностических и дефицитарных особенностей пациентов с МАЖБП.

Материалы и методы исследования. В исследование вошли 85 взрослых пациентов с МАЖБП, проходивших обследование и лечение на базе ГБУЗ РК «СГКБ №7» с декабря 2024 г. по апрель 2025 г. По возрастному составу пациенты распределились следующим образом: 45-59 лет – 25 человек, 60-74 лет – 40 человек, 75 и более – 20 человек.

Все пациенты соответствовали критериям включения в исследование по новой номенклатуре МАЖБП, в том числе наличию стеатоза печени, выявленного с помощью ультразвукового исследования, и по крайней мере одному

кардиометаболическому критерию для взрослых (использование шкалы SCORE2) (Табл.1). Все пациенты прошли комплексное обследование для выявления других причин стеатогепатита, в том числе опрос об употреблении алкоголя (тест AUDIT) и поиск лекарственно-индуцированного стеатоза печени, вирусного гепатита, аутоиммунного гепатита, гемохроматоза, болезни Вильсона, гликогеноза, а также холестатических и сосудистых заболеваний печени. Пациенты с признаками других заболеваний печени или с чрезмерным употреблением алкоголя (≥ 14 порций в неделю для мужчин и ≥ 7 порций в неделю для женщин) были исключены из исследования.

Таблица 1

Критерии включения и исключения пациентов из исследования

Table 1

Inclusion and exclusion criteria for study participants

Критерии включения в исследование	<ol style="list-style-type: none"> 1. Информированное согласие пациентов. 2. МАЖБП, на основе диагностических метаболических критериев (УЗИ сосудов шеи, ИМТ, дислипидемия, инсулинорезистентность, сахарный диабет 2-го типа, высокий и очень высокий сердечно-сосудистый риск, избыточная масса тела, ожирение I и II степеней). 3. Возраст 45-74 лет, 75 лет и старше.
Критерии невключения в исследование	Ожирение III степени, некомпенсированный цирроз печени класс C по Ч-П), болезнь Вильсона-Коновалова, гемохроматоз, аутоиммунный гепатит, первичный склерозирующий холангит, первичный билиарных холангит, хронические вирусные гепатиты (в отсутствии ПВТ и УВО), дефицит альфа-1-антитрипсина, муковисцидоз, гликогенозы, сосудистые заболевания печени (синдром Бадда-Киари и др.), лекарственное поражение печени, пациенты, декомпенсированные по коморбидным состояниям (СН2Б-3, ОНМК, ОИМ), возраст до 45 лет

Всем пациентам были проведены биохимические исследования крови, оценка уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), тромбоцитов. Из инструментальных исследований выполнены: ультразвуковое исследование (УЗИ), эзофагогастродуоденоскопия, эластометрия печени и селезенки.

Биологические показатели были представлены в виде медианы (интерквартильный размах [IQR], 0-151) нулевого количества дней после эластометрии печени и селезенки. Исследование проводилось в строгом в

соответствии с международными этическими руководящими принципами для биомедицинских исследований с участием человека (CIOMS), Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964г. с последующими редакциями), Приказом Министерства здравоохранения РФ №266 (19.06.2003), «Правилами проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации».

Исследование было одобрено Комиссией по этике исследований ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Ордена

Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского.

Неинвазивная оценка фиброза печени проводилась с помощью эластометрии печени. Пороговые значения эластометрии печени 8 кПа и 9,6-20 кПа использовались соответственно для исключения и подтверждения фиброза печени [11, 12].

Измерение жесткости селезенки, жесткости печени использовалось также для неинвазивной оценки наличия клинически значимой портальной гипертензии и тяжести портальной гипертензии, а также риска осложнений, связанных с портальной гипертензией, у пациентов с хроническим прогрессирующим заболеванием печени. Содержание тромбоцитов в крови определялось методом SLS (натрий лаурил сульфат-метод) на анализаторе «KoneLab».

Во всех выделенных возрастных группах по единым методам определялись указанные показатели, а также выполнена оценка дефицитарного статуса. Уровень депрессии и тревоги изучен по шкале HADS-D и HADS-A соответственно, когнитивные нарушения по шкале Mini-Mental State Examination (MMSE), синдром старческой преастиции по «Программе для ЭВМ по оптимизации ухода в гериатрии в зависимости от степени старческой астении на основе представления результатов специализированного гериатрического осмотра» [13]. Саркопению выявляли по критериям сниженной мышечной силы – для мужчин менее 23 кг и для женщин менее 18 кг, сниженной мышечной массы – окружности голени – менее 31 см [14].

При статистической обработке по программе «Statistica 10.0» рассчитывались средние, медианальные, межквартильный размах, стандартное отклонение, ошибка средних величин, применялся корреляционный анализ.

Результаты и их обсуждение. Исследование с участием 85 пациентов с МАЖБП, которым была проведена эластометрия селезенки и ЭГДС, показало корреляцию между степенью варикозного

расширения вен (ВРВ) пищевода и увеличение показателя эластометрии селезенки ≥ 41 -46 кПа. Также были получены результаты биохимических показателей крови (АЛТ, АСТ), среднее значение показателя АЛТ составило 69,1 (IQR, 31-123), среднее значение показателя АСТ составило 57,8 (IQR 2-108). При этом у 20% пациентов показатели АЛТ и АСТ соответствовали референсным значениям. При измерении жесткости печени отсутствие фиброза было зарегистрировано у 3% пациентов, а наличие цирроза печени у 46,6% из выборки. Среднее значение жесткости печени составило 12,6 кПа (IQR, 5,2-21,6) в изученной выборке. Среди исследуемых пациентов у 53,3% показатель жесткости селезенки составил ≥ 41 кПа. Средний индекс массы тела (ИМТ) составил 30,6 кг/м² (IQR, 27,2-34,2). У 60% пациентов наблюдалось ожирение 1 и 2-й степеней, определяемое по ИМТ ≥ 30 . У 50% пациентов отмечалось ВРВ пищевода 1 и 2 степени. У 53,3% пациентов уровень тромбоцитов был меньше 150×10^9 /л, при этом среднее значение тромбоцитов в выборке было $143,3 \times 10^9$ /л, (IQR 88-203).

При оценке возрастных особенностей ведущих параметров, в том числе неинвазивных, у пациентов с МАЖБП установлены статистически значимые различия между выделенными возрастными группами по большинству показателей (Табл. 2). Особенно существенно пациенты зрелого и пожилого возраста с МАЖБП отличались по степени ВРВ пищевода, жесткости печени (LSM) и содержанию АСТ в крови. Так, степень ВРВ пищевода среди пациентов пожилого возраста была в 3,6 раза выраженнее (выше), чем у пациентов зрелого возраста, показатель жесткости печени – выше в 1,9 раза, содержание АСТ – выше в 1,6 раза ($p < 0,01$) соответственно. В меньшей степени пациенты этих возрастных групп различались по содержанию в крови тромбоцитов, АЛТ и показателю жесткости селезенки (SSM), но с достоверным различием во всех случаях.

Таблица 2
Возрастные особенности диагностических параметров пациентов с МАЖБП (M±SD)
Table 2
Age-related features of the diagnostics parameters of patients with CKD (M±SD)

Исследуемый показатель	Пациенты 45-59 лет (1)	Пациенты 60-74 лет (2)	Пациенты 75 лет и выше (3)
АЛТ, Ед/л	68,6±2,9*	105,9±3,3**	127,4±3,6 [#]
АСТ, Ед/л	56,9±2,7*	89,3±4,0**	115,1±3,6 [#]
Жёсткость печени, кПа	9,4±1,5*	18,2±2,1**	24,5±2,3 [#]
Жесткость селезёнки, кПа	30,8±2,4*	42,4±2,8**	46,7±3,1
ИМТ, кг/м ²	27,5±1,4*	32,1±1,9**	34,6±2,7
Степень ВРВ пищевода, абс.ч.	0,5±0,2*	1,8±0,1**	2,3±0,4 [#]
Тромбоциты, x10 ⁹ /л	205,4±7,3*	182,6±8,1**	108,9±5,7 [#]

Примечание: * $p_{1-2}<0,01$, ** $p_{2-3}<0,01$, # $p_{1-3}<0,01$.

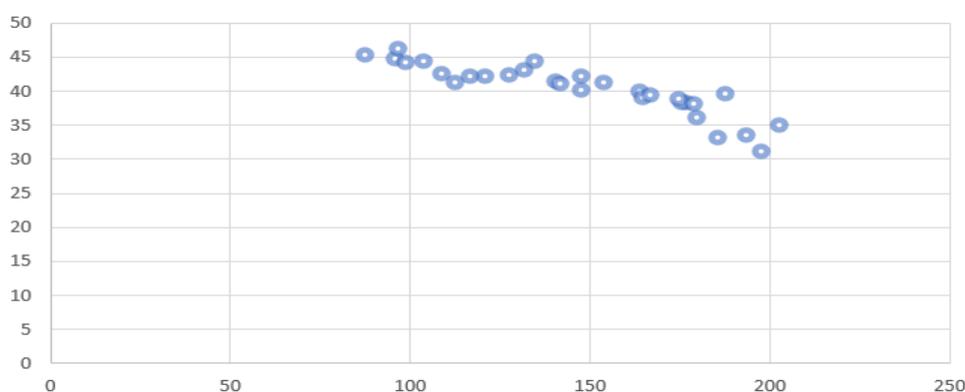
Note: * $p_{1-2}<0.01$, ** $p_{2-3}<0.01$, # $p_{1-3}<0.01$.

Пациенты 75 лет и старше относительно представителей пожилого возраста имели менее существенные различия, чем ранее рассмотренные возрастные группы. При этом, как и в ранее рассмотренных группах, между пациентами пожилого и старческого возраста выявлены наибольшие различия по показателю жёсткости печени (в 1,3 раза, $p<0,01$), степени ВРВ пищевода (в 1,3 раза, $p<0,01$). Это позволяет считать показатель жёсткости печени, степень ВРВ пищевода и содержание АСТ в крови ведущими маркерами МАЖБП у пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста.

Однако максимально данные две возрастные группы отличались содержанием в крови тромбоцитов,

которые оказались сниженными в 1,7 раза у лиц старческого возраста ($p<0,01$).

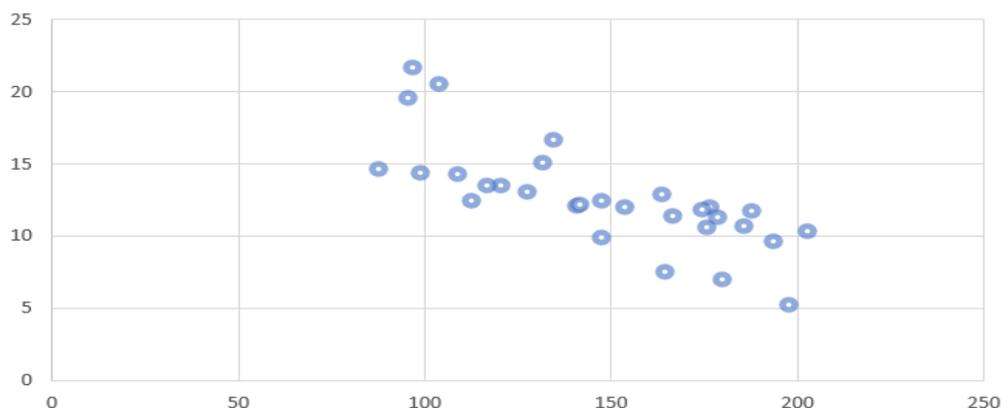
При анализе корреляционных связей между исследованными параметрами в различных возрастных группах установлены обратные связи параметров LSM и SSM с содержанием в крови тромбоцитов, а именно в зрелом возрасте $r = -0,36$ ($p<0,05$) и $r = -0,42$ ($p<0,05$), в пожилом возрасте – $r = -0,68$ ($p<0,01$) и $r = -0,64$ ($p<0,01$), в старческом возрасте – $r = -0,76$ ($p<0,001$) и $r = -0,89$ ($p<0,001$). Корреляция между LSM и содержанием тромбоцитов в крови, SSM и уровнем тромбоцитов в крови пациентов старческого возраста представлена на рисунке 1 и рисунке 2.



Примечание: по оси абсцисс представлен уровень тромбоцитов (x10⁹/л), по оси ординат – уровень жесткости селезенки (кПа).

Note: platelet count (x10⁹/l) is shown along the abscissa axis, and the spleen stiffness level (kPa) is shown along the ordinate axis.

Рис. 1. Корреляционные связи между жесткостью селезенки и уровнем тромбоцитов
Fig. 1. Correlations between spleen stiffness and platelet count



Примечание: по оси абсцисс представлен уровень тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$), по оси ординат – уровень жесткости печени (кПа).

Note: platelet count ($\times 10^9/\text{l}$) is shown along the abscissa axis, and the liver stiffness level (kPa) is shown along the ordinate axis.

