

# ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ИЗУЧЕНИЮ ВЗАИМОСВЯЗИ ИЗМЕНЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК $\beta$ 1- И $\beta$ 2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ $\beta$ 2-АГОНИСТОВ С КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ПАРАМЕТРАМИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Е.В. Смолякова<sup>1,2</sup>, Ю.С. Скоблов<sup>3</sup>, Н.А. Скоблова<sup>3</sup>, А.В. Рвачева<sup>1,4</sup>, О.В. Бондарец<sup>1</sup>,  
А.В. Еременко<sup>1,2</sup>, И.А. Келехсаев<sup>1</sup>, И.Е. Чазова<sup>4</sup>, К.А. Зыков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии, Москва, Российская Федерация

**Обоснование.** Наличие коморбидной сердечно-сосудистой и бронхообструктивной патологии ухудшает течение и прогноз у пациентов и вызывает сложности в подборе медикаментозной терапии. Основой лечения пациентов с бронхообструктивной патологией являются  $\beta$ 2-агонисты, а их эффективность напрямую зависит от активности  $\beta$ -адренорецепторного звена, ввиду чего, с клинической точки зрения, необходимо подробное изучение функционального состояния  $\beta$ -адренорецепторов. **Цель исследования** — оценить взаимосвязь изменений характеристик  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-адренорецепторов на фоне использования коротко- и длительно действующих  $\beta$ 2-агонистов у больных сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями с клинически значимыми параметрами. **Методы.** В пилотное одноцентровое проспективное исследование включено 45 пациентов, из них 15 с сердечно-сосудистыми и 30 с бронхообструктивными заболеваниями. Длительность исследования составила 2,5 года. Всем пациентам проводился сбор жалоб и данных анамнеза, а также полный комплекс лабораторно-инструментальных исследований. Модифицированным радиолигандным анализом на Т-лимфоцитах периферической крови человека с применением  $I^{125}$ цианопиндолола и немеченых высокоселективных лигандов (ICI 118551, CGP 20712) исходно и после выполнения острой пробы с  $\beta$ 2-агонистом короткого и длительного действия определяли активность связывания  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-адренорецепторов. **Результаты.** Проведенный корреляционный анализ между клиническими данными и изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-адренорецепторов подтвердил клиническую релевантность данной величины, выявив тесную связь с клинически значимыми параметрами. При проведении пробы с сальбутамолом и формотеролом у пациентов с сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 1-адренорецепторов ассоциировано с клиническими, лабораторными и инструментальными параметрами благоприятного течения заболевания, а повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 2-адренорецепторов — с отрицательными. У пациентов группы сердечно-сосудистых патологий без бронхообструктивных заболеваний при назначении сальбутамола повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 1-адренорецепторов ассоциировалось с неблагоприятными параметрами течения заболевания, в то время как повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 2-адренорецепторов не имело четкой ассоциативной связи с данными клинической характеристики пациентов. **Заключение.** Выявлена связь изменений индекса специфического связывания  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-адренорецепторов у больных сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями с клинически значимыми параметрами при проведении острых проб с  $\beta$ 2-агонистами короткого и длительного действия, что в дальнейшем поможет выявлять пациентов с неблагоприятным течением заболевания.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистые заболевания; кардиореспираторная патология; бронхообструктивные заболевания;  $\beta$ -адренорецепторы;  $\beta$ 2-агонисты.

**Для цитирования:** Смолякова Е.В., Скоблов Ю.С., Скоблова Н.А., Рвачева А.В., Бондарец О.В., Еременко А.В., Келехсаев И.А., Чазова И.Е., Зыков К.А. Пилотное исследование по изучению взаимосвязи изменения характеристик  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-адренорецепторов на фоне применения  $\beta$ 2-агонистов с клинически значимыми параметрами у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. Клиническая практика. 2023;14(1):66–76. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract117542>

Поступила 15.12.2022

Принята 03.03.2023

Опубликована 31.03.2023

# A PILOT STUDY TO DETERMINE THE RELATIONSHIP OF CHANGES IN THE CHARACTERISTICS OF $\beta$ 1- AND $\beta$ 2-ADRENORECEPTORS AGAINST THE BACKGROUND OF THE USE OF $\beta$ 2-AGONISTS WITH CLINICALLY SIGNIFICANT PARAMETERS IN PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR PATHOLOGY

E.V. Smolyakova<sup>1,2</sup>, Y.S. Skoblov<sup>3</sup>, N.A. Skoblova<sup>3</sup>, A.V. Rvacheva<sup>1,4</sup>, O.V. Bondarets<sup>1</sup>, A.V. Eremenko<sup>1,2</sup>, I.A. Kelekhsaev<sup>1</sup>, I.E. Chazova<sup>4</sup>, K.A. Zykov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Pulmonology Scientific Research Institute, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

**Background:** Comorbid cardiovascular and bronchoobstructive diseases worsens disease course and prognosis and causes difficulties in therapy. Effectiveness  $\beta$ 2-agonists (cornerstone of bronchoobstructive pathology treatment) depends on  $\beta$ -adrenoreceptors state. Therefore, a detailed study of the functional state of beta-adrenoreceptors is necessary. **Aim:** to evaluate the relationship of changes in the characteristics of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenoreceptors, against the background of the use of  $\beta$ 2-agonists in patients with cardiovascular and bronchoobstructive diseases with clinically significant parameters. **Methods:** In the pilot single-center prospective study during 2.5 years 45 patients (15 with cardiovascular and 30 with bronchoobstructive diseases) were included. Anamnestic data and complaints were collected and laboratory and instrumental studies were performed. Modified radioligand analysis on blood T-lymphocytes using radiolabeled Cyanopindolol and unlabeled selective ligands (ICI 118551, CGP 20712) before and after salbutamol and formoterol was performed and the binding activity of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenoreceptors was determined. **Results:** The correlation analysis between clinically significant parameters and changes in the specific binding index of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenoreceptors confirmed its clinical relevance. In test with beta-agonists in cardiovascular and bronchoobstructive diseases patients, an increase in the specific binding index of  $\beta$ 1-adrenoreceptors is associated with clinical, laboratory and instrumental parameters of a favorable course of the disease, and an increase in the specific binding index of  $\beta$ 2-adrenoreceptors is associated with negative. In the cardiovascular group without bronchoobstructive diseases with salbutamol an increase in the specific binding index of  $\beta$ 1-adrenoreceptors was associated with parameters of unfavorable disease course, while an increase in the specific binding index of  $\beta$ 2-adrenoreceptors did not have a clear associative relationship with clinical characteristics. **Conclusions:** The association of changes in the specific binding index of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenoreceptors in patients with cardiovascular and bronchoobstructive diseases with clinically significant parameters during acute tests with short- and long-acting  $\beta$ 2-agonists was revealed, which in the future may provide an opportunity to identify patients with an unfavorable course of the disease.

**Keywords:** cardiovascular diseases; cardiorespiratory pathology; bronchoobstructive diseases;  $\beta$ -adrenergic receptors;  $\beta$ 2-agonists.

**For citation:** Smolyakova EV, Skoblov YS, Skoblova NA, Rvacheva AV, Bondarets OV, Eremenko AV, Kelekhsaev IA, Chazova IE, Zykov KA. A Pilot Study to Determine the Relationship of Changes in the Characteristics of  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenoreceptors Against the Background of the Use of  $\beta$ 2-agonists with Clinically Significant Parameters in Patients with Cardiovascular Pathology. *Journal of Clinical Practice*. 2023;14(1):66–76. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract117542>

## ОБОСНОВАНИЕ

В клинической практике отмечается значительный рост как сердечно-сосудистых и бронхообструктивных заболеваний, так и их сочетаний<sup>1</sup>. Это обусловлено наличием общих факторов риска [1–3] и схожестью механизмов патогенеза [4–6]. Наличие сочетанной кардиореспираторной патологии не только ухудшает течение и прогноз у пациентов, но и вызывает большие сложности в подборе медикаментозной терапии. Так,  $\beta_2$ -агонисты являются краеугольным камнем в лечении пациентов с бронхообструктивной патологией [7], однако, несмотря на большое количество проведенных исследований, доказавших их эффективность, до настоящего времени существуют противоречивые данные относительно безопасности использования бронходилататоров при сердечно-сосудистых заболеваниях [8].

Назначение  $\beta_2$ -агонистов у некоторых пациентов может приводить к увеличению частоты сердечных сокращений, снижению концентрации калия, повышению риска развития аритмий и ишемии миокарда при сердечно-сосудистых заболеваниях по сравнению с плацебо [9–11]. Авторами обсуждалась дозозависимость побочных реакций принимаемых препаратов, при этом, возможно, появление нежелательных кардиоваскулярных эффектов было связано со снижением экспрессии и аффинности  $\beta_2$ -адренорецепторов на фоне применения высоких дозировок короткодействующих  $\beta_2$ -агонистов [12] и перекрестным влиянием препаратов на схожие по строению и близкие по расположению  $\beta_1$ -адренорецепторы. Другой возможной причиной являются межрецепторные взаимодействия на уровне вторичных мессенджеров. Можно предположить, что более подробное изучение изменений, происходящих на уровне адренорецепторов, позволит выявлять развитие побочных эффектов на фоне приема назначаемой терапии, а также прогнозировать течение и исход заболевания пациентов с сочетанной кардиореспираторной патологией.

Наиболее точным методом, позволяющим изучать экспрессию и аффинность  $\beta$ -адренорецепторов, является классический радиолигандный анализ. Принимая во внимание сложности проведения данного метода, использование его в клинической практике не представлялось возможным, поэтому

на его основе нами был разработан и запатентован новый модифицированный радиолигандный анализ. Данный метод позволяет регистрировать активность связывания  $\beta$ -адренорецепторов на Т-лимфоцитах периферической крови с использованием  $I^{125}$ цианопиндолола. Под активностью связывания  $\beta$ -адренорецепторов понимается способность рецептора связывать регистрируемое количество меченого лиганда в строго определенных условиях (выраженное в имп./мин на  $10^6$  клеток) [13, 14]. По сути, это представляет собой функциональный интегральный параметр, изменение которого отражает реакцию адренорецепторной системы на воздействие специфических лигандов (препаратов).

В своей работе мы определяли изменения интегрального параметра в острых пробах с  $\beta_2$ -агонистами. При этом важным являлся вопрос о клинической релевантности этого параметра, для оценки которой требуется проведение широкомасштабного корреляционного анализа изменений активности связывания под влиянием препаратов с клинически значимыми анамнестическими и клинико-лабораторными параметрами пациентов с сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями.

**Цель исследования** — оценить взаимосвязь изменений характеристик  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов на фоне использования коротко- и длительно действующих  $\beta_2$ -агонистов у больных с сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями с клинически значимыми параметрами.

## МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

Пилотное одноцентровое проспективное.

### Критерии соответствия

**Критерии включения:** пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями в состоянии компенсации и без острой патологии на момент включения; пациенты с бронхообструктивными заболеваниями вне обострения и после исключения тяжелой степени течения заболевания.

**Критерии не включения:** противопоказания к назначению селективных бета1-адреноблокаторов и бета2-агонистов; тяжелые сердечно-сосудистые заболевания (острое нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда менее 6 месяцев до включения в исследование, нестабильная стенокардия, нарушения ритма сердца высоких градаций); обострение бронхиальной астмы, хрони-

<sup>1</sup> World Health Organization, 2022 (<https://www.who.int>); Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (GOLD), 2020 ([https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2019/12/GOLD-2020-FINAL-ver1.2-03Dec19\\_WMV.pdf](https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2019/12/GOLD-2020-FINAL-ver1.2-03Dec19_WMV.pdf)).

ческая обструктивная болезнь легких менее чем за 1 месяц до включения в исследование; онкологические заболевания; беременность или грудное вскармливание; клинические состояния, препятствующие, по мнению врача, участию в исследовании; одновременное участие в другом клиническом исследовании.

### Условия проведения

Исследование проведено на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России (отделение гипертонии) и лаборатории иммунопатологии сердечно-сосудистых заболеваний отдела нейрогуморальных и иммунологических исследований совместно с ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН в подразделении изотопного блока.

Продолжительность исследования составила 2,5 года.

### Описание медицинского вмешательства

Включенные в исследование пациенты ( $n=45$ ) были разделены на две группы: с сердечно-сосудистой патологией без бронхообструктивных заболеваний ( $n=15$ ;  $67\pm 8,54$  года; 9 мужчин и 6 женщин; группа 1) и с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией ( $n=30$ ;  $66,97\pm 9,84$  года; 18 мужчин и 12 женщин; группа 2).

Всем пациентам проводилось обследование, включающее сбор данных: антропометрических, анамнестических (длительность течения и стадия заболевания, наличие сопутствующей патологии и ее длительность, влияние внешних факторов, курение), инструментальных (электрокардиографических, суточного мониторирования артериального давления и электрокардиограммы, эхокардиографических, показателей функции внешнего дыхания) и лабораторных (общий и биохимический анализы крови, определение С-реактивного белка и эозинофильного катионного белка, а также оксида азота в выдыхаемом воздухе).

При проведении инициального бронходилатационного теста использовался сальбутамол (400 мкг), после чего пациентам с бронхообструктивными заболеваниями назначался длительный прием формотерола в дозе 24 мкг/сут.

Забор крови проводился исходно на чистом фоне и после проведения острой пробы с  $\beta_2$ -агонистом короткого (через 30 мин) и длительно (через 1 час) действия. Т-лимфоциты выде-

ляли с помощью набора Pan T Cell Isolation Kit II, human (Miltenyi Biotec, Германия). Полученные Т-лимфоциты для повышения достоверности инкубировались в триплетах с немечеными лигандами CGP20712 ( $\beta_1$ -адренорецепторы), ICI118551 ( $\beta_2$ -адренорецепторы) и с добавлением раствора [125I]цианопиндола в каждую пробу. После проведения всех этапов инкубации клеточный осадок просчитывали на  $\gamma$ -счетчике Wallac Wizard 1470 (PerkinElmer, США) с измерением количества радиоактивного материала в каждой пробе, на основании чего рассчитывались значения активности связывания  $\beta$ -адренорецепторов [13, 14].

Абсолютные значения активности связывания  $\beta$ -адренорецепторов имеют очень большой разброс, в связи с чем понятие «нормальных значений» ввести не представляется возможным. Для расчетов использовался индекс специфического связывания — безразмерная величина, отражающая долю специфического связывания рецепторов от общего специфического связывания (абсолютные значения активности связывания  $\beta$ -адренорецепторов (имп./мин.) / значения общего специфического связывания) [13, 14]. Таким образом, полученные данные оказываются в единой системе координат, что дает возможность сравнивать их между собой. Принимая во внимание, что разброс в параллелях эксперимента не должен превышать 7–10%, то для исключения погрешности в методике использовали «серую зону» в диапазоне  $\pm 7\%$ , учитывающую величину допустимого разброса. В статистических расчетах достоверным считалось только повышение или снижение индекса специфического связывания  $>7\%$ .

### Исходы исследования

Конечной точкой нашего исследования было определение изменения индекса специфического связывания на фоне назначения  $\beta_2$ -агонистов.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено независимым этическим комитетом клинических исследований ФГБУ НМИЦК Минздрава России по вопросам этики в клинической кардиологии (протокол № 220 от 31 октября 2016 года). Все пациенты подписывали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

### Статистический анализ

Исследование носило пилотный характер, в связи с чем мощность выборки не определялась.



Статистическая обработка данных была выполнена с использованием свободного программного обеспечения PSPP 1.2.0 (Проект GNU, разработчик Ben Pfaff). Для количественных переменных в случае нормального распределения использовали среднее±стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ) или медиану и перцентили [25; 75] для непараметрических показателей. Корреляционный анализ проводили с использованием ранговой корреляции Спирмена при непараметрическом распределении или для качественных признаков. Для определения линейных связей между показателями рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Объекты (участники) исследования

Обследовано 45 пациентов, разделенных на группы: в первую вошли 15 человек с сердечно-сосудистыми заболеваниями без бронхообструктивных патологий ( $67 \pm 8,54$  года, 9 мужчин и 6 женщин),

во вторую — 30 пациентов с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией ( $66,97 \pm 9,84$  года, 18 мужчин и 12 женщин).

Пациенты второй группы отличались достоверно большим стажем курения и более высоким уровнем эозинофилов крови (в %), эозинофильного катионного протеина, С-реактивного белка и более низкими показателями объема форсированного выдоха за 1 секунду (% от должного) (табл. 1).

### Основные результаты исследования

В ходе проведенного корреляционного анализа между массивом клинических данных и изменением индекса специфического связывания  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов при проведении острой пробы с  $\beta_2$ -агонистами (формотерол, сальбутамол) были получены следующие данные (табл. 2 и 3).

В табл. 2 продемонстрированы данные пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями с/без бронхообструктивных патологий, с изменением индекса специфического связывания  $\beta$ -адренорецепторов

Таблица 1 / Table 1

Клиническая характеристика пациентов /  
Clinical characteristics of patients

Характеристика	Группа 1 (n=15)	Группа 2 (n=30)
Курение в анамнезе, %	6,7	60,0*
САД/ДАД, мм рт.ст.	133/81±8/4	128/79±10/4,7
ЧСС, уд./мин	67,3±4,3	69,9±9,5
АО, см	3,3±0,3	3,4±0,4
ЛП, см	3,9±0,3	3,9±0,5
ИММЛЖ, г/м <sup>2</sup>	93,4±20,3	102,5±31,6
ФВ, %	58,7±2,9	57,9±6,9
ОФВ <sub>1</sub> , % от должного	104±14,2	76,0±14,8*
Холестерин, ммоль/л	4,6±0,9	4,3±1,2
Триглицериды, ммоль/л	1,7±0,6	1,31±0,6
Глюкоза, ммоль/л	6±1,3	5,6±1,7
Калий, ммоль/л	4,7±0,4	4,7±0,5
Эозинофилы, %	1,6±1,7	3±3,2*
СОЭ, мм/ч	8,6±8,9	9,5±12
СРБ, мг/л	0,8±1,9	1,8±6,2*
ЭКП, мкг/л	10,1±7,3	15,3±13,6*

**Примечание.** \*  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде  $M \pm SD$  и % от общего числа пациентов. САД/ДАД — систолическое/диастолическое артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; АО — аорта; ЛП — левое предсердие; ИММЛЖ — индекс массы миокарда левого желудочка; ФВ — фракция выброса; ОФВ<sub>1</sub> — объем форсированного выдоха за первую секунду; СОЭ — скорость оседания эритроцитов; СРБ — С-реактивный белок; ЭКП — эозинофильный катионный протеин.

**Note:** \*  $p < 0,05$ . Data are presented as  $M \pm SD$  and % of the total number of patients. САД/ДАД — systolic/diastolic blood pressure; ЧСС — heart rate; АО — aorta; ЛП — left atrium; ИММЛЖ — left ventricular myocardial mass index; ФВ — ejection fraction; ОФВ<sub>1</sub> — forced expiratory volume in the first second; СОЭ — erythrocyte sedimentation rate; СРБ — C-reactive protein; ЭКП — eosinophilic cationic protein.

Таблица 2 / Table 2

**Корреляция между исследуемыми параметрами и изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 1-,  $\beta$ 2-адренорецепторов на фоне приема сальбутамола у наблюдаемых пациентов /**  
**Correlation between the studied parameters and changes in the specific binding index of  $\beta$ 1-,  $\beta$ 2-adrenoreceptors in patients**

Параметры	ССЗ (n=11)	ССЗ (n=10)	ССЗ и БОЗ (n=19)	ССЗ и БОЗ (n=21)
	Изменение ИСС $\beta$ 1-АР	Изменение ИСС $\beta$ 2-АР	Изменение ИСС $\beta$ 1-АР	Изменение ИСС $\beta$ 2-АР
	Коэффициент корреляции			
АД, мм рт.ст.	0,69	-	-	-
ЧСС, уд./мин	0,77	0,55	-	0,55
ФЖЕЛ, л	-	0,55	-	-0,47
ОФВ <sub>1</sub> , л	-	0,69	-	-0,45
САТ (суммарно)	-0,62	0,53	-	-
АСТ (суммарно)	-	-0,78	0,53	-
mMRC (суммарно)	-	-	-	0,53
Длительность ИБС, лет	0,75	-	-	-
ИБС в анамнезе	-	-	-0,64	-
Длительность АГ, лет	0,56	0,52	-0,47	-
Стадия АГ	-	-	-0,47	-
Длительность ХОБЛ, лет	-	-	-0,42	-
Моноциты, %	0,68	-0,47	-0,42	-
Базофилы, тыс./мкл	0,69	-	-	-
Лейкоциты, тыс./мкл	-	-0,50	-	-
Тромбоциты, $10^9$ /л	-	-	-	0,49
Лимфоциты, %	-	-	-	0,41
Глюкоза, ммоль/л	-	-	-0,46	-

**Примечание.** Уровень значимости ( $p$ ) для всех критериев  $<0,05$ . Количество пациентов в группах соответствует числу больных с изменением ИСС  $\beta$ 1,2-АР  $>7\%$  от исходного уровня. ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания; БОЗ — бронхообструктивные заболевания; ИСС — индекс специфического связывания;  $\beta$ 1-АР/ $\beta$ 2-АР —  $\beta$ 1-/ $\beta$ 2-адренорецепторы; АД — артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких; ОФВ<sub>1</sub> — объем форсированного выдоха за первую секунду; САТ (COPD Assessment Test) — оценочный тест по хронической обструктивной болезни легких; АСТ (Asthma Control Test) — тест по контролю над астмой; mMRC (modified Medical Research Council) — шкала одышки Комитета медицинских исследований; ИБС — ишемическая болезнь сердца; АГ — артериальная гипертензия; ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких.

**Note:** The level of significance for all criteria was  $p < 0.05$ . The number of patients in the groups corresponds to the number of patients with a change in the specific binding index of  $\beta$ 1,2-AR  $>7\%$  of the baseline level. CC3 — cardiovascular diseases; BO3 — bronchoobstructive diseases; ICC — specific binding index;  $\beta$ 1-AR/ $\beta$ 2-AR —  $\beta$ 1-/ $\beta$ 2-adrenoreceptors; АД — blood pressure; ЧСС — heart rate; ФЖЕЛ — forced vital capacity of the lungs; ОФВ<sub>1</sub> — forced expiratory volume in the first second; САТ (COPD Assessment Test) — evaluation test for chronic obstructive pulmonary lung diseases; АСТ (Asthma Control Test) — asthma control test; mMRC (modified Medical Research Council) — shortness of breath scale of the Medical Research Committee; ИБС — coronary heart disease; АГ — arterial hypertension; ХОБЛ — chronic obstructive pulmonary disease.

$>7\%$  от исходного уровня на фоне приема сальбутамола. В группу с сердечно-сосудистыми заболеваниями без бронхообструктивных патологий с изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 1-адренорецепторов вошло 11 человек, а с изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 2-адренорецепторов — 10. В этой группе повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 1-адренорецепторов имело четкую ассоциатив-

ную связь с неблагоприятными клинико-лабораторными и инструментальными параметрами, в то время как по изменениям индекса специфического связывания  $\beta$ 2-адренорецепторов однозначно судить нельзя.

Количество пациентов в группе с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией с изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 1-адренорецепторов составило 19 человек,

Таблица 3 / Table 3

**Корреляция между исследуемыми параметрами и изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 1-,  $\beta$ 2-адренорецепторов на фоне приема формотерола у наблюдаемых пациентов /**  
**Correlation between the studied parameters and changes in the specific binding index of  $\beta$ 1-,  $\beta$ 2-adrenoreceptors in patients**

Параметры	ССЗ и БОЗ (n=20)	ССЗ и БОЗ (n=21)
	Изменение ИСС $\beta$ 1-АР	Изменение ИСС $\beta$ 2-АР
	Коэффициент корреляции	
АД, мм рт.ст.	-0,87	0,55
ЧСС, уд./мин	-0,66	0,60
НЖЭС, количество	-0,84	-
ЖЭС, количество	-	0,77
САТ, 3-й вопрос (ощущение сдавленности в грудной клетке)	-0,81	-
САТ, 6-й вопрос (уверенность при выходе из дома)	-0,81	-
АСТ, 1-й вопрос (воздействие астмы на повседневную жизнь)	-	-0,73
mMRC	-0,43	-
ОФВ <sub>1</sub> , л	-	-0,62
ФЖЕЛ, %	-	-0,67
НРС в анамнезе	-	0,87
Длительность АГ, лет	-0,67	-
Стадия ХОБЛ	-0,62	-
Курение в анамнезе	-0,61	0,79
Лейкоциты, $10^9$ /л	-0,75	0,61
Нейтрофилы, тыс./мкл	-0,46	0,71
СОЭ, мм/ч	-0,55	0,52
СРБ, мг/л	-	0,52

**Примечание.** Уровень значимости ( $p$ ) для всех критериев  $<0,05$ . Количество пациентов в группах соответствует числу больных с изменением ИСС  $\beta$ 1,2-АР  $>7\%$  от исходного уровня. ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания; БОЗ — бронхообструктивные заболевания; ИСС — индекс специфического связывания;  $\beta$ 1-АР/ $\beta$ 2-АР —  $\beta$ 1-/ $\beta$ 2-адренорецепторы; АД — артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; НЖЭС — наджелудочковая экстрасистолия; ЖЭС — желудочковая экстрасистолия; САТ (COPD Assessment Test) — оценочный тест по хронической обструктивной болезни легких; АСТ (Asthma Control Test) — тест по контролю над астмой; mMRC (modified Medical Research Council) — шкала одышки Комитета медицинских исследований; ОФВ<sub>1</sub> — объем форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких; НРС — нарушение ритма сердца; АГ — артериальная гипертензия; ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких; СОЭ — скорость оседания эритроцитов; СРБ — С-реактивный белок.

**Note:** The level of significance for all criteria was  $p < 0.05$ . The number of patients in the groups corresponds to the number of patients with a change in the specific binding index of  $\beta$ 1,2-AR  $>7\%$  of the baseline level. CC3 — cardiovascular diseases; BO3 — bronchial obstructive diseases; ISS — specific binding index;  $\beta$ 1-AR/ $\beta$ 2-AR —  $\beta$ 1-/ $\beta$ 2-adrenoreceptors; АД — blood pressure; ЧСС — heart rate; НЖЭС — supraventricular extrasystole; ЖЭС — ventricular extrasystole; CAT (COPD Assessment Test) — evaluation test for chronic obstructive pulmonary disease; ACT (Asthma Control Test) — asthma control test; mMRC (modified Medical Research Council) — the scale of dyspnea of the Medical Research Committee; ОФВ<sub>1</sub> — forced expiratory volume in the first second; ФЖЕЛ — forced vital capacity of the lungs; НРС — cardiac arrhythmia; АГ — arterial hypertension; ХОБЛ — chronic obstructive pulmonary disease; СОЭ — erythrocyte sedimentation rate; СРБ — C-reactive protein.

а с изменением индекса специфического связывания  $\beta$ 2-адренорецепторов — 21. Повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 1-адренорецепторов в данной группе было ассоциировано с клиническими, лабораторными и инструментальными параметрами, отражающими благоприятное течение заболевания, в то время как повышение индекса специфического связывания  $\beta$ 2-адренорецепторов

было ассоциировано преимущественно с отрицательными маркерами.

В табл. 3 включены данные пациентов группы сердечно-сосудистых и бронхообструктивных заболеваний с изменением индекса специфического связывания  $\beta$ -адренорецепторов  $>7\%$  от исходного уровня при назначении формотерола. Пациентов с изменением индекса специфического

связывания  $\beta_1$ -адренорецепторов было 20 человек, с изменением индекса специфического связывания  $\beta_2$ -адренорецепторов — 21. При проведении острой пробы с формотеролом в группе коморбидной патологии повышение индекса специфического связывания  $\beta_1$ -адренорецепторов было ассоциировано с положительным прогностическим значением клинических и инструментально-лабораторных данных, в то время как повышение индекса специфического связывания  $\beta_2$ -адренорецепторов — с отрицательным [15].

### Нежелательные явления

Нежелательных явлений в ходе проведения исследования не отмечено.

### ОБСУЖДЕНИЕ

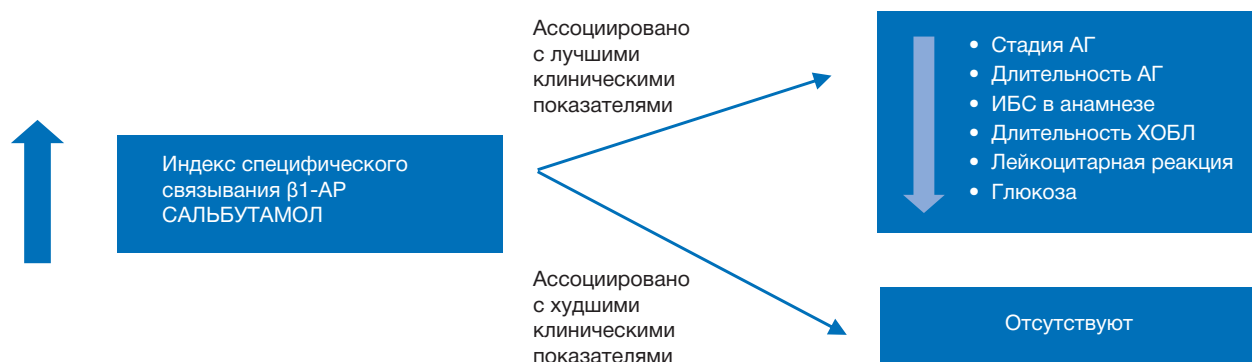
Принимая во внимание, что любые клинические симптомы являются результатом рецепторных взаимодействий, их оценка потребовала создания нового метода, применимого в ежедневной практике, — модифицированного радиолигандного анализа для характеристики  $\beta$ -адренорецепторов на поверхности клеток.

В ходе проведенного анализа выявлены тесные корреляционные связи между клинически значимыми параметрами и динамикой индекса специфического связывания. Зафиксировано также, что наличие коморбидной сердечно-сосудистой и бронхообструктивной патологии в значительной степени меняет рецепторные взаимодействия, а именно: повышенный индекс специфического связывания

$\beta_1$ -адренорецепторов у пациентов с сердечно-сосудистой патологией без бронхообструктивных заболеваний показал себя как маркер неблагоприятного течения заболевания, так как ассоциирован с худшими клиническими проявлениями, в то время как у пациентов с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией повышение индекса специфического связывания  $\beta_1$ -адренорецепторов было ассоциировано с маркерами более благоприятного течения (рис. 1, 2). Данный факт подчеркивает важность своевременного выявления бронхообструктивных заболеваний у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и еще раз демонстрирует, что  $\beta$ -адренорецепторное звено играет важную роль в патогенезе данных заболеваний, и обсуждать происходящие на рецепторном уровне изменения на фоне назначения  $\beta_2$ -агонистов необходимо с учетом коморбидной патологии.

Важный вопрос, на который отвечает наша работа, — одинаковое ли действие оказывают короткодействующие и пролонгированные  $\beta_2$ -агонисты на адренорецепторное звено.

Установлено, что у пациентов с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией при приеме коротко- и длительно действующих  $\beta_2$ -агонистов характер изменений однонаправленный: повышение индекса специфического связывания  $\beta_1$ -адренорецепторов можно рассматривать как положительный маркер, в то время как повышение индекса специфического связывания  $\beta_2$ -адренорецепторов, т.е. увеличение вклада в общее специфическое связывание, — как отрицательный.



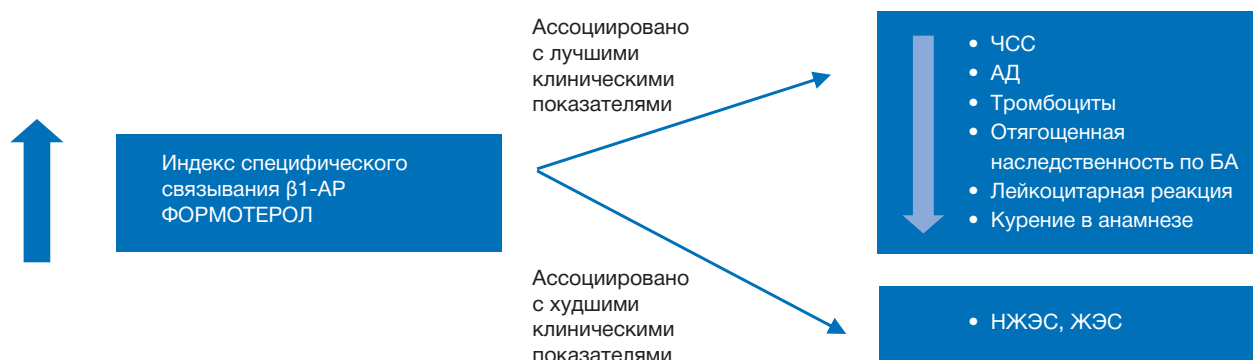
**Рис. 1.** Взаимосвязь повышения индекса специфического связывания  $\beta_1$ -адренорецепторов и клинических параметров на фоне приема сальбутамола у пациентов с кардиореспираторной патологией.

**Примечание.**  $\beta_1$ -АР —  $\beta_1$ -адренорецепторы; АГ — артериальная гипертензия; ИБС — ишемическая болезнь сердца; ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких.

**Fig. 1.** Correlation between the increase in specific binding index  $\beta_1$ -adrenoreceptors and clinical parameters while taking salbutamol in patients with cardiovascular and bronchoobstructive diseases.

**Note:**  $\beta_1$ -АР —  $\beta_1$ -adrenoreceptors; АГ — arterial hypertension; ИБС — coronary heart disease; ХОБЛ — chronic obstructive pulmonary disease.





**Рис. 2.** Взаимосвязь повышения индекса специфического связывания  $\beta_1$ -адренорецепторов и клинических параметров на фоне приема формотерола у пациентов с кардиореспираторной патологией.

**Примечание.**  $\beta_1$ -АР —  $\beta_1$ -адренорецепторы; ЧСС — частота сердечных сокращений; АД — артериальное давление; БА — бронхиальная астма; НЖЭС — наджелудочковая экстрасистолия; ЖЭС — желудочковая экстрасистолия.

**Fig. 2.** Correlation between the increase in specific binding index  $\beta_1$ -adrenoreceptors and clinical parameters while taking formoterol in patients with cardiovascular and bronchoobstructive diseases.

**Note:**  $\beta_1$ -АР —  $\beta_1$ -adrenoreceptors; ЧСС — heart rate; АД — arterial pressure; БА — bronchial asthma; НЖЭС — supraventricular extrasystole; ЖЭС — ventricular extrasystole.

Наши результаты согласуются с предшествующими исследованиями, где было показано, что повышенная  $\beta_2$ -стимуляция желудочков сердца носит выраженный аритмогенный характер, потенцируя тяжелые нарушения ритма сердца, включая жизнеугрожающие желудочковые тахикардии [16].

В ходе работы нами отмечено, что при назначении  $\beta_2$ -агонистов происходили изменения в динамике индекса специфического связывания на уровне  $\beta_1$ -адренорецепторов. Это может быть обусловлено процессами, приводящими к изменению экспрессии и (в меньшей степени) аффинности  $\beta$ -адренорецепторов на поверхности клетки, с одной стороны, и рецепторным взаимодействием на уровне внутриклеточных мессенджеров, с помощью которых реализуются эффекты  $\beta$ -адренергической стимуляции, — с другой [17].

Таким образом, при проведении исследования были доказаны клиническая релевантность определения индекса специфического связывания и возможность его применения в условиях практики у пациентов с коморбидной сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологией.

#### Ограничения исследования

Ограничением является малая выборка пациентов, что обусловлено пилотным характером исследования. При этом следует отметить, что и при небольшой выборке на этом этапе были получены достоверно значимые результаты, в связи с чем необходимы дальнейшие исследования в этой области с адекватной статистической мощностью.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что наличие коморбидной сердечно-сосудистой и бронхообструктивной патологии вносит изменения в характеристики  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов. При оценке клинической значимости изменений характеристик (индекс специфического связывания)  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов при применении  $\beta_2$ -агонистов короткого и длительного действия у больных с сердечно-сосудистыми и бронхообструктивными заболеваниями были выявлены тесные корреляционные связи с клинически значимыми параметрами (симптомы; длительность и тяжесть заболевания; результаты лабораторных анализов: лейкоцитарная реакция, С-реактивный белок, уровень эозинофилов; данные электрокардиограммы, показатели суточного мониторирования электрокардиограммы и артериального давления, параметры функции внешнего дыхания).

Результаты демонстрируют возможность применения предложенного параметра (индекса специфического связывания) у пациентов как с сердечно-сосудистой, так и с коморбидной кардиореспираторной патологией, в роли биологического маркера для выявления пациентов с неблагоприятным течением заболевания.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

**Вклад авторов.** Е.В. Смолякова — набор пациентов, проведение радиолигандного анализа, обработка результатов, написание текста статьи; Ю.С. Скоблов — разработка методики радиоли-

гандного анализа, мечение цианопиндолола радиоактивным йодом; Н.А. Скоблова — разработка методики радиолигандного анализа, А.В. Рвачева, О.В. Бондарец — обсуждение результатов исследования; А.В. Еременко, И.А. Келексаев — проведение радиолигандного анализа; И.Е. Чазова — руководство лечением пациентов и обсуждение результатов исследования; К.А. Зыков — руководство лечением пациентов и обсуждение результатов исследования, написание текста статьи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

**Author contribution.** E.V. Smolyakova — recruitment of patients, conducting radioligand analysis, processing the results, writing the text of the article; Yu.S. Skoblov — development of a method for radioligand analysis, labeling of cyanopindolol with radioactive iodine; N.A. Skoblova — development of radioligand analysis technique; A.V. Rvacheva, O.V. Bondarets — discussion of the results of the study; A.V. Eremenko, I.A. Kelekhsaev — conducting radioligand analysis; I.E. Chazova — management of the treatment of patients and discussion of the results of the study; K.A. Zykov — managing the treatment of patients and discussing the results of the study, writing the text of the article. The authors confirm that their authorship complies with the international ICMJE criteria (all authors made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

**Источник финансирования.** Исследование и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

**Funding source.** The study had no sponsorship.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- André S, Conde B, Fragoso E, et al.; GI DPOC-Grupo de Interesse na Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. COPD and Cardiovascular Disease. *Pulmonology*. 2019;25(3):168–176. doi: 10.1016/j.pulmoe.2018.09.006
- Ingebrigtsen TS, Marott JL, Vestbo J, et al. Coronary heart disease and heart failure in asthma, COPD and asthma-COPD overlap. *BMJ Open Respir Res*. 2020;7(1):e000470. doi: 10.1136/bmjresp-2019-000470
- Zewari S, Hadi L, van den Elshout F, et al. Obesity in COPD: Comorbidities with practical consequences? *COPD*. 2018; 15(5):464–471. doi: 10.1080/15412555.2018.1509951
- Vaziri ND, Rodriguez-Iturbe B. Mechanisms of disease: Oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006;2(10):582–593. doi: 10.1038/ncpneph0283
- Rabe KF, Hurst JR, Suissa S. Cardiovascular disease and COPD: Dangerous liaisons? *Eur Respir Rev*. 2018;27(149):180057. doi: 10.1183/16000617.0057-2018
- Ritchie AJ, Wedzicha JA. Definition, causes, pathogenesis, and consequences of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Clin Chest Med*. 2020;41(3):421–438. doi: 10.1016/j.ccm.2020.06.007
- Hsu E, Bajaj T. Beta 2 agonists. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
- Liu X, Chen Z, Li S, Xu S. Association of chronic obstructive pulmonary disease with arrhythmia risks: a systematic review and meta-analysis. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:732349. doi: 10.3389/fcvm.2021.732349
- Gershon A, Croxford R, Calzavara A, et al. Cardiovascular safety of inhaled long-acting bronchodilators in individuals with chronic obstructive pulmonary disease. *JAMA Intern Med*. 2013;173:1175–1185. doi: 10.1001/jamainternmed.2013.1016
- Salpeter SR, Ormiston TM, Salpeter EE. Cardiovascular effects of  $\beta$ -agonists in patients with asthma and COPD: A meta-analysis. *Chest*. 2004;125:2309–2321. doi: 10.1378/chest.125.6.2309
- Wilchesky M, Ernst P, Brophy JM, et al. Bronchodilator use and the risk of arrhythmia in COPD. Part 1: Saskatchewan cohort study. *Chest*. 2012;142:298–304. doi: 10.1378/chest.10-2499
- Au DH, Curtis JR, Every NR, et al. Association between inhaled beta-agonists and the risk of unstable angina and myocardial infarction. *Chest*. 2002;121(3):846–851. doi: 10.1378/chest.121.3.846
- Арапова О.Ю. Характеристика активности  $\beta$ -адренорецепторов при применении специфических агонистов и антагонистов у пациентов с бронхиальной астмой с сочетанной сердечно-сосудистой патологией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2016. 32 с. [Agapova OY. Characteristics of the activity of beta-adrenergic receptors in the use of specific agonists and antagonists in patients with bronchial asthma with combined cardiovascular pathology [dissertation abstract]. Moscow; 2016. 32 p. (In Russ).]
- Agapova OY, Skoblov YS, Tkachev GA, et al. Changes in the receptor activity of  $\beta_2$ -adrenoreceptors of human T-lymphocytes under the effect of  $\beta_2$ -agonists. *Mol Biol (Mosk)*. 2016;50(6):999–1006. doi: 10.7868/S0026898416050025
- Смолякова Е.В. Влияние терапии селективным бета1-адреноблокатором и бета2-агонистом на изменение характеристик бета-адренорецепторов у пациентов с кардиореспираторной патологией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2019. 28 с. [Smolyakova EV. Effect of therapy with selective beta1-adrenoblocker and beta 2-agonist on the change in the characteristics of beta-adrenergic receptors in patients with cardiorespiratory pathology [dissertation abstract]. Moscow; 2019. 28 p. (In Russ).]
- Lang D, Holzem K, Kang C, et al. Arrhythmogenic remodeling of  $\beta_2$  versus  $\beta_1$  adrenergic signaling in the human failing heart. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2015;8(2):409–419. doi: 10.1161/CIRCEP.114.002065
- Matera MG, Page C, Rinaldi B.  $\beta_2$ -Adrenoceptor signalling bias in asthma and COPD and the potential impact on the comorbidities associated with these diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 2018;40:142–146. doi: 10.1016/j.coph.2018.04.012

## ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

**Смолякова Екатерина Владимировна**, к.м.н.;  
адрес: Россия, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20/1;  
e-mail: smolyakovak@mail.ru; eLibrary SPIN: 1751-0230;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1904-5319>

Соавторы:

**Скоблов Юрий Самойлович**, д.м.н.;  
e-mail: uskoblov@gmail.com;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3659-3939>

**Скоблова Наталия Александровна**;  
e-mail: uskoblov@gmail.com;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2413-1051>

**Рвачева Анна Валерьевна**, к.м.н.;  
e-mail: arvatcheva@mail.ru; eLibrary SPIN: 5267-9598;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9277-2291>

**Бондарец Ольга Валентиновна**, к.м.н.;  
e-mail: o.v.bondarets@gmail.com;  
eLibrary SPIN: 7785-0655;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1555-1449>

**Еременко Анна Владимировна**;  
e-mail: a\_nn87@list.ru; eLibrary SPIN: 2813-1638;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9333-0022>

**Келехсаев Иван Андреевич**;  
e-mail: kelexsaev1996@mail.ru;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6439-4745>

**Чазова Ирина Евгеньевна**, д.м.н.,  
профессор, академик РАН;  
e-mail: chazova@hotmail.com; eLibrary SPIN: 6175-6138;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9822-4357>

**Зыков Кирилл Алексеевич**, д.м.н.,  
профессор, чл.-корр. РАН;  
e-mail: kirillaz@inbox.ru; eLibrary SPIN: 6269-7990;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3385-2632>

## AUTHORS' INFO

The author responsible for the correspondence:

**Ekaterina V. Smolyakova**, MD, PhD;  
address: 20/1 Delegatskaya street, 127473 Moscow, Russia;  
e-mail: smolyakovak@mail.ru; eLibrary SPIN: 1751-0230;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1904-5319>

Co-authors:

**Yuri S. Skoblov**, MD, PhD;  
e-mail: uskoblov@gmail.com;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3659-3939>

**Natalia A. Skoblova**;  
e-mail: uskoblov@gmail.com;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2413-1051>

**Anna V. Rvacheva**, MD, PhD;  
e-mail: arvatcheva@mail.ru; eLibrary SPIN: 5267-9598;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9277-2291>

**Olga V. Bondarets**, MD, PhD;  
e-mail: o.v.bondarets@gmail.com;  
eLibrary SPIN: 7785-0655;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1555-1449>

**Anna V. Eremenko**;  
e-mail: a\_nn87@list.ru; eLibrary SPIN: 2813-1638;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9333-0022>

**Ivan A. Kelekhsaev**;  
e-mail: kelexsaev1996@mail.ru;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6439-4745>

**Irina E. Chazova**, MD, PhD, Professor, Academician  
of the Russian Academy of Sciences;  
e-mail: chazova@hotmail.com; eLibrary SPIN: 6175-6138;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9822-4357>

**Kirill A. Zykov**, MD, PhD, Professor, Corresponding Member  
of the Russian Academy of Sciences;  
e-mail: kirillaz@inbox.ru; eLibrary SPIN: 6269-7990;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3385-2632>