

## БИОХИМИЯ BIOCHEMISTRY

DOI: 10.12737/article\_5a3a0d764250a4.87243362

УДК 616.12-008.+616-053.5/577.125

Даренская М.А., Гаврилова О.А., Гребенкина Л.А., Кравцова О.В., Натяганова Л.В.

### СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»  
(664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Проблема ожирения является крайне актуальной для современной медицинской науки и здравоохранения. Особого внимания заслуживает детское и подростковое ожирение, так как, начавшись в подростковом возрасте, оно в дальнейшем прогрессирует и приводит к развитию осложнений уже во взрослом состоянии. В последнее время высокую распространённость данной патологии в детском возрасте связывают с изменившимися социально-экономическими условиями жизни в современном обществе, следствием которых являются нарушения нутритивного статуса и низкий уровень физической активности. Согласно результатам некоторых эпидемиологических исследований, степень выраженности ожирения более тесно коррелирует с количеством потребляемого жира, нежели с суточной калорийностью пищи. В настоящее время показано наличие взаимосвязи метаболических расстройств при данном патологическом состоянии с развитием реакций окислительного стресса. Основными причинами, обуславливающими активацию свободнорадикальных реакций, являются снижение поступления в организм экзогенных антиоксидантов алиментарным наряду с избыточным поступлением жиров и углеводов при недостаточном их расходовании, а также гипокинезия с её низким уровнем биологического окисления. Изучены особенности процессов ПОЛ-АОЗ у 19 мальчиков подросткового возраста с ожирением. Использованы спектрофотометрические и флуориметрические методы исследования. Полученные результаты свидетельствуют о наличии определённых изменений параметров системы ПОЛ-АОЗ у мальчиков-подростков с экзогенно-конституциональным ожирением в виде активации липопероксидных процессов на промежуточных этапах и снижения ряда компонентов антиоксидантного статуса.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, подростки, ожирение

### THE STATE OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES IN BOYS WITH OBESITY

Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Grebenkina L.A., Kravtsova O.V., Natyaganova L.V.

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems  
(ul. Timiryazeva 16, 664003 Irkutsk, Russian Federation)

The problem of obesity is extremely relevant for modern medical science and healthcare, and child and adolescent obesity deserves special attention. It seems to be interesting to trace the interrelation of pathological processes in obesity in the form of metabolic disorders at the level of the organism and at the cell level - disorders in the system of lipid peroxidation. Studies in adolescent boys are relevant, as there has been a general increase in the incidence in this age category. The purpose of the research was to study the state of the system "lipid peroxidation - antioxidant protection" in adolescent boys with exogenous-constitutional obesity. 19 adolescent boys with obesity were examined in comparison with the control group. Spectrophotometric and fluorometric methods of examination were used. An increase in the level of secondary lipid peroxidation products - ketodienes and conjugated trienes (1.65 times) - was revealed in adolescent boys with obesity. In the antioxidant defense system, differences in this group included reduced values of  $\alpha$ -tocopherol (1.42 times), retinol (1.51 times) and superoxide dismutase activity (1.19 times), in the absence of statistically significant changes in the total antioxidant activity (AOA) in blood and components of glutathione status. The revealed disorders allow to recommend the complex therapy including prescription of antioxidants and medicines directed on normalization of lipid exchange at the given category of patients.

**Key words:** lipid peroxidation, adolescents, obesity

Установлено, что в развитых странах до 25 % подростков имеют избыточную массу тела, 15 % – страдают ожирением [4, 7, 14, 20]. Ранее проведённые биоимпедансные исследования состава тела показали стандартизованную частоту заболеваемости ожирением у детей и подростков 5–17 лет: в 6,8 % случаев – для лиц мужского пола, в 5,3 % – для лиц женского пола [5]. В последнее время высокую

распространённость данной патологии в детском возрасте связывают с изменившимися социально-экономическими условиями жизни в современном обществе, следствием которых являются нарушения нутритивного статуса и низкий уровень физической активности [11, 16, 19].

Исследования молекулярных механизмов формирования ожирения в детско-подростковом возрасте

являются крайне актуальными и постулируют определённую взаимосвязь метаболических расстройств с развитием реакций окислительного стресса [8, 10, 11, 13, 15]. В возникновении окислительного стресса при ожирении также особое значение может иметь снижение мощности антиоксидантов [2, 5, 9], в связи с чем для данной категории больных представляется целесообразным не только анализ изменений в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ–АОЗ), но и применение комплекса антиоксидантов, подобранных строго индивидуально, с учётом характера обнаруженного дисбаланса в прооксидантно-антиоксидантной системе [17, 18]. Актуальным представляются исследования у мальчиков-подростков, так как отмечено общее увеличение заболеваемости данной возрастной категории [6].