Рис. 2. Корреляционные связи между жесткостью печени и уровнем тромбоцитов
Fig. 2. Correlations between liver stiffness and platelet count

Принимая во внимание наиболее выраженные изменения исследованных параметров среди пациентов пожилого и старческого возраста с МАЖБП выполнен анализ их дефицитарного статуса (Табл. 3). Полученные результаты свидетельствуют о наличии у пациентов пожилого возраста с МАЖБП субклинически выраженной депрессии, а у представителей старческого возраста с МАЖБП – клинически

выраженной депрессии. Вместе с тем, несмотря на достоверные различия уровня тревоги в обсуждаемых группах, он соответствовал субклинически выраженной тревоге. По когнитивному статусу пациенты пожилого и старческого возраста достоверно отличались – у первых были умеренные когнитивные нарушения, а у вторых – лёгкая деменция.

Таблица 3

Дефицитарный статус пациентов с МАЖБП в зависимости от возраста ($\pm\text{SD}$)

Table 3

Deficiency status of patients with CKD depending on age ($\pm\text{SD}$)

Дефицитарный синдром	Пациенты пожилого возраста	Пациенты старческого возраста	P
Депрессия, баллы	9,2 \pm 0,2	12,4 \pm 0,4	<0,05
Тревога, баллы	8,5 \pm 0,3	9,7 \pm 0,2	<0,05
Когнитивные нарушения, баллы	26,4 \pm 0,4	22,6 \pm 0,3	<0,05
Синдром старческой преастиции, %	12,5 \pm 2,1	35,0 \pm 2,9	<0,001
Саркопения, %	22,5 \pm 1,8	30,0 \pm 2,4	<0,05

Синдром старческой преастиции и саркопении встречались статистически значимо чаще в когорте пациентов старческого возраста.

В настоящее время гистологическая оценка с помощью биопсии печени остается золотым стандартом для диагностики стеатогепатита, которая

характеризуется сочетанием стеатоза, лобулярного или портального воспаления и гепатоцеллюлярного баллонирования, а также используется для определения стадии фиброза печени [15]. Однако биопсия печени имеет свои ограничения, в том числе инвазивность, риск осложнений, вариативность образцов и потенциальное

нежелание пациентов из-за инвазивного характера процедуры. Кроме того, для точной постановки диагноза рекомендуется проводить биопсию длиной не менее 25 мм, что не всегда возможно [16].

Растущая распространенность МАЖБП и ранее упомянутые ограничения биопсии печени привели к разработке неинвазивных тестов (НИТ) для точной постановки диагноза и определения степени риска развития осложнений. НИТ используются для диагностики стеатоза, стеатогепатита и для постановки диагноза «фиброз печени» [17]. Неинвазивные тесты, которые изначально были разработаны для постановки диагноза «фиброз», всё чаще используются для определения прогноза, связанного с хроническим заболеванием печени. НИТ-тесты можно разделить на три основные категории: анализы сыворотки крови, методы визуализации и комбинированные оценки [18].

В отличие от настоящего исследования Brodosì L. et al [19] не удалось выявить значимые состояния тревоги и депрессии, связанные именно с наличием МАЖБП в популяции, прошедшей скрининг на наличие гепатоцеллюлярного жира, как это рекомендовано рекомендациями, у пациентов с признаками метаболического синдрома. По сравнению с пациентами без биохимических и визуальных признаков МАЖБП, их результаты в валидированных опросниках депрессии и тревожности не хуже после коррекции с учетом скорректированных факторов. Наиболее важными факторами, повышающими риск развития тревоги и депрессии, остаются пожилой возраст и женский пол.

Связь между МАЖБП и депрессией в обществе является предметом дискуссий. В систематическом обзоре и метаанализе, включающих более 16 000 пожилых людей (≥ 60 лет) в 19 исследованиях, наличие избыточного веса и ожирения было связано с более повышенными шансами депрессии [20]. Это, вероятно, не относится к более молодым субъектам. Авторы пришли к

выводу, что увеличение ожирения от детства к взрослому возрасту, учитывая большой набор веса с 20 лет, было связано с повышенным риском депрессии, особенно у женщин. Это подтвердилось в условиях, где более высокие баллы депрессии, наблюдаемые у лиц в возрасте старше 60 лет по сравнению с более молодыми пациентами, были в основном обусловлены разницей, наблюдаемой у женщин.

Отрицательную связь МАЖБП с депрессией и личностной тревожностью по сравнению с группой без МАЖБП следует интерпретировать с осторожностью. Как видно, это в значительной степени обусловлено более пожилым возрастом и большей долей мужчин в группе МАЖБП (два фактора, связанных со снижением риска депрессии), и эта разница теряет свою значимость после коррекции с учетом корректируемых факторов, включая различия в образовании, в значительной степени отражающиеся на различных видах деятельности. Действительно, в других исследованиях была отмечена положительная связь между депрессией и тревожностью с НАЖБП. В ретроспективном поперечном исследовании с участием 25 333 человек НАЖБП была значительно связана с депрессией (скорректированный ОШ, 1,43; 95% ДИ, 1,14-1,80; $P=0,002$), в то время как тяжелая НАЖБП была связана с состоянием и личностной тревожностью (скорректированный ОШ, 1,84; 95% ДИ, 1,01-3,37; $P=0,047$ и скорректированный ОШ 2,45; 95% ДИ, 1,08-4,85; $P=0,018$ соответственно) у женщин [19, 20]. Аналогичным образом, в поперечном исследовании, проведенном на 3327 лицах из Национального обследования здоровья и питания, распространенность депрессии, оцененная с помощью опросника здоровья пациента (PHQ-9), была выше среди лиц с МАЖБП или значительным фиброзом, чем среди тех, у кого его не было [21]. НАЖБП была обратно связана с тревожностью и положительно связана с депрессией. Наконец, в 10-летнем лонгитюдном

исследовании, сравнивавшем 19871 пациента с НАЖБП с 19871 соответствующим контрольным субъектом, отношение рисков для возникновения депрессии составило 1,21 ($P < 0,001$), а для возникновения тревожности – 1,23 ($P < 0,001$) [21].

Примечательно, что в когорте пациентов, не относящихся к МАЖБП, при анкетировании была выявлена неожиданно высокая распространённость тревожно-депрессивных расстройств, несмотря на более низкий уровень ожирения. Представляют ли эти пациенты с менее тяжёлым течением заболевания когорту, репрезентативную для населения в целом, или когорту, специально обращающуюся за медицинской помощью по поводу психосоматического расстройства, пока неясно.

Показатели ситуативной и личностной тревожности частично различались в случаях МАЖБП и без МАЖБП, что позволяет оценить психологическую реактивность, непосредственно связанную с конкретной ситуацией и в конкретный момент времени. В обеих когортах были выявлены различия в зависимости от пола и возраста, но показатели личностной тревожности были выше у пациентов с МАЖБП.

В этом сложном сценарии, опосредованном биопсихосоциальными факторами, следует рассмотреть три дополнительных компонента. Во-первых, лечение депрессии само по себе, вероятно, увеличивает массу тела [18], тем самым способствуя накоплению жира в печени. Вопрос употребления психотропных препаратов систематически не оценивался в анализе; лица, направленные в медицинское учреждение, жили свободно, и ограниченные данные, собранные во время исследования, не поддерживают эту возможность. Тем не менее, это остается ограничением исследования, которое должно быть изучено более подробно. Во-вторых, не обнаружено связи между изменением веса и тревожными или депрессивными категориями. Значительная

потеря веса и снижение аппетита включены в качестве диагностических критериев большой депрессии.

Тем не менее существует корреляция связь между полным спектром состояний МАЖБП и когнитивными нарушениями [22], хотя простой стеатоз печени не всегда связывают с когнитивной дисфункцией, фиброз, по-видимому, увеличивает вероятность когнитивных нарушений. Точные механизмы до конца не изучены, но предполагается, что накопление внутripеченочного жира приводит к секреции провоспалительных цитокинов, активации микроглии и повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера. Это может привести к передаче иммунных клеток и нейротоксических факторов в мозг, увеличению образования бета-амилоида и снижению его клиренса, что в конечном итоге приводит к повреждению нейронов или смерти. Кроме того, МАЖБП и СД 2-го типа имеют общую инсулинорезистентность как ключевую патофизиологическую особенность, которая снижает экспрессию рецепторов инсулина в мозге, нарушая такие критические функции, как нейрональная пластичность и энергетический метаболизм. Липотоксичность может ещё больше усугубить когнитивную дисфункцию за счёт высвобождения свободных жирных кислот и последующего запуска воспалительных процессов. Кроме того, дисбактериоз связан с повышенной проницаемостью кишечника и проникновением продуктов жизнедеятельности бактерий в кровоток, что ещё больше способствует снижению когнитивных функций.

МАЖБП включает в себя прогрессирующий спектр заболеваний от простого стеатоза через неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), с фиброзом или без него, до цирроза. В некоторых исследованиях простой стеатоз печени не был связан с когнитивной дисфункцией, поэтому для увеличения вероятности когнитивных нарушений необходимо

наличие фиброза. Несколько исследований связывают МАЖБП с когнитивными нарушениями даже без наличия цирроза печени фиброз печени был бы фактором риска развития когнитивных нарушений. Механизмы, связывающие МАЖБП с когнитивными нарушениями, до конца не изучены. Предполагается, что по мере прогрессирования накопления внутрипеченочного жира поврежденные гепатоциты секретируют избыток провоспалительных цитокинов. Это может активировать микроглию и увеличить проницаемость гематоэнцефалического барьера, что приводит к передаче иммунных клеток и нейротоксических факторов в мозг [23]. Нейровоспаление увеличивает образование бета-амилоидных бляшек, а дисфункция печени снижает клиренс бета-амилоида, что приводит к увеличению общей концентрации бета-амилоида. Эти механизмы могут вызывать повреждение или гибель нейронных клеток. Предполагается, что МАЖБП причинно уменьшает глобальную площадь поверхности и изменения в корковых структурах нескольких извилин мозга. Нейровоспаление не является единственным механизмом, связывающим МАЖБП и когнитивные нарушения. Инсулинорезистентность снижает экспрессию инсулиновых рецепторов в мозге, что, в свою очередь, ухудшает нейрональную пластичность, нейропротекцию, рост нейронов и энергетический метаболизм – ключевые функции, которые инсулин обычно поддерживает в здоровых физиологических условиях. Более того, липотоксичность, характеризующаяся вредным накоплением липидов в нежировых тканях, особенно в печени, возникает из-за высвобождения свободных жирных кислот из инсулинорезистентных адипоцитов. Этот процесс запускает воспалительные процессы, клеточную дисфункцию и апоптоз. В мозге нарушение регуляции, вызванное липотоксичностью, влияет на орексин, нейропептид, необходимый для когнитивных функций,

исполнительных функций и обучения. Дополнительным патофизиологическим фактором развития когнитивных нарушений, связанных с МАЖБП, является изменение кишечной микробиоты, известное как дисбактериоз. Дисбактериоз связан с повышенной проницаемостью кишечника для молекулярных структур, ассоциированных с патогенами, таких как липополисахариды и другие бактериальные продукты.

Важно указать на установленную нами повышенную распространенность саркопении у пациентов с МАЖБП. Связь между МАЖБП и саркопенией можно анализировать с разных точек зрения, одна из которых была рассмотрена в недавнем исследовании [24], использовавшие данные Третьего национального обследования здоровья и питания (NHANES III) и показало, что у пациентов с обоими заболеваниями риск смертности выше, чем при их отсутствии. Другой возможный анализ – это изучение эффектов влияния одной патологии на другую. Пациенты с МАЖБП имеют большую потерю мышечной массы, что увеличивает риск развития саркопении. В патофизиологии МАЖБП можно наблюдать, как показано выше, важное воспалительное состояние и инсулинорезистентность, которые в этой связи принимают главную роль из-за их способности усиливать протеолиз, действуя непосредственно на потерю мышечной массы. Аналогичным образом, люди с саркопенией связаны с в три раза более высоким риском развития МАЖБП, и это делает фиброз гепатита еще более тяжелым у пациентов, которые уже имеют это заболевание. В этом случае эти события объясняются эффектами повышения инсулинорезистентности из-за снижения мышечной массы; после того, как такая ткань становится основным фокусом потребления глюкозы, которое стимулируется инсулином, что вскоре способствует созданию благоприятной среды для развития МАЖБП, энергетических и воспалительных расстройств.

Наконец, взаимосвязь между МАЖБП и саркопенией также представляет собой аспект, который может быть использован для клинического улучшения, поскольку мышечная реабилитация и диетотерапия при саркопении могут увеличить выживаемость пациентов с МАЖБП и снизить другие осложнения и сопутствующие заболевания [25]. Важно изучать эту взаимосвязь, поскольку она может повлиять на разработку новых специфических методов лечения обоих заболеваний, хотя этот сценарий до сих пор представляется недостаточно изученным.

Многоцентровое клиническое исследование, проведенное в семи больницах Китая, продемонстрировало, что интенсивное вмешательство в образ жизни, которое включает в себя диеты с высоким содержанием белка и низким содержанием углеводов, а также физические упражнения, способно способствовать улучшениям в рамках МАЖБП, уже укоренившихся у людей, и эти результаты более эффективны, чем те, которые получены с помощью сбалансированных диет с ограничением калорийности. Пациенты, включенные в исследование, были классифицированы как имеющие избыточный вес или ожирение с помощью ИМТ и испытали снижение параметров ожирения, улучшение липидного обмена и повышение чувствительности к инсулину, включая снижение гликозилированного гемоглобина A1c, инсулина натощак и глюкозы в крови натощак [20].

Когортное исследование с участием пациентов с подтвержденным биопсией МАЖБП и оценкой массы скелетных мышц для характеристики саркопении обнаружило более высокую распространенность саркопении у лиц с МАЖБП; саркопения также была связана с индукцией высокой степени фиброза печени, и этот результат сохранялся независимо от воспалительного состояния пациента, чувствительности к инсулину и ожирения [23]. Кроме того, другое

поперечное исследование из Кореи также показало, что такие изменения, вызванные саркопенией в случаях МАЖБП и фиброза печени, происходят независимо от наличия или отсутствия метаболического синдрома или ожирения, что подтверждает описанную корреляцию.

Поперечное исследование, проведенное в США с участием пожилых пациентов, показало, что существует важная разница между ростом и весом при корректировке индекса скелетных мышц пациентов, поскольку при корректировке по росту тяжелый гепатостеатоз связан с более низким риском саркопении, в то время как корректировка веса подразумевает повышенный риск в том же отношении, что указывает на необходимость дальнейшего изучения показателей, которые будут использоваться для диагностики этих заболеваний у пожилых пациентов [17, 18].

Заключение. Возрастными особенностями МАЖБП являются повышенные показатели степени ВРВ пищевода, содержания в крови аспартаминотрансферазы, жёсткости печени и сниженные уровни тромбоцитов в крови. Данные параметры следует использовать в качестве ведущих диагностических критериев МАЖБП у пациентов пожилого и старческого возраста. Между содержанием тромбоцитов в крови и параметрами жёсткости печени и жёсткости селезёнки выявлены обратные достоверные корреляции, причём у пациентов старческого возраста более выраженные и соответствующие обратной сильной корреляционной связи в обоих случаях. Пациенты старческого возраста с МАЖБП относительно группы пожилого возраста с МАЖБП имеют более высокий уровень депрессии ($p < 0,05$), когнитивных нарушений ($p < 0,05$) и распространённости синдрома старческой преастиции, саркопении, что указывает на необходимость коррекции их гериатрического статуса.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, et al. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2023;77(5):1797-1835. DOI: <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000323>
2. Riazi K, Azhari H, Charette J, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and metaanalysis. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2022;7(9):851-861. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(22\)00165-0](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(22)00165-0)
3. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, et al. A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology*. 2023;78(6):1966-1986. DOI: <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000520>
4. De Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, et al. Baveno VII—renewing consensus in portal hypertension. *Journal of Hepatology*. 2022;76(4):959-974. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2021.12.022>
5. Wong VWS, Ekstedt M, Wong GL, et al. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *Journal of Hepatology*. 2023;79(3):842-852. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.04.036>
6. Francque SM, Marchesini G, Kautz A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. *JHEP Reports*. 2021;3(5):100322. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100322>
7. Selvaraj EA, Mozez FE, Jayaswal AN, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology*. 2021;75(4):770-785. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.04.044>
8. Vali Y, Lee J, Boursier J, et al. Biomarkers for staging fibrosis and non-alcoholic steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver disease (the LITMUS project): a comparative diagnostic accuracy study. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2023;8(8):714-725. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(23\)00017-1](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(23)00017-1)
9. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, et al. Prospective study of outcomes in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(17):1559-1569. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2029349>
10. Kanwal F, Shubrook JH, Adams LA, et al. Clinical care pathway for the risk stratification and Management of Patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2021;161(5):1657-1669. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.07.049>
11. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis - 2021 update. *Journal of Hepatology*. 2021;75(3):659-689. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.05.025>
12. Cusi K, Isaacs S, Barb D, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the diagnosis and Management of nonalcoholic fatty liver disease in primary care and endocrinology clinical settings: Co-sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *Endocrine Practice*. 2022;28(5):528-562. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2022.03.010>
13. Горелик СГ, Ильницкий АН, Прощаев КИ. Опросники и шкалы в геронтологии и гериатрии. *Геронтология*. 2021;1:1-88.
14. Агарков НМ, Копылов АЕ. Влияние саркопенического ожирения, сочетанного с возраст-ассоциированными офтальмологическими заболеваниями, на деятельность в повседневной жизни. *Российский журнал гериатрической медицины*. 2024;19(3):202-208. DOI: <https://doi.org/10.37586/2686-8636-3-2024-202-208>
15. Stefanescu H, Rusu C, Lupsor-Platon M, et al. Liver stiffness assessed by ultrasound shear wave elastography from General Electric accurately predicts clinically significant portal hypertension in patients with advanced chronic liver disease. *Ultraschall in der Medizin*. 2020;41(5):526-533. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-0965-0745>

16. Dajti E, Marasco G, Ravaioli F, et al. The role of liver and spleen elastography in advanced chronic liver disease. *Minerva Gastroenterology*. 2021;67(2):151-163. DOI: <https://doi.org/10.23736/s2724-5985.20.02793-2>

17. Abozaid YJ, Ayada I, van Kleef LA, et al. Plasma Circulating Metabolites Associated With Steatotic Liver Disease and Liver Enzymes: A Multiplatform Population-Based Study. *Gastro Hep Advances*. 2024;4(2):100551. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gastha.2024.09.006>

18. Aggarwal K, Singh B, Goel A, et al. Complex dichotomous links of nonalcoholic fatty liver disease and inflammatory bowel disease: exploring risks, mechanisms, and management modalities. *Intestinal Research*. 2024;22(4):414-427. DOI: <https://doi.org/10.5217/ir.2024.00001>

19. Mostafa AM, Hafez SM, Abdullah NM, et al. Fatigue, depression, and sleep disorders are more prevalent in patients with metabolic-associated fatty liver diseases. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2024;36(5):665-673. DOI: <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002752>

20. Ismaiel A, Spinu M, Leucuta DC, et al. Anxiety and Depression in Metabolic-Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(9):2488. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11092488>

21. Li X, Xia X, Jiang B, et al. Higher serum chromium level may be associated with the presentation of depression in patients with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: evidence from NHANES survey. *Frontiers in Psychiatry*. 2024;15:1330283. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2024.1330283>

22. Kaya E, Yilmaz Y. Association of Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease with Cognitive Impairment and All-Cause Dementia: A Comprehensive Review. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2024;35(2):76-82. DOI: <https://doi.org/10.5152/tjg.2024.23629>

23. Medina-Julio D, Ramirez-Mejia MM, Cordova-Gallardo J, et al. From Liver to Brain: How MAFLD/MASLD Impacts Cognitive Function. *Medical Science Monitor*. 2024;30:e943417-1-e943417-13. DOI: <https://doi.org/10.12659/MSM.943417>

24. Bali T, Chrysvigis L, Cholongitas E. Metabolic-Associated Fatty Liver Disease and Sarcopenia. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2023;52(3):497-508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2023.02.004>

25. Lossano MR, Parussolo ML, Silva AO, et al. Unraveling the Metabolic Pathways Between Metabolic-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) and Sarcopenia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26(10):4673. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms26104673>

Reference

1. Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, et al. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2023;77(5):1797-1835. DOI: <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000323>

2. Riazi K, Azhari H, Charette J, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and metaanalysis. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2022;7(9):851-861. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(22\)00165-0](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(22)00165-0)

3. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, et al. A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology*. 2023;78(6):1966-1986. DOI: <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000520>

4. De Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, et al. Baveno VII—renewing consensus in portal hypertension. *Journal of Hepatology*. 2022;76(4):959-974. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2021.12.022>

5. Wong VWS, Ekstedt M, Wong GL, et al. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *Journal of Hepatology*. 2023;79(3):842-852. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.04.036>

6. Francque SM, Marchesini G, Kautz A, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: A patient guideline. *JHEP Reports*. 2021;3(5):100322. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100322>

7. Selvaraj EA, Mozez FE, Jayaswal AN, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology*. 2021;75(4):770-785. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.04.044>

8. Vali Y, Lee J, Boursier J, et al. Biomarkers for staging fibrosis and non-alcoholic steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver disease (the LITMUS project): a comparative diagnostic accuracy study. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2023;8(8):714-725. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2468-1253\(23\)00017-1](https://doi.org/10.1016/s2468-1253(23)00017-1)

9. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, et al. Prospective study of outcomes in adults with

nonalcoholic fatty liver disease. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(17):1559-1569. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2029349>

10. Kanwal F, Shubrook JH, Adams LA, et al. Clinical care pathway for the risk stratification and Management of Patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2021;161(5):1657-1669. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.07.049>

11. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis - 2021 update. *Journal of Hepatology*. 2021;75(3):659-689. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.05.025>

12. Cusi K, Isaacs S, Barb D, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the diagnosis and Management of nonalcoholic fatty liver disease in primary care and endocrinology clinical settings: Co-sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *Endocrine Practice*. 2022;28(5):528-562. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2022.03.010>

13. Gorelik SG, Ilnitskiy AN, Prosdavov KI. Questionnaires and scales in gerontology and geriatrics. *Gerontology*. 2021;1:1-88. Russian.

14. Agarkov NM, Kopylov AE. The Impact of Sarcopenic Obesity and Age-Related Ophthalmological Conditions on Daily Activities. *Russian Journal of Geriatric Medicine*. 2024;3(19):202-208. Russian. DOI: <https://doi.org/10.37586/2686-8636-3-2024-202-208>

15. Stefanescu H, Rusu C, Lupsor-Platon M, et al. Liver stiffness assessed by ultrasound shear wave elastography from General Electric accurately predicts clinically significant portal hypertension in patients with advanced chronic liver disease. *Ultraschall in der Medizin*. 2020;41(5):526-533. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-0965-0745>

16. Dajti E, Marasco G, Ravaioli F, et al. The role of liver and spleen elastography in advanced chronic liver disease. *Minerva Gastroenterology*. 2021;67(2):151-163. DOI: <https://doi.org/10.23736/s2724-5985.20.02793-2>

17. Abozaid YJ, Ayada I, van Kleef LA, et al. Plasma Circulating Metabolites Associated With Steatotic Liver Disease and Liver Enzymes: A Multiplatform Population-Based Study. *Gastro Hep Advances*. 2024;4(2):100551. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gastha.2024.09.006>

18. Aggarwal K, Singh B, Goel A, et al. Complex dichotomous links of nonalcoholic fatty liver disease and inflammatory bowel disease: exploring risks, mechanisms, and management modalities. *Intestinal Research*. 2024;22(4):414-427. DOI: <https://doi.org/10.5217/ir.2024.00001>

19. Mostafa AM, Hafez SM, Abdullah NM, et al. Fatigue, depression, and sleep disorders are more prevalent in patients with metabolic-associated fatty liver diseases. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2024;36(5):665-673. DOI: <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002752>

20. Ismaiel A, Spinu M, Leucuta DC, et al. Anxiety and Depression in Metabolic-Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(9):2488. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11092488>

21. Li X, Xia X, Jiang B, et al. Higher serum chromium level may be associated with the presentation of depression in patients with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: evidence from NHANES survey. *Frontiers in Psychiatry*. 2024;15:1330283. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2024.1330283>

22. Kaya E, Yilmaz Y. Association of Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease with Cognitive Impairment and All-Cause Dementia: A Comprehensive Review. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2024;35(2):76-82. DOI: <https://doi.org/10.5152/tjg.2024.23629>

23. Medina-Julio D, Ramirez-Mejia MM, Cordova-Gallardo J, et al. From Liver to Brain: How MAFLD/MASLD Impacts Cognitive Function. *Medical Science Monitor*. 2024;30:e943417-1-e943417-13. DOI: <https://doi.org/10.12659/MSM.943417>

24. Bali T, Chrysavgis L, Cholongitas E. Metabolic-Associated Fatty Liver Disease and Sarcopenia. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2023;52(3):497-508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2023.02.004>

25. Lossano MR, Parussolo ML, Silva AO, et al. Unraveling the Metabolic Pathways Between Metabolic-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) and Sarcopenia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26(10):4673. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms26104673>

Статья поступила в редакцию 2 июля 2025 г.
Поступила после доработки 15 августа 2025 г.
Принята к печати 27 августа 2025 г.

Received 2 July 2025
Revised 15 August 2025
Accepted 27 August 2025

Информация об авторах

Ирина Львовна Кляритская, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гастроэнтерологии, кардиологии и общей врачебной практики (семейной медицины) факультета подготовки медицинских кадров высшей квалификации и дополнительного профессионального образования, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Российская Федерация, E-mail: klira3@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3791-4052>.

Кристина Геннадьевна Бондарь, аспирант по научной специальности 3.1.18 – Внутренние болезни, Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени

С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Российская Федерация, E-mail: giletan@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0765-7774>.

Information about the authors

Irina L. Klyaritskaya, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Therapy, Gastroenterology, Cardiology and General Medical Practice (Family Medicine), Faculty of Advanced Medical Training and Continuing Professional Education, S.I. Georgievsky Order of the Labor Red Banner Medical Institute, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia, E-mail: klira3@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3791-4052>

Kristina G. Bondar, Post-graduate Student in Scientific Specialty 3.1.18 – Internal Diseases, S.I. Georgievsky Order of the Labor Red Banner Medical Institute, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia, E-mail: giletan@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0765-7774>.



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-1-0

УДК 616.89-008.1

Валидизация русскоязычной версии шкалы Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) для оценки восстановления после первого психотического эпизода

В.А. Чинарев^{1,2} , Е.В. Малинина¹ , М.Д. Обухова¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет», ул. Воровского, д. 64, г. Челябинск, 454000, Российская Федерация

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Областная клиническая специализированная психоневрологическая больница №1», ул. Кузнецова, д. 2А, г. Челябинск, 454028, Российская Федерация

Автор для переписки: В.А. Чинарев (va.chinarev@bk.ru)

Резюме

Актуальность: Значимость данной научной статьи обусловлена отсутствием русскоязычных психометрических шкал, объективно оценивающих параметры личностного восстановления в рамках концепции «recovery». В условиях растущего интереса к реабилитации пациентов с психическими расстройствами и необходимости создания эффективных ресурсных систем для оказания помощи людям, пережившим первый психотический эпизод, валидизация русскоязычной версии шкалы Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) открывает новые горизонты для клинической практики и научных исследований. **Цель исследования:** Адаптация и валидизация русскоязычной версии шкалы оценки восстановления – домены и стадии Recovery Assessment Scale – Domains and Stages по Никола Хэнкок (RAS-DS). **Материалы и методы:** В исследовании приняли участие 129 пациентов отделения первого психотического эпизода в возрасте от 16 до 50 лет ($31 \pm 7,9$ лет), прошедших комплексную программу реабилитации сроком до двух лет от начала госпитализации. Среди участников преобладали мужчины (79,1%, $n=102$), длительность госпитализации составила от 24 до 88 суток ($42 \pm 13,8$ дня). В качестве методов оценки степени личностно-ориентированного восстановления использовались шкалы: PANSS, PSP, SFS, BHS, GAF, RAS-DS. Для определения внутренней надёжности структуры психометрической шкалы был использован коэффициент α -Кронбаха. Для оценки структуры опросника был применён факторный анализ по методу главных компонент. Для сравнения количественных показателей разных групп психометрических данных при нормальном распределении переменных использовался t -критерий Стьюдента. Для описания связи между шкалами использовался корреляционный анализ. **Результаты:** Коэффициенты α -Кронбаха для всех шкал и общего показателя по RAS-DS превышали значение 0,90, характеризуемый как отличный для внутренней надёжности диагностический инструмент. Данная модель продемонстрировала отличное соответствие данных с учётом применения в расчётах среднеквадратичной ошибки аппроксимации RMSEA

(RMSEA=0,0474, $p<0,001$); сравнительного индекса соответствия CFI (CFI=0,969); индекса Такера-Льюиса TLI (TLI=0,945). При проведении анализа конвергентной валидности была выявлена высокая прямая корреляция с психометрическими шкалами GAF ($r=0,93$, $p<0,001$), SFS ($r=0,91$, $p<0,001$), PSP ($r=0,84$, $p<0,001$) и обратная корреляция с опросниками PANSS ($r=-0,71$, $p<0,001$) и BHS ($r=-0,83$, $p<0,001$), что подтверждает валидность и надёжность исследуемого метода оценки комплексного восстановления. **Заключение:** Русскоязычная версия шкалы RAS-DS была успешно адаптирована на выборке пациентов, перенесших первый психотический эпизод, проходивших комплексную программу реабилитацию и может быть рекомендована в качестве инструмента и скрининга восстановления пациентов у русскоязычных респондентов.

Ключевые слова: первый психотический эпизод; реабилитация пациентов; выздоровление; PANSS; PSP; SFS; BHS; GAF; RAS-DS

Для цитирования: Чинарев ВА, Малинина ЕВ, Обухова МД. Валидизация русскоязычной версии шкалы Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) для оценки восстановления после первого психотического эпизода. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(1):154-171. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-1-0

Validation of the Russian version of the Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) to assess recovery after the first psychotic episode

Vitaly A. Chinarev^{1,2} , Elena V. Malinina¹ , Maria D. Obukhova¹ 

¹ South Ural State Medical University,
64 Vorovsky St., Chelyabinsk, 454092, Russia

² Regional Clinical Specialized Neuropsychiatric Hospital No.1,
2A Kuznetsov St., Chelyabinsk, 454087, Russia

Corresponding author: Vitaly A. Chinarev (va.chinarev@bk.ru)

Abstract

Background: This scientific article is significant due to the lack of Russian-language psychometric scales that can objectively assess the parameters of personal recovery within the broader concept of 'recovery'. In the context of growing interest in the rehabilitation of patients with mental disorders and the need to create effective resource systems to help people who have experienced the first psychotic episode, the validation of the Russian version of the Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) opens up new horizons for clinical practice and scientific research. **The aim of the study:** To adapt and validate the Russian version of the recovery assessment Scale – Domains and stages Recovery Assessment Scale – Domains and Stages by Nicola Hancock (RAS-DS). **Materials and methods:** The study involved 129 patients with a first psychotic episode, aged 16–50 years (mean age 31 years, SD 7.9 years), who underwent a comprehensive rehabilitation programme lasting up to two years from the start of hospitalisation. The majority of participants were men (79.1%, $n = 102$), and the length of hospitalisation ranged from 24 to 88 days (mean = 42 days, SD = 13.8). PANS, PSP, SFS, BS, GIF, RUS-DS were used as methods for determining the degree of recovery of patients. The α -Kronbach coefficient was used to determine the internal reliability of the structure of the psychometric scale. To assess the structure of the questionnaire, factor analysis using the

principal component method was applied. The Student's t-test was used to compare quantitative indicators of different groups of psychometric data with a normal distribution of variables. Correlation analysis was used to describe the relationship between the scales. **Results:** The α -Kronbach coefficients for all scales and the overall RAS-DS index exceeded the value of 0.90, defined as excellent for the internal reliability of the diagnostic tool. This model demonstrated excellent data consistency, taking into account the use in calculations of the RMS approximation error RMSEA (RMSEA=0.0474, $p<0.001$); comparative compliance index CFI (CFI=0.969); Tucker–Lewis index TLI (TLI=0.945). During the analysis of convergent validity, a high direct correlation was revealed with the psychometric scales GAF ($r=0.93$, $p<0.001$), SFS ($r=0.91$, $p<0.001$), PSP ($r=0.84$, $p<0.001$) and inverse correlation with the PANSS questionnaires ($r=-0.71$, $p<0.001$) and BHS ($r=-0.83$, $p<0.001$), which confirms the validity and reliability of the investigated method for assessing complex recovery. **Conclusion:** The Russian-language version of the RAS-DS scale was successfully adapted on a sample of patients after the first psychotic episode who underwent a comprehensive rehabilitation program and can be recommended as a tool and screening for the recovery of patients after PPE in Russian-speaking respondents.

Keywords: the first psychotic episode; rehabilitation of patients; recovery; PANSS; PSP; SFS; BHS; GAF; RAS-DS

For citation: Chinarev VA, Malinina EV, Obukhova MD. Validation of the Russian version of the Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) to assess recovery after the first psychotic episode. *Research Results in Biomedicine*. 2026;12(1):154-171. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-1-1-0

Введение. Ранее диагноз расстройств шизофренического спектра (РСШ) становился буквально пожизненным приговором и клеймом, препятствующим социальной интеграции пациента и ещё сильнее погружая в аутизацию. Ведущие основоположники психиатрии, такие как Е. Bleuler, и вовсе отрицали существования излечения от шизофрении, указывая в своих трудах на тот факт, что лишь ненадлежащий осмотр пациента и некомпетентность психиатра могут послужить фактором принятия мнимого благополучия за выздоровление [1, 2]. Со второй половины 20 века применяется подход, ориентированный на личность пациента и его социальную адаптацию после перенесённого первого психотического эпизода (ППЭ) [3]. Исследования последних лет привели к формированию понятия - восстановление «recovery», включающего в себя не только купирование симптоматики, но и формирование оптимистичного самовосприятия пациента, которое обеспечивает возможность полноценной адаптации и социализации в условиях

болезни [4]. Восстановление после ППЭ не является однонаправленным линейным процессом, и трудно предположить, что ждет пациента и врача на последующих этапах болезни и когда именно наступит выздоровление.

Концепция «recovery» многогранна и включает в себя комплекс основных аспектов в восстановлении, включающих клиническое (симптоматическое), функциональное (социальное) и личностное (личностно-ориентированное) [5]. Современные подходы к лечению и реабилитации пациентов с ППЭ предполагают развитие программ, направленных на снижение стигматизации, поддержку социальной активности и включение пациентов в общественную жизнь. Акцент на индивидуализированный подход, а также применение междисциплинарных аспектов в терапии, таких как психотерапия, медикаментозное лечение и социальная поддержка, способствует улучшению качества жизни пациентов, повышая их уровень функционирования и уменьшая симптомы расстройства.

За счёт многогранности и субъективности понятия личностного восстановления перед врачами-психиатрами всегда стоит не менее важный вопрос поиска новых способов оценки личностно-ориентированного восстановления. Примером такого психометрического инструмента является шкала оценки восстановления – домены и стадии: Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS), разработанная в 2015 году Австралийскими учёными (Хэнкок, Н., Сканлан, Дж.Н., Банди, А.С. и Хани, А.). В последние годы этот опросник стал предметом внимания психиатров со всего мира и был переведён на 18 языков и валидизирован в 26 странах, зарекомендовав себя как быстрый и надёжный инструмент [6, 7]. Из-за отсутствия русскоязычных психометрических шкал, которые объективно могут оценить параметры личностного восстановления («recovery»), актуальной является адаптация и валидизация RAS-DS для русскоговорящих респондентов. Шкала состоит из различных доменов, каждый из которых отражает ключевые компоненты процесса восстановления. Домены включают: личное самосознание и понимание психического состояния; ощущение надежды и уверенности в будущем; социальные связи и поддержка со стороны окружающих; уровень вовлеченности в жизнь и активное участие в сообществах. Валидизация и адаптация данной шкалы не только способствует развитию научных знаний в области психического здоровья, но и расширяет возможности для персонализированной реабилитации, способствуя преодолению болезни и успешной интеграции в общество.

Авторами данной статьи (Чинарев В.А., Малинина Е.В., Обухова М.Д., Россия) осуществлён перевод опросника на русский язык, создав его русскоязычную версию, аналогичную оригиналу на английском. При этом были учтены этнолингвистические особенности локальной популяции, что соответствует принципам доказательной медицины и требованиям Good Clinical Practice (Рис. 1).

До настоящего времени валидизация русскоязычной версии опросника не проводилась.

Цель исследования. Адаптация и валидизация русскоязычной версии шкалы оценки восстановления - домены и стадии Recovery Assessment Scale - Domains and Stages по Никола Хэнкок (RAS-DS) на выборке пациентов, перенесших первый психотический эпизод, проходивших комплексную программу реабилитации в клиническом отделении первого психотического эпизода ГБУЗ «Областная клиническая специализированная психоневрологическая больница № 1» г. Челябинска.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие пациенты после первого психотического эпизода, проходившие лечение и реабилитацию в первичном клиническом отделении. Критериями включения респондентов в выборку стали: наличие первого психотического эпизода (длительность заболевания не более 5 лет, количество госпитализаций не более 3); психотическое расстройство соответствует критериям F20, F23.0, F25, F23.1 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10); наличие информированного добровольного согласия на участие в научно-исследовательской работе. В исследовании не принимали участие пациенты, психотический эпизод которых возник вследствие употребления психоактивных веществ, в том числе алкоголя. Проведенное исследование соответствовало положениям Хельсинской декларации 1964 г., пересмотренной в 1975-2013 гг, и одобрено заседанием локального этического комитета №06 от 09.10.2024 г. ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Были собраны социально-демографические данные о каждом респонденте, а русскоязычная версия шкалы оценки восстановления – домены и стадии (Recovery Assessment Scale – Domains and Stages по Никола Хэнкок – RAS-DS, см. приложение) и другие психометрические шкалы были заполнены врачом-психиатром, а также самим пациентом по время интервьюирования.

ВАШЕ ИМЯ

**Шкала оценки восстановления – домены и стадии
RAS-DS (Recovery Assessment Scale – Domains and Stages)
(по Никола Хэнкок)**

Инструкция: В данном тесте представлен список утверждений, отражающих различные чувства и восприятие жизни людей. Пожалуйста, выполните следующие шаги:

Внимательно ознакомьтесь с каждым утверждением. Постарайтесь понять его суть и оценить, насколько оно соответствует вашим текущим ощущениям. Обведите кружком номер, который наиболее точно описывает ваше состояние в данный момент. Обратите внимание, что необходимо обвести только один номер для каждого утверждения. Не пропусайте ни одно утверждение. Ответьте на все пункты, чтобы тест был максимально информативным.

ДЕЛАЮ ТО, ЧТО ЦЕНЮ					
		Неверно	Скорее неверно	Скорее верно	Верно
1	Мне важно получать удовольствие от чего-либо	1	2	3	4
2	Мне важно иметь здоровые привычки	1	2	3	4
3	Я делаю то, что имеет для меня значение	1	2	3	4
4	У меня появляются новые интересы	1	2	3	4
5	Я делаю то, что полезно и ценно для других	1	2	3	4
6	Я делаю то, что приносит мне большое удовольствие	1	2	3	4
ЖДУ С НЕТЕРПЕНИЕМ					
7	Я справлюсь, если снова заболел	1	2	3	4
8	Я могу помочь себе стать лучше	1	2	3	4
9	У меня есть желание достичь успеха	1	2	3	4
10	У меня есть цели в жизни, которых я хочу достичь	1	2	3	4
11	Я верю, что смогу достичь своих личных целей	1	2	3	4
12	Я могу справиться с тем, что происходит в моей жизни	1	2	3	4
13	Я себе нравлюсь	1	2	3	4
14	У меня есть цель в жизни	1	2	3	4
15	Если бы люди действительно меня знали, я бы им понравился	1	2	3	4
16	Если я продолжу стараться, я буду становиться лучше	1	2	3	4
17	У меня есть представление о том, кем я хочу стать	1	2	3	4
18	Что-то хорошее в конце концов произойдет	1	2	3	4
19	Я человек, который несет большую ответственность за собственное совершенствование	1	2	3	4
20	Я полон надежд относительно своего будущего	1	2	3	4
21	Я знаю, когда обратиться за помощью	1	2	3	4
22	Я прошу о помощи, когда в ней нуждаюсь	1	2	3	4
23	Я знаю, что помогает мне стать лучше	1	2	3	4
24	Я могу учиться на своих ошибках	1	2	3	4
ПРЕОДОЛЕВАЮ СВОЮ БОЛЕЗНЬ					
25	Я могу распознать ранние признаки проявления болезни	1	2	3	4
26	У меня есть свои собственные планы относительно того, как сохранить или улучшить свое самочувствие	1	2	3	4
27	Есть вещи, которые я могу сделать, чтобы помочь себе справиться с нежелательными симптомами	1	2	3	4
28	Я знаю, что существуют службы охраны психического здоровья, которые могут мне помочь	1	2	3	4
29	Хотя мои симптомы могут ухудшиться, я уверен, что смогу с ними справиться	1	2	3	4
30	Мои симптомы все меньше и меньше мешают моей повседневной жизни	1	2	3	4
31	Мои симптомы длятся меньше времени с каждым разом, когда они возникают	1	2	3	4
БЫТЬ ЧАСТЬЮ СООБЩЕСТВА					
32	У меня есть люди, на которых я могу положиться	1	2	3	4
33	Даже когда я не верю в свои силы, другие люди верят в меня	1	2	3	4
34	Мне важно, чтобы у меня были друзья	1	2	3	4
35	У меня есть друзья, которые тоже боролись с психическими расстройствами	1	2	3	4
36	У меня есть друзья, у которых нет психических расстройств	1	2	3	4
37	У меня есть друзья, которые могут положиться на меня	1	2	3	4
38	Я нормально отношусь к своему семейному положению	1	2	3	4

Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS – Research Version 3). (nicola.hancock@sydney.edu.au)
©2015 Nicola Hancock and The University of Sydney. Not to be copied or used for any other purpose without written permission from the author
БЛАГОДАРИМ ВАС ЗА УЧАСТИЕ!

Рис. 1. Шкала оценки восстановления – домены и стадии RAS-DS (Recovery Assessment Scale – Domains and Stages) (по Никола Хэнкок)

Fig. 1. Recovery Assessment Scale – Domains and Stages of RAS-DS (by Nicola Hancock)

Участие в исследовании приняли 129 пациентов отделения первого психотического эпизода в возрасте от 16 до 50 лет ($31 \pm 7,9$ лет), прошедших комплексную программу реабилитации сроком до двух лет от начала госпитализации. Среди участников преобладали мужчины (79,1%, $n=102$), большая часть имела шизоидный преморбид в анамнезе (72,09%, $n=93$),

у половины (49,61%, $n=64$) отмечалась наследственная отягощённость по психическим заболеваниям, а длительность госпитализации составила от 24 до 88 суток ($42 \pm 13,8$ дня). На момент госпитализации были трудоустроены 53,49% пациентов ($n=69$), имели свою семью лишь 20,16% ($n=26$). Клинико-функциональная характеристика представлена в Таблице 1.

Таблица 1

Клинико-функциональная характеристика пациентов

Table 1

Clinical and functional characteristics of patients

Характеристика		М(SD) или % (n)
Пол	Мужчины, % (n)	79,1% (102)
	Женщины, % (n)	20,9% (27)
Возраст, М(SD)		31 ($\pm 7,9$)
Психопатологически отягощённая наследственность, % (n)		49,61% (64)
Наличие шизоидного преморбида в анамнезе, % (n)		72,09% (93)
Срок госпитализации при ППЭ в днях, М(SD)		42 ($\pm 13,8$)
Трудоустройство или иная занятость на момент госпитализации, % (n)		53,49% (69)
Наличие собственной семьи на момент госпитализации, % (n)		20,16% (26)

Примечание: *M* – среднее; *SD* – стандартное отклонение; % – процент респондентов от общей выборки; *n* – количество респондентов.

Note: *M* is the average; *SD* is the standard deviation; % is the percentage of respondents from the total sample; *n* is the number of respondents.

Программа реабилитации и восстановления.

Комплекс психосоциальной реабилитации был составлен индивидуально для каждого пациента и начинался со второй недели стационарирования. Мероприятия продолжались после выписки в амбулаторном порядке и длились не менее 1,5 лет. Каждый пациент в обязательном порядке прошёл психотерапевтические индивидуальные сессии и групповые занятия с клиническим психологом не реже 2 раз в неделю [8, 9], занятия по социальной адаптации и обучение навыкам самоуправления не реже 1 раза в неделю [10], семейную терапию с психообразовательными сессиями для членов его семьи не реже 2 раз в месяц [11].

В качестве психометрической оценки степени выздоровления после первого эпизода психоза применялись следующие шкалы: шкала оценки позитивных и негативных симптомов (Positive and

Negative Syndrome Scale – PANSS), шкала личностного и социального функционирования (Personal and Social Performance scale – PSP), шкала социального функционирования (Social Functioning Scale – SFS), шкала безнадёжности Бека (Beck Hopelessness Scale – BHS), шкала глобального функционирования (Global Assessment of Functioning – GAF), шкала оценки восстановления - домены и стадии (Recovery Assessment Scale - Domains and Stages – RAS-DS).

Шкала оценки позитивных и негативных симптомов – Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) [12, 13] – является наиболее широко используемым инструментом для оценки эффективности терапевтических подходов у пациентов с психотическими расстройствами. Она позволяет получить информацию о клиническом профиле пациентов и отслеживать динамику их состояния.

PANSS включает в себя 33 признака, каждый из которых оценивается по семибалльной шкале, и предназначен для выявления уровня выраженности как продуктивной, так и негативной симптоматики, а также для формирования композитного индекса и оценки других психических нарушений в рамках общей психопатологической оценки [14, 15, 16].

Шкала личностного и социального функционирования – Personal and Social Performance scale (PSP) [17, 18, 19] рассмотрена в аспекте определения нарушений социального взаимодействия, что считается центральной характеристикой при непрерывном типе течения РШС. PSP даёт возможность объективной оценки степени затруднений, которые испытывает пациент за последнюю неделю в четырёх основных областях социального функционирования: социально-полезная деятельность, отношения с близкими и обществом, самообслуживание, а также нарушающее спокойствие окружающих и агрессивное поведение. Баллы выставляются по шкале от 1 до 100, разделенной на 10 равных интервалов, где каждый интервал соответствует определенной степени затруднений в социальном функционировании [20, 21, 22].

Шкала социального функционирования – Social Functioning Scale (SFS) [23, 24], впервые была разработана с целью оценки адаптации пациентов, страдающих шизофренией. Этот инструмент включает 79 пунктов, охватывающих различные аспекты социального функционирования, такие как социальная изоляция, межличностные связи, уровень социализации, навыки самостоятельной жизни, адекватное социальное поведение и занятость. Основное внимание в оценке по данной шкале уделяется характеристикам социального окружения, а также навыкам и компетенциям индивидов. SFS может использоваться как в формате самооценки, так и заполняться специалистом в ходе беседы с пациентом. По результатам

последних исследований, данная шкала рекомендуется для безопасного использования в научных исследованиях [25, 26].

Шкала безнадёжности Бека – Beck Hopelessness Scale (BHS) [27, 28, 29] представляет самоопросник, состоящий из 20 вопросов. Шкала направлена на измерение трёх основных аспектов безнадёжности: чувства по поводу будущего, потери мотивации и ожиданий [30, 31, 32]

Шкала глобального функционирования – Global Assessment of Functioning (GAF) [33] является инструментом для субъективной оценки психологического, социального и профессионального функционирования пациента, используемая по большей части в практике западных врачей-психиатров и психологов. Оценивается диапазоном баллов от 1 до 100, где наиболее высокие баллы указывают на лучшее функционирование. В последние годы шкала GAF вызывает определённые опасения относительно её субъективности, что связано с отсутствием ясных критериев для начисления баллов. Это может негативно повлиять на её надёжность и валидность при оценке психического состояния и выборе дальнейшей тактики лечения [34].

RAS-DS представляет собой психометрический инструмент, состоящий из 38 пунктов, и предназначен для оценки уровня восстановления пациентов в четырех ключевых областях [35, 36]: функциональные, социальные и психологические аспекты, а также управление симптомами болезни [37]. Оценка в каждом пункте производится по четырёх бальной шкале (1 – неверно; 2 – скорее неверно; 3 – скорее верно; 4 – верно). Интерпретация результатов шкалы предусматривает получения двух вариантов итоговых значений: бальная система основана на сложении выставленных баллов по каждому пункту шкалы и подсчёт итоговой суммы баллов (min=38, max=152). Процентная система

основана на вычислении процента степени соответствия данных каждому домену, позволяющая сначала оценить выздоровление по каждому разделу, а после рассчитать итоговое значение для всей шкалы в совокупности ($\min=25\%$, $\max=100\%$). Повышение процентной составляющей в процессе терапии и реабилитации трактуется как положительная динамика выздоровления.

Для проведения RAS-DS не требуется специального обучения, а руководство пользователя доступно на официальном интернет-ресурсе разработчиков [38]. Применение данной шкалы возможно, как во время интервью, так и применение в качестве самоопросника. Как показывает практика специалистов, которые уже применяют данную методику, заполнение опросника занимает до 15 минут, делая его удобным в рутинной практике. RAS-DS продемонстрировала хорошую надёжность, валидность и чувствительность к изменениям [39, 40, 41].

Психометрические шкалы применялись для валидации и адаптации русскоязычной версии шкалы RAS-SD по трём основным направлениям восстановления пациентов. Для оценки клинического (симптоматического) восстановления использовалась шкала PANSS, для оценки функционального восстановления – GAF, PSP, SFS, для оценки личностного восстановления – BHS.

Валидизация шкалы RAS-DS осуществлялась в соответствии с международными стандартами [42, 43] и проходила через несколько ключевых этапов:

1. Для определения надёжности и внутренней согласованности использовался коэффициент α -Кронбаха.

2. Конструктивная валидность опросника оценивалась с применением двухуровневого факторного анализа на основе метода главных компонент, который включал как эксплораторный, так и конфирматорный анализ факторов.

3. Для определения критериальной валидности и подтверждения корреляционной связи RAS-DS с уже валидизированными психометрическими инструментами был проведён корреляционный анализ схожих конструкт с 5-ти психометрическими шкалами: PANSS, GAF, PSP, SFS, BHS.

Статистическая обработка данных. Для определения внутренней надёжности структуры психометрической шкалы был использован коэффициент α -Кронбаха. Все тесты были двусторонними, различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при $p<0,001$. Анализ влияния гендерно-возрастных характеристик участников на полученные результаты проводился посредством применения z-критерия для сравнения коэффициентов α -Кронбаха в выделенных подгруппах. Для оценки структуры опросника был применён факторный анализ по методу главных компонент. Факторизация проведена в два этапа, включающих в себя эксплораторный факторный анализ (ЭФА) и конфирматорный факторный анализ (КФА). Для сопоставления количественных величин различных групп психометрических данных, при условии нормального распределения переменных, применялся t-критерий Стьюдента. Для описания связи между шкалами использовали корреляционный анализ. Корреляционная связь рассматривалась как слабая при $r\leq 0,3$, умеренная – при $0,3<r<0,7$, высокая – при $r\geq 0,7$.

Результаты

Анализ надёжности. Надёжность отражает способность метода давать постоянные и точные результаты при неизменности исходных параметров. В Таблицах 2 и 3 представлена структура шкалы RAS-DS с учётом обобщения результатов по каждому домену в процентном соотношении и вариант представления данных по каждому пункту отдельно в пересчёте на баллы. Коэффициент α -Кронбаха [44, 45] для общего показателя по шкале составил

значение 0,90, что трактуется как отличная внутренняя надёжность русскоязычной версии шкалы RAS-DS. При исключении отдельных пунктов шкалы и перерасчёта достоверности отмечалось снижение

коэффициента α -Кронбаха, что даёт основание для анализа представленной шкалы как единого массива данных в исходной структуре и компоновке по доменам.

Таблица 2
Описательная статистика и надёжность русскоязычной версии RAS-DS

Table 2

Descriptive statistics and reliability of the Russian version of RS-DS

Пересчёт шкалы в процентную систему (max=100%)			
Домен	M (%)	SD (%)	α
I Делаю то, что ценю	87,50%	$\pm 10,70\%$	0,90
II Жду с нетерпением	87,50%	$\pm 8,78\%$	0,89
III Преодолеваю свою болезнь	82,14%	$\pm 9,68\%$	0,90
IV Быть частью сообщества	89,29%	$\pm 10,63\%$	0,90
Итого	86,84%	$\pm 9,47\%$	0,90

Примечание: *M* – среднее; *SD* – стандартное отклонение; α – коэффициент α -Кронбаха для общего показателя по шкале при исключении отдельных пунктов или доменов.

Note: *M* is the average; *SD* is the standard deviation; α is the α -Kronbach coefficient for the overall indicator on the scale, excluding individual points or domains.

Таблица 3

Описательная статистика, надёжность, факторная нагрузка русскоязычной версии RAS-DS

Table 3

Descriptive statistics, reliability, factor load of the Russian version of RAS-DS

Пересчёт шкалы в бальную систему (max=152 балла)				Факторная нагрузка		Пересчёт шкалы в бальную систему (max=152 балла)				Факторная нагрузка	
Пункт RAS-DS	M	SD	α	ЭФА	КФА	Пункт RAS-DS	M	SD	α	ЭФА	КФА
Пункт 01	3,00	$\pm 0,48$	0,89	0,69	0,57	Пункт 20	4,00	$\pm 0,00$	0,89	0,75	0,72
Пункт 02	3,00	$\pm 0,55$	0,88	0,73	0,68	Пункт 21	4,00	$\pm 0,43$	0,88	0,84	0,80
Пункт 03	4,00	$\pm 0,50$	0,88	0,69	0,62	Пункт 22	3,00	$\pm 0,54$	0,89	0,87	0,82
Пункт 04	4,00	$\pm 0,45$	0,89	0,81	0,77	Пункт 23	3,00	$\pm 0,48$	0,89	0,85	0,81
Пункт 05	3,00	$\pm 0,54$	0,89	0,87	0,82	Пункт 24	4,00	$\pm 0,89$	0,90	0,85	0,82
Пункт 06	4,00	$\pm 0,53$	0,89	0,84	0,80	Пункт 25	4,00	$\pm 0,38$	0,90	0,69	0,72
Пункт 07	3,00	$\pm 0,47$	0,90	0,73	0,71	Пункт 26	3,00	$\pm 0,42$	0,89	0,83	0,85
Пункт 08	3,00	$\pm 0,49$	0,88	0,85	0,83	Пункт 27	3,00	$\pm 0,54$	0,88	0,82	0,80
Пункт 09	3,00	$\pm 0,46$	0,89	0,73	0,65	Пункт 28	4,00	$\pm 0,50$	0,89	0,84	0,80
Пункт 10	3,00	$\pm 0,56$	0,89	0,85	0,81	Пункт 29	3,00	$\pm 0,48$	0,90	0,84	0,83
Пункт 11	3,00	$\pm 0,45$	0,90	0,69	0,63	Пункт 30	3,00	$\pm 0,54$	0,89	0,73	0,73
Пункт 12	3,00	$\pm 0,56$	0,89	0,69	0,65	Пункт 31	3,00	$\pm 0,46$	0,88	0,77	0,75
Пункт 13	3,00	$\pm 0,54$	0,89	0,69	0,57	Пункт 32	3,00	$\pm 0,55$	0,89	0,73	0,72
Пункт 14	3,00	$\pm 0,52$	0,89	0,73	0,70	Пункт 33	4,00	$\pm 0,50$	0,90	0,81	0,78
Пункт 15	4,00	$\pm 0,35$	0,89	0,74	0,72	Пункт 34	4,00	$\pm 0,45$	0,89	0,87	0,82
Пункт 16	4,00	$\pm 0,49$	0,89	0,81	0,77	Пункт 35	4,00	$\pm 0,54$	0,89	0,69	0,57
Пункт 17	4,00	$\pm 0,00$	0,90	0,84	0,81	Пункт 36	3,00	$\pm 0,53$	0,89	0,81	0,76
Пункт 18	4,00	$\pm 0,48$	0,88	0,87	0,80	Пункт 37	4,00	$\pm 0,47$	0,89	0,79	0,80
Пункт 19	4,00	$\pm 0,12$	0,89	0,84	0,83	Пункт 38	3,00	$\pm 0,49$	0,90	0,81	0,82

Примечание: *M* – среднее; *SD* – стандартное отклонение; α – коэффициент α -Кронбаха для общего показателя по шкале при исключении отдельных пунктов или доменов. ЭФА – эксплораторный факторный анализ. КФА – подтверждающий факторный анализ.

Note: *M* is the average; *SD* is the standard deviation; α is the α -Kronbach coefficient for the overall indicator on the scale, excluding individual points or domains. ЭФА is an exploratory factor analysis. КФА is a confirmatory factor analysis.

Для оценки потенциальной статистической зависимости результатов исследования от половых и возрастных характеристик участников была проведена серия z-тестов для коэффициентов α -Кронбаха, рассчитанных по данным отдельных подгрупп. Анализ показал, что во всех случаях абсолютное значение $|z|$ не превышало критический уровень (влияние пола: $|z|=1,64$, $p=0,05$; влияние возраста: $|z|=1,31$, $p=0,05$), что позволяет судить об отсутствии значимых различий между результатами тестирования, обусловленных гендерными или возрастными особенностями исследуемой выборки.

Анализ конструктивной валидности. Факторизация русскоязычной версии RAS-DS была проведена в два этапа, включающих в себя ЭФА и КФА, факторные нагрузки приведены в Таблице 3.

На начальном этапе исследования данные были проанализированы с помощью метода ЭФА, по результатам которого была обнаружена четырёхфакторная модель, объясняющая 51,2% дисперсии (значение критерия выборочной адекватности Кайзера-Мейера-Олкина равнялось 0,926; показатель сферичности Бартлетта был статистически значимым, $p<0,001$). В единый фактор депрессии вошли пункты с факторными нагрузками от 0,69 до 0,87.

После достоверной факторизации адаптированной шкалы RAS-DS была проведена оценка структуры с помощью КФА. Четырёхфакторная модель показала отличное соответствие по индексам среднеквадратичной

аппроксимации $RMSEA=0,0474$, $p<0,001$; сравнительный индекс соответствия $CFI=0,969$; индекс Такера-Льюиса $TLI=0,945$. Пункты входили в общий фактор депрессии с факторными нагрузками от 0,57 до 0,82.

По результатам эксплораторного и конфирматорного факторных анализов была подтверждена валидность русскоязычной версии шкалы оценки восстановления - домены и стадии RAS-DS.

Анализ критериальной валидности. Для подтверждения корреляционной связи RAS-DS с уже валидизированными психометрическими инструментами и повышения надёжности был проведён анализ схожих конструкт. В связи с комплексной оценкой восстановления по модели «гесовегу» в анализ были включены 5 шкал: для оценки клинического восстановления использовалась PANSS, для оценки функционального восстановления – GAF, PSP, SFS, для оценки личностного восстановления – BHS. Была сформирована гипотеза об обратно-пропорциональной корреляции PANSS и BHS по причине оценки негативных симптомов в представленных шкалах, противоречия факту восстановления пациента. Оставшиеся шкалы прямо-пропорционально коррелируются с RAS-DS. В качестве теста на значимость был использован t-критерий Стьюдента, статистически значимая корреляция определялась при $p<0,001$, пороговое значение $p<0,05$. Корреляция определялась как высокая при $r>|0,7|$. Данные конвергентной валидности представлены в Таблице 4.

Таблица 4

Конвергентная валидность

Table 4

Convergent validity

Психометрические шкалы	Корреляция с RAS-DS (r)	Трактовка корреляции	t-критерий Стьюдента	p
PANSS	-0,71	Отрицательная	11,43	$p<0,01$
BHS	-0,83	Отрицательная	16,79	$p<0,01$
SFS	0,91	Положительная	48,97	$p<0,01$
GAF	0,93	Положительная	8,40	$p<0,01$
PSP	0,84	Положительная	17,60	$p<0,01$

По итогам просчёта конвергентной валидности была подтверждена гипотеза обратной корреляционной связи со шкалами, определяющими суммарную оценку негативных проявлений РСШ, и высокую корреляцию с валидизированными психометрическими шкалами. Во всех случаях корреляция была статистически значимой ($p < 0,01$).

Ограничения настоящего исследования: а) изучение психометрических характеристик шкалы в условиях популяции является важным, но недостаточным основанием для достоверных выводов о её применимости в клинической практике; б) будущее психометрических испытаний русскоязычной версии RAS-DS заключается в необходимости её клинической валидации на выборках пациентов с различными психическими расстройствами; в) исследование было проведено на специальной выборке пациентов, перенесших первый психотический эпизод; г) заполнение RAS-DS носит самоотчетный характер, поэтому степень личностного восстановления оценивается субъективно и не может быть опровергнута или подтверждена данными медицинских наблюдений и обследований.

Обсуждение. Результатом проведенного исследования стало заключение о том, что русскоязычная версия шкалы RAS-DS представляет собой надёжный и валидный инструмент для оценки уровня восстановления пациентов после первого психотического эпизода в рамках концепции личностно-ориентированного восстановления (recovery). Коэффициенты α -Кронбаха для всех шкал и общего показателя по RAS-DS превышали значение 0,90, что характеризуется как отличным для внутренней надёжности диагностическим инструментом [46]. При проведении z-тестирования не было выявлено статистически значимых различий между результатами тестов по возрастным и гендерным характеристикам у участников исследования. Полученные значения были

ниже критического уровня ($|z| = 1,64$ при $p = 0,05$ для гендера и $|z| = 1,31$ при $p = 0,05$ для возраста), что позволило отклонить гипотезу о влиянии этих факторов на изучаемые параметры. По итогам конфирматорного факторного анализа была подтверждена четырёхфакторная структура шкалы, оценивающая функциональные, социальные, психологические аспекты и управление симптомами. Данная модель продемонстрировала отличное соответствие данных с учётом применения в расчётах среднеквадратичной ошибки аппроксимации RMSEA (RMSEA=0,0474, $p < 0,001$); сравнительного индекса соответствия CFI (CFI=0,969); индекса Такера–Льюиса TLI (TLI=0,945). Во время анализа конвергентной валидности была выявлена высокая прямая корреляция с психометрическими шкалами GAF ($r=0,93$, $p < 0,001$), SFS ($r=0,91$, $p < 0,001$), PSP ($r=0,84$, $p < 0,001$) и обратная корреляция с опросниками PANSS ($r=-0,71$, $p < 0,001$) и BHS ($r=-0,83$, $p < 0,001$), что подтверждает валидность и надёжность исследуемого метода оценки комплексного восстановления.

Заключение. Русскоязычная версия шкалы RAS-DS была эффективно адаптирована на выборке пациентов, перенесших первый эпизод психоза, проходивших комплексную программу психосоциальной реабилитации. Несмотря на необходимость проведения дальнейших психометрических исследований, направленных на расширение материалов и методов для валидации адаптированной шкалы, её можно рекомендовать как инструмент для скрининга личностно-ориентированного восстановления после ППЭ среди русскоязычных респондентов.

Применение адаптированной версии RAS-DS открывает новые возможности для углубленного анализа факторов, влияющих на процесс восстановления, а также поможет в создании индивидуализированных программ психосоциальной реабилитации. Учитывая сложную природу процесса

восстановления при психических расстройствах, данное исследование может заложить основу для дальнейших исследований в этой области, расширяя представление о концепции восстановления — «recovery» и улучшая терапевтические подходы к лечению как для пациентов, переживших психотический эпизод, так и для лиц с другими психическими заболеваниями.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors have no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Шмуклер АБ. Клинико-психопатологический подход в системе реабилитации психически больных. Социальная и клиническая психиатрия. 2020;30(1):8-12.
2. Chan JKN, Correll CU, Wong CSM, et al. Life expectancy and years of potential life lost in people with mental disorders: a systematic review and meta-analysis. *eClinicalMedicine*. 2023;65:102294. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102294>
3. Subandi MA, Nihayah M, Marchira CR, et al. The principles of recovery-oriented mental health services: A review of the guidelines from five different countries for developing a protocol to be implemented in Yogyakarta, Indonesia. *PLoS ONE*. 2023;18(3):e0276802. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276802>
4. Ma M, Shi Z, Chen Y, et al. Recovery journey of people with a lived experience of schizophrenia: a qualitative study of experiences. *BMC Psychiatry*. 2023;23(1):468. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04862-1>
5. Корнилов СА., Корнилова ТВ. Мета-аналитические исследования в психологии. Психологический журнал. 2010;5(34):5-17.
6. Khemthong S, Scanlan J, Hancock N. Measurement properties of the Thai translation of the Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) and comparison of recovery experiences between Thai and Australian consumers living with serious mental illness. *Transcultural Psychiatry*. 2024;61(6):823-832. DOI: <https://doi.org/10.1177/13634615241250220>
7. Saputra A, Kusumawardhani A, Elvira SD, et al. An item development, content validity, and feasibility study towards the Indonesian recovery scale for patients with schizophrenia. *Heliyon*. 2022;8(11):11826. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11826>
8. Чинарев ВА, Малинина ЕВ. Первый психотический эпизод: клинико-диагностические аспекты и терапевтические подходы. *Доктор.Ру*. 2024;23(7):102-112. DOI: <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2024-23-7-102-112>
9. Чинарев ВА, Малинина ЕВ. Многомерный предиктивный анализ реабилитационного потенциала у пациентов с первым психотическим эпизодом: роль терапевтической стратегии, клинико-функциональных показателей и типа отношения к болезни. Современная терапия психических расстройств. 2025;(4):9-19. DOI: <https://doi.org/10.48612/psyph/3ta5-3m92-496d>
10. Peters LA, Gomersall T, Booth A, et al. Community arts, identity and recovery: A realist review of how community-based arts activities enables the identity change recovery process from serious mental illness. *Journal of Community and Applied Social Psychology*. 2024;34(1):e2751. DOI: <https://doi.org/10.1002/casp.2751>
11. Di Luzio M, Pontillo M, Villa M, et al. Clinical features and comorbidity in very early-onset schizophrenia: a systematic review. *Frontiers in Psychiatry*. 2023;14:1270799. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1270799>
12. Новик АА. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. М.: ОЛМА Медиа Групп; 2007.
13. Kay SR, Opler LA, Lindenmayer JP. Reliability and validity of the positive and negative syndrome scale for schizophrenics. *Psychiatry research*. 1988;23(1):99-110. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(88\)90038-8](https://doi.org/10.1016/0165-1781(88)90038-8)
14. Fountoulakis KN, Dragioti E, Theofilidis AT, et al. Modeling psychological function in patients with schizophrenia with the PANSS: an international multi-center study. *CNS Spectrums*. 2021;26(3):290-298. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1092852920001091>

15. Hieronymus F, Correll C, Ostergaard S. Initial severity of the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)-30, its main subscales plus the PANSS-6, and the relationship to subsequent improvement and trial dropout: a pooled participant-level analysis of 18 placebo-controlled risperidone and paliperidone trials. *Translational Psychiatry*. 2023;13(1):191. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02491-6>
16. Correll CU, Brieden A, Janetzky W. Symptomatic, functional and quality of life measures of remission in 194 outpatients with schizophrenia followed naturalistically in a 6-month, non-interventional study of aripiprazole once-monthly. *Schizophrenia*. 2023;9(1):80. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41537-023-00405-5>
17. Иванец НН, Кинкулькина МА, Авдеева ТИ, и др. Изучение возможности применения стандартизированных шкал самооценки тревоги и депрессии при обследовании больных пожилого возраста: шкалы-опросники тревоги. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016;116(6):31-41. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro20161166131-41>
18. Defar S, Abraham Y, Reta Y, et al. Health related quality of life among people with mental illness: The role of socio-clinical characteristics and level of functional disability. *Frontiers in Public Health*. 2023;11:1134032. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1134032>
19. Citrome L, Mychaskiw MA, Cortez A, et al. Clinical Outcome Assessment Instruments in Schizophrenia: A Scoping Literature Review with a Focus on the Potential of Patient-reported Outcomes. *Innovations in Clinical Neuroscience*. 2023;20(4-6):14-33. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-244X-14-197>
20. Новицкий МА, Шнайдер НА, Бугай ВА, и др. Применение параметрических и опросниковых методов исследования депрессивных и тревожных расстройств при шизофрении. *Доктор.Ру*. 2021;5(20):55-61. DOI: <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2021-20-5-55-61>
21. Litman R, Naber D, Anta L, et al. Personal and Social Functioning and Health-Related Quality of Life in Patients with Schizophrenia Treated with the Long-Acting Injectable Antipsychotic Risperidone ISM. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2023;19:219-232. DOI: <https://doi.org/10.2147/NDT.S392351>
22. Iuso S, Severo M, Trotta N, et al. Improvements in treatment adherence after family psychoeducation in patients affected by psychosis: preliminary findings. *Journal of Personalized Medicine*. 2023;13(10):1437. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm13101437>
23. Шмилович АА, Гончаренко СН. Соотношение уровня социального функционирования и выраженности психопатологии у больных параноидной шизофренией в ремиссии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016;116(3):10-14. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro20161163110-14>
24. Aunjitsakul W, Anantapong K, Jiraphan A, et al. Validation of the Thai version of the modified social functioning scale (SFS) for individuals with schizophrenia. *BMC psychiatry*. 2025;25(1):589. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-025-07049-y>
25. Гурович ИЯ, Папсуев ОО. Дифференциация подходов к изучению нарушений социального функционирования у больных шизофренией и расстройствами шизофренического спектра и инструментарий для его оценки. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2015;25(2):9-18.
26. Solmi M, Croatto G, Piva G, et al. Efficacy and acceptability of psychosocial interventions in schizophrenia: systematic overview and quality appraisal of the meta-analytic evidence. *Molecular Psychiatry*. 2023;28(1):354-368. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01727-z>
27. Tang P, Kostyrka-Allchorne K, Butura AM, et al. Reciprocal developmental pathways between future-related thinking and symptoms of adolescent depression and anxiety: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Clinical Psychology Review*. 2024;112:102465. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2024.102465>
28. Drinkwater K, Denovan A, Dagnall N, et al. The General Hopelessness Scale: Development of a measure of hopelessness for non-clinical samples. *PLoS ONE*. 2023;18(6):e0287016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287016>
29. Gajšak T, Milovac Ž, Gereš N, et al. The effect of deep repetitive transcranial magnetic stimulation with an H1 coil on hopelessness in patients with major depressive disorder: A randomized controlled trial. *World Journal of Biological Psychiatry*. 2024;25(1):16-25. DOI: <https://doi.org/10.1080/15622975.2023.2251055>

- 30.Белобрыкина ОА, Солоницына МА. "Диагностическая информативность методики "Шкала безнадежности" АТ Бека: проблемы практического применения. ПЕМ: Psychology. Educology. Medicine. 2019;1:34-61.
- 31.Bjørkly S, Laake P, Douglas K. The safe pilot study: A prospective naturalistic study with repeated measures design to test protective factors against violence in and after discharge from forensic facilities. *Psychiatry Research*. 2023;320:115017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2022.115017>
- 32.de Winter L, Jelsma A, Vermeulen JM, et al. Long-term Changes in Personal Recovery and Quality of Life Among Patients With Schizophrenia Spectrum Disorders and Different Durations of Illness: A Meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin*. 2025;51(1):37-53. DOI: <https://doi.org/10.1093/schbul/sbae045>
- 33.Sampogna G, Di Vincenzo M, Giuliani L, et al. A Systematic Review on the Effectiveness of Antipsychotic Drugs on the Quality of Life of Patients with Schizophrenia. *Brain Sciences*. 2023;13(11):1577. DOI: <https://doi.org/10.3390/brainsci13111577>
- 34.Исаева ЕР, Мухитова ЮВ. Выбор стратегий и оценка эффективности в системе психосоциальной реабилитации: современное состояние проблемы. Диагностика в медицинской (клинической) психологии: современное состояние и перспективы. Коллективная монография. М.: ООО «Сам Полиграфист»; 2016.
- 35.Hancock N, Scanlan JN, Honey A, et al. Recovery Assessment Scale - Domains and Stages (RAS-DS): Its feasibility and outcome measurement capacity. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*. 2015;49(7):624-633. DOI: <https://doi.org/10.1177/0004867414564084>
- 36.Ramesh S, Scanlan JN, Honey A, et al. Feasibility of Recovery Assessment Scale–Domains and Stages (RAS-DS) for everyday mental health practice. *Frontiers in Psychiatry*. 2024;15:1256092. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2024.1256092>
- 37.Wadham B, Andrewartha L, Lawn S, et al. A Scoping Review of Interventions Targeting the Mental Health of Australian Veterans. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2024;21(6):796. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph21060796>
- 38.Hancock N, Scanlan J, Bundy A, et al. Recovery Assessment Scale – Domains & Stages (RAS-DS) Manual - Version 3 [Электронный ресурс]. Sydney: University of Sydney; 2019 [дата обращения 19.10.2024]. URL: <https://ras-ds.net.au/wp-content/uploads/2019/09/RASDS-Manual-Version-3-2019-FINAL.pdf>
- 39.Rakitzi S, Georgila P. Recovery in Chronic Mental Health Disorders, Especially in Bipolar Disorder, and in Treatment-Resistant Bipolar Disorder. In: *Treatment-Resistant Bipolar Disorder*. Springer; 2024. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-59001-6_2
- 40.Honey A, Hancock N, Scanlan JN. Staff perceptions of factors affecting the use of RAS-DS to support collaborative mental health practice. *BMC Psychiatry*. 2023;23(1):500. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04996-2>
- 41.Felix S, Valery KM, Caiada M, et al. Personal recovery self-report outcome measures in serious mental illness: A systematic review of measurement properties. *Clinical Psychology Review*. 2024;112:102459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2024.102459>
- 42.Pestoff R, Danielsson H, McAllister M, et al. Translation, cross-cultural adaptation, and preliminary validation of a patient-reported outcome measure for genetic counseling outcomes in Sweden. *Journal of Genetic Counseling*. 2024;34(1):e1896. DOI: <https://doi.org/10.1002/jgc4.1896>
- 43.Владимирова ИС, Круглова ЛС, Свиридов ОВ, и др. Возможности применения стандартизированных шкал самооценки тревоги и депрессии при обследовании больных псориазом: шкалы-опросники депрессии. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2024;2:23-29. DOI: <https://doi.org/10.48612/cgma/be3v-8dha-2nxf>
- 44.Beyene M, Teferra S, Fenta T. Symptomatic remission and its associated factors among patients with schizophrenia on risperidone or olanzapine at Amanuel mental specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *Middle East Current Psychiatry*. 2024;31(1):50. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43045-024-00440-7>
- 45.Kalkbrenner MT. Choosing between Cronbach’s coefficient alpha, McDonald’s coefficient omega, and coefficient H: Confidence intervals and the advantages and drawbacks of interpretive guidelines. *Measurement and Evaluation in Counseling and Development*. 2024;57(2):93-105. DOI: <https://doi.org/10.1080/07481756.2023.2283637>
- 46.Doal E, Viladrich C, Angulo-Brunet A. Coefficient alpha: the resistance of a classic.

Psicothema. 2023;35(1):5. DOI:
<https://dx.doi.org/10.7334/psicothema2022.321>

References

1. Schmuckler AB. Clinical and psychopathological approach in the system of rehabilitation of mentally ill people. *Social and Clinical Psychiatry*. 2020;30(1):8-12. Russian.
2. Chan JKN, Correll CU, Wong CSM, et al. Life expectancy and years of potential life lost in people with mental disorders: a systematic review and meta-analysis. *eClinicalMedicine*. 2023;65:102294. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102294>
3. Subandi MA, Nihayah M, Marchira CR, et al. The principles of recovery-oriented mental health services: A review of the guidelines from five different countries for developing a protocol to be implemented in Yogyakarta, Indonesia. *PLoS ONE*. 2023;18(3):e0276802. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276802>
4. Ma M, Shi Z, Chen Y, et al. Recovery journey of people with a lived experience of schizophrenia: a qualitative study of experiences. *BMC Psychiatry*. 2023;23(1):468. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04862-1>
5. Kornilov SA, Kornilova TV. Meta-analytical research in psychology. *Psychological Journal*. 2010;5(34):5-17. Russian.
6. Khemthong S, Scanlan J, Hancock N. Measurement properties of the Thai translation of the Recovery Assessment Scale – Domains and Stages (RAS-DS) and comparison of recovery experiences between Thai and Australian consumers living with serious mental illness. *Transcultural Psychiatry*. 2024;61(6):823-832. DOI: <https://doi.org/10.1177/13634615241250220>
7. Saputra A, Kusumawardhani A, Elvira SD, et al. An item development, content validity, and feasibility study towards the Indonesian recovery scale for patients with schizophrenia. *Heliyon*. 2022;8(11):11826. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11826>
8. Chinarev VA, Malinina EV. The first psychotic episode: clinical and diagnostic aspects and therapeutic approaches. *Doctor.Ru*. 2024;23(7):102-112. DOI: <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2024-23-7-102-112>. Russian.
9. Chinarev VA, Malinina EV. Multidimensional predictive analysis of rehabilitation potential in patients with a first psychotic episode: the role of therapeutic strategy, clinical and functional indicators and type of attitude towards the disease. *Modern Therapy of Psychiatric Disorders*. 2025;(4):9-19. DOI: <https://doi.org/10.48612/psyph/3ta5-3m92-496d>. Russian.
10. Peters LA, Gomersall T, Booth A, et al. Community arts, identity and recovery: A realist review of how community-based arts activities enables the identity change recovery process from serious mental illness. *Journal of Community and Applied Social Psychology*. 2024;34(1):e2751. DOI: <https://doi.org/10.1002/casp.2751>
11. Di Luzio M, Pontillo M, Villa M, et al. Clinical features and comorbidity in very early-onset schizophrenia: a systematic review. *Frontiers in Psychiatry*. 2023;14:1270799. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1270799>
12. Novik AA. Guidelines for the study of quality of life in medicine. Moscow: OLMA Media Group; 2007. Russian.
13. Kay SR, Opler LA, Lindenmayer JP. Reliability and validity of the positive and negative syndrome scale for schizophrenics. *Psychiatry research*. 1988;23(1):99-110. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(88\)90038-8](https://doi.org/10.1016/0165-1781(88)90038-8)
14. Fountoulakis KN, Dragioti E, Theofilidis AT, et al. Modeling psychological function in patients with schizophrenia with the PANSS: an international multi-center study. *CNS Spectrums*. 2021;26(3):290-298. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1092852920001091>
15. Hieronymus F, Correll C, Ostergaard S. Initial severity of the Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)-30, its main subscales plus the PANSS-6, and the relationship to subsequent improvement and trial dropout: a pooled participant-level analysis of 18 placebo-controlled risperidone and paliperidone trials. *Translational Psychiatry*. 2023;13(1):191. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02491-6>
16. Correll CU, Brieden A, Janetzky W. Symptomatic, functional and quality of life measures of remission in 194 outpatients with schizophrenia followed naturalistically in a 6-month, non-interventional study of aripiprazole once-monthly. *Schizophrenia*. 2023;9(1):80. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41537-023-00405-5>
17. Ivanets NN, Kinkul'kina MA, Avdeeva TI, et al. The possibility of using standardized self-report anxiety and depression scales in elderly patients: anxiety scales/questionnaires. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2016;116(6):31-41. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro20161166131-41>

18. Defar S, Abraham Y, Reta Y, et al. Health related quality of life among people with mental illness: The role of socio-clinical characteristics and level of functional disability. *Frontiers in Public Health*. 2023;11:1134032. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1134032>
19. Citrome L, Mychaskiw MA, Cortez A, et al. Clinical Outcome Assessment Instruments in Schizophrenia: A Scoping Literature Review with a Focus on the Potential of Patient-reported Outcomes. *Innovations in Clinical Neuroscience*. 2023;20(4-6):14-33. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-244X-14-197>
20. Novitsky MA, Schneider NA, Bugai VA, et al. The use of parametric and questionnaire methods for the study of depressive and anxiety disorders in schizophrenia. *Doctor.Ru*. 2021;5(20):55-61. Russian. DOI: <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2021-20-5-55-61>
21. Litman R, Naber D, Anta L, et al. Personal and Social Functioning and Health-Related Quality of Life in Patients with Schizophrenia Treated with the Long-Acting Injectable Antipsychotic Risperidone ISM. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2023;19:219-232. DOI: <https://doi.org/10.2147/NDT.S392351>
22. Iuso S, Severo M, Trotta N, et al. Improvements in treatment adherence after family psychoeducation in patients affected by psychosis: preliminary findings. *Journal of Personalized Medicine*. 2023;13(10):1437. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm13101437>
23. Shmilovich AA, Goncharenko SN. Correlations between the level of social functioning and the severity of psychopathology in patients with paranoid schizophrenia in remission. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2016;116(3):10-14. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17116/jnevro20161163110-14>
24. Aunjitsakul W, Anantapong K, Jiraphan A, et al. Validation of the Thai version of the modified social functioning scale (SFS) for individuals with schizophrenia. *BMC psychiatry*. 2025;25(1):589. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-025-07049-y>
25. Gurovich IYA, Papsuev O. Differentiation of approaches to the study of disorders of social functioning in patients with schizophrenia and schizophrenic spectrum disorders and tools for its assessment. *Social and Clinical Psychiatry*. 2015;25(2):9-18. Russian.
26. Solmi M, Croatto G, Piva G, et al. Efficacy and acceptability of psychosocial interventions in schizophrenia: systematic overview and quality appraisal of the meta-analytic evidence. *Molecular Psychiatry*. 2023;28(1):354-368. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01727-z>
27. Tang P, Kostyrka-Allchorne K, Butura AM, et al. Reciprocal developmental pathways between future-related thinking and symptoms of adolescent depression and anxiety: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Clinical Psychology Review*. 2024;112:102465. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2024.102465>
28. Drinkwater K, Denovan A, Dagnall N, et al. The General Hopelessness Scale: Development of a measure of hopelessness for non-clinical samples. *PLoS ONE*. 2023;18(6):e0287016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287016>
29. Gajšak T, Milovac Ž, Gereš N, et al. The effect of deep repetitive transcranial magnetic stimulation with an H1 coil on hopelessness in patients with major depressive disorder: A randomized controlled trial. *World Journal of Biological Psychiatry*. 2024;25(1):16-25. DOI: <https://doi.org/10.1080/15622975.2023.2251055>
30. Belobrykina OA, Solonitsyna MA. Diagnostic informativeness of the AT Beck Scale of Hopelessness technique: problems of practical application. *PEM: Psychology. Educology. Medicine*. 2019;1:34-61. Russian.
31. Bjørkly S, Laake P, Douglas K. The safe pilot study: A prospective naturalistic study with repeated measures design to test protective factors against violence in and after discharge from forensic facilities. *Psychiatry Research*. 2023;320:115017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2022.115017>
32. de Winter L, Jelsma A, Vermeulen JM, et al. Long-term Changes in Personal Recovery and Quality of Life Among Patients With Schizophrenia Spectrum Disorders and Different Durations of Illness: A Meta-analysis. *Schizophrenia Bulletin*. 2025;51(1):37-53. DOI: <https://doi.org/10.1093/schbul/sbae045>
33. Sampogna G, Di Vincenzo M, Giuliani L, et al. A Systematic Review on the Effectiveness of Antipsychotic Drugs on the Quality of Life of Patients with Schizophrenia. *Brain Sciences*. 2023;13(11):1577. DOI: <https://doi.org/10.3390/brainsci13111577>
34. Isaeva ER, Mukhitova SE. The choice of strategies and evaluation of effectiveness in the system of psychosocial rehabilitation: the current

state of the problem. Diagnostics in medical (clinical) psychology: current state and prospects. Collective monograph. Moscow: Sam Poligrafist; 2016. Russian.

35. Hancock N, Scanlan JN, Honey A, et al. Recovery Assessment Scale - Domains and Stages (RAS-DS): Its feasibility and outcome measurement capacity. Australian and New Zealand Journal of Psychiatry. 2015;49(7):624-633. DOI: <https://doi.org/10.1177/0004867414564084>

36. Ramesh S, Scanlan JN, Honey A, et al. Feasibility of Recovery Assessment Scale - Domains and Stages (RAS-DS) for everyday mental health practice. Frontiers in Psychiatry. 2024;15:1256092. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2024.1256092>

37. Wadham B, Andrewartha L, Lawn S, et al. A Scoping Review of Interventions Targeting the Mental Health of Australian Veterans. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2024;21(6):796. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph21060796>

38. Hancock N, Scanlan J, Bundy A, et al. Recovery Assessment Scale - Domains & Stages (RAS-DS) Manual - Version 3 [Internet]. Sydney: University of Sydney; 2019 [cited 2024 Oct 19]. Available from: <https://ras-ds.net.au/wp-content/uploads/2019/09/RASDS-Manual-Version-3-2019-FINAL.pdf>

39. Rakitzi S, Georgila P. Recovery in Chronic Mental Health Disorders, Especially in Bipolar Disorder, and in Treatment-Resistant Bipolar Disorder. In: Treatment-Resistant Bipolar Disorder. Springer; 2024. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-59001-6_2

40. Honey A, Hancock N, Scanlan JN. Staff perceptions of factors affecting the use of RAS-DS to support collaborative mental health practice. BMC Psychiatry. 2023;23(1):500. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04996-2>

41. Felix S, Valery KM, Caiada M, et al. Personal recovery self-report outcome measures in serious mental illness: A systematic review of measurement properties. Clinical Psychology Review. 2024;112:102459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2024.102459>

42. Pestoff R, Danielsson H, McAllister M, et al. Translation, cross-cultural adaptation, and preliminary validation of a patient-reported outcome measure for genetic counseling outcomes in Sweden. Journal of Genetic Counseling. 2024;34(1):e1896. DOI: <https://doi.org/10.1002/jgc4.1896>

43. Vladimirova IS, Kruglova LS, Sviridov OV, et al. Potentials of standardized self-assessment scales for anxiety and depression applied in patients with psoriasis: scales-questionnaires for depression. Kremlin medicine. Clinical Bulletin. 2024;2:23-29. Russian. DOI: <https://doi.org/10.48612/cgma/be3v-8dha-2nxf>

44. Beyene M, Teferra S, Fenta T. Symptomatic remission and its associated factors among patients with schizophrenia on risperidone or olanzapine at Amanuel mental specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. Middle East Current Psychiatry. 2024;31(1):50. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43045-024-00440-7>

45. Kalkbrenner MT. Choosing between Cronbach's coefficient alpha, McDonald's coefficient omega, and coefficient H: Confidence intervals and the advantages and drawbacks of interpretive guidelines. Measurement and Evaluation in Counseling and Development. 2024;57(2):93-105. DOI: <https://doi.org/10.1080/07481756.2023.2283637>

46. Doval E, Viladrich C, Angulo-Brunet A. Coefficient alpha: the resistance of a classic. Psicothema. 2023;35(1):5. DOI: <https://dx.doi.org/10.7334/psicothema2022.321>

Статья поступила в редакцию 19 октября 2024 г.

Поступила после доработки 17 января 2025 г.

Принята к печати 27 января 2025 г.

Received 19 October 2024

Revised 17 January 2025

Accepted 27 January 2025

Информация об авторах

Виталий Александрович Чинарев, врач-психиатр, заведующий клиническим отделением первого психотического эпизода ГБУЗ «Областная клиническая специализированная психоневрологическая больница №1»; ассистент кафедры психиатрии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Российская Федерация, E-mail: va.chinarev@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3471-5293>.

Елена Викторовна Малинина, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой психиатрии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Российская Федерация, E-mail: malinina.e@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5811-4428>.

Мария Дмитриевна Обухова, студент ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Российская Федерация, E-mail: maria.obuhova2014@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-3356-1162>.

Information about the authors

Vitaly A. Chinarev, Psychiatrist, Head of the Clinical Psychiatric Department of the Primary Episode, Regional Clinical Specialized Neuropsychiatric Hospital No.1; Assistant at the Department of Psychiatry, South Ural State

Medical University, Chelyabinsk, Russia, E-mail: va.chinarev@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3471-5293>.

Elena V. Malinina, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Psychiatry, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, E-mail: malinina.e@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5811-4428>.

Maria D. Obukhova, Student, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, E-mail: maria.obuhova2014@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-3356-1162>.