Таким образом, целью настоящего исследования явилось изучение состояния системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» у мальчиков-подростков с экзогенно-конституциональным ожирением.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 42 мальчика-подростка, из них 19 страдали экзогенно-конституциональным ожирением I степени. Контрольная группа состояла из 23 подростков. Обе группы были сопоставимы по возрасту и полу. Проводился сбор данных анамнеза, анализ антропометрических данных (измерение массы тела, роста, окружности талии и бёдер, определение индекса массы тела (ИМТ) по стандартной формуле), оценка нутритивного статуса. Использовали классификацию ожирения детей и подростков, предложенную В.А. Петерковой, О.В. Васюковой (2013) [12]. Обследованные не принимали витамины в момент забора крови. Кровь забирали в соответствии с существующими требованиями, утром натощак из локтевой вены.

В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2013 ред.)).

Материалом исследования служили плазма и гемолизат крови. Забор крови проводили из локтевой вены в соответствии с общепринятыми требованиями.

Интенсивность процессов ПОЛ оценивали по содержанию первичных (диеновых конъюгатов (ДК)) и вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов (КД и СТ)) продуктов по методу И.А. Волчегорского (1989). Содержание конечных ТБК-активных продуктов определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой флуориметрическим методом В.Б. Гаврилова и соавт. (1987). Оценку общей антиокислительной активности (АОА) проводили по методу Г.И. Клебанова и соавт. (1988). Определение концентраций  $\alpha$ -токоферола и ретинола проводили по методу Р.Ч. Черняускене и соавт. (1984). Содержание восстановленного и окисленного глутатиона (GSH и GSSG) определяли по методу Р.У. Hissin, R. Hilf (1976), измерение активности супероксиддисмутазы (СОД) – методом Н.Р. Misra, I. Fridovich (1972). Измерения проводили на спектрофлуорофотометре «Shimadzu RF-1501»

(Япония), состоящем из двух блоков: спектрофотометра UV-1650PC и спектрофлуориметра RF-1501. Статистическую обработку полученных результатов, распределение показателей, определение границ нормального распределения проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США) (правообладатель лицензии – ФГБНУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека»). Для проверки статистической гипотезы разности средних значений использован критерий Манна – Уитни. Выбранный критический уровень значимости составлял 5% (0,05).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённого исследования было установлено, что у мальчиков-подростков с ожирением статистически значимо снижается концентрация первичных продуктов ПОЛ – ДК (в 1,39 раза;  $p = 0,0067$ ) и увеличивается уровень вторичных продуктов – КД и СТ (в 1,65 раза;  $p = 0,0107$ ) относительно контрольной группы при отсутствии статистически значимых изменений содержания конечных ТБК-активных продуктов (рис. 1).

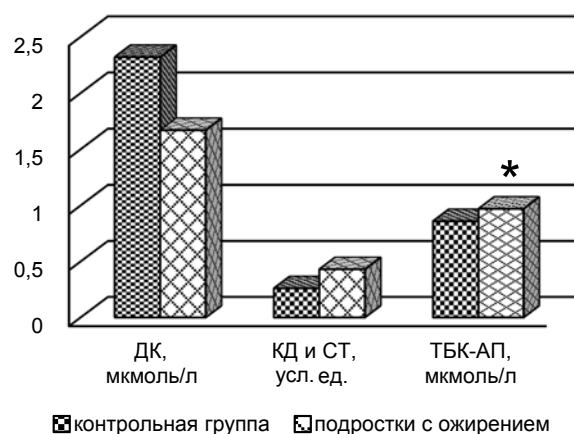


Рис. 1. Уровень продуктов липопероксидации у мальчиков-подростков с ожирением. \* – статистически значимые различия между показателями двух групп.

Fig. 1. Level of lipid peroxidation products in male adolescents with obesity. \* – statistically significant differences between the two groups.

Полученные нами данные согласуются с результатами ряда исследований, согласно которым установлено, что в условиях ожирения отмечается повышенная активность процессов липопероксидации, а развивающийся при этом окислительный стресс выступает в качестве важного патогенетического механизма дизрегуляторных изменений со стороны обмена веществ [2, 8]. Известно, что продукты, образующиеся на промежуточных этапах перекисного каскада, в частности кетодиены и сопряжённые триены, имеют более высокую термодинамическую стабильность, вследствие чего являются инициаторами многочисленных повреждающих эффектов на уровне биомембран. Также в некоторых работах зарегистрированы высокие значения триглицеридов, общего холестерина и холестерина низкой плотности в крови пациентов с ожирением, что в свою



**Рис. 2.** Активность системы антиоксидантной защиты у мальчиков-подростков с ожирением. \* – статистически значимые различия между показателями двух групп.

**Fig. 2.** The activity of antioxidant protection system in adolescent boys with obesity. \* – statistically significant differences between the two groups.

очередь может способствовать активации реакций ПОЛ [1].

Общий антиоксидантный статус организма является лимитирующим фактором повышенной интенсивности процессов ПОЛ.

Нами было отмечено снижение содержания  $\alpha$ -токоферола (в 1,42 раза;  $p = 0,0158$ ), ретинола (в 1,51 раза;  $p = 0,0025$ ) и активности супероксиддисмутазы (в 1,19 раза;  $p = 0,0001$ ) у мальчиков-подростков с ожирением, в сравнении с контрольными значениями (рис. 2). При этом статистически значимых различий в отношении остальных показателей системы АОЗ – общей АОА крови, компонентов глутатионового обмена – выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Ранее было показано, что даже незначительное снижение активности СОД является сигналом сдвига метаболических реакций в сторону превалирования прооксидантных процессов, так как вследствие высокого уровня данного фермента в эритроцитах его активность при умеренном действии не меняется. Известно, что жирорастворимые витамины ( $\alpha$ -токоферол и ретинол) проявляют мембранозащитную и антимутагенную активность, являются важнейшими регуляторами окислительного гомеостаза [3, 5]. Снижение данных компонентов у мальчиков-подростков с ожирением, в сравнении с контролем, может считаться негативным фактором течения заболевания.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии определённых изменений параметров системы ПОЛ-АОЗ у мальчиков-подростков с экзогенно-конституциональным ожирением в сторону активации липопероксидных процессов на промежуточных этапах и снижения ряда компонентов антиоксидантного статуса. Выявленные нарушения позволяют рекомендовать проведение комплексной терапии, включающей назначение антиоксидантов и препаратов, направленных на нормализацию липидного обмена у данной категории пациентов.

### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Бекезин В.В. Окислительный стресс на фоне ожирения – ранний маркер метаболического синдрома у детей и подростков (обзорная статья) // Смоленский медицинский альманах. – 2016. – № 3. – С. 6–13.  
Bekezin VV. (2016). Oxidative stress on the background of obesity as an early marker of the metabolic syndrome in children and adolescents (a review article) [Okislitel'nyy stress na fone ozhireniya – ranniy marker metabolicheskogo sindroma u detey i podrostkov (obzornaya stat'ya)]. *Smolenskiy meditsinskiy al'manakh*, (3), 6-13.
2. Болотова Н.В., Аверьянов А.П., Захарова Н.Б. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у детей с ожирением // Педиатрия. – 2006. – № 4. – С. 11–15.  
Bolotova NV, Averyanov AP, Zakharova NB. (2006). The state of lipid peroxidation and antioxidant protection in obese children [Sostoyanie perekisnogo okisleniya lipidov i antioksidantnoy zashchity u detey s ozhireniem]. *Pediatrics*, (4), 11-15.
3. Дадали В.А., Тутельян В.А., Дадали Ю.В. Каротиноиды. Биологическая активность // Вопросы питания. – 2011. – Т. 80, № 4. – С. 4–18.  
Dadali VA, Tutelyan VA, Dadali YuV. (2011). Carotenoids. Biological activity [Karotinoidy. Biologicheskaya aktivnost']. *Voprosy pitaniya*, 80 (4), 4-18.
4. Ишутина Н.А. Липидный состав крови пуповины новорожденных от матерей с патологическим течением беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2008. – № 30. – С. 56–58.  
Ishutina NA. (2008). The lipid composition of the umbilical cord blood of newborns from mothers with pathological course of pregnancy [Lipidnyy sostav krovi pupoviny novorozhdennykh ot materey s patologicheskim techeniem beremennosti] *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*, 154 (30), 56-58.
5. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Мазо В.К. Витамины и окислительный стресс // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 11–18.

Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Mazo VK. (2013). Vitamins and oxidative stress [Vitaminy i oksislitel'nyy stress]. *Voprosy pitaniya*, 82 (3), 11-18.

6. Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лабыгина А.В., Осипова Е.В., Лещенко О.Я., Загарских Е.Ю., Федоров Б.А., Долгих М.И., Шолохов Л.Ф., Петрова В.А., Наделяева Я.Г., Аталян А.В., Лазарева Л.М., Корнакова Н.В., Даренская М.А. Состояние репродуктивного здоровья, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у подростков, проживающих в крупном промышленном центре Ангарск // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – № 5. – С. 42–47.

Kolesnikova LI, Suturina LV, Labygina AV, Osipova EV, Leshchenko OYa, Zagarskikh EYu, Fedorov BA, Dolgikh MI, Sholokhov LF, Petrova VA, Nadelyaeva YaG, Atalyan AV, Lazareva LM, Kornakova NV, Darenskaya MA. (2005). Reproductive status, lipid peroxidation and antioxidation system in teenagers, living in large industrial center Angarsk [Sostoyanie reproduktivnogo zdorov'ya, protsessov perekisnogo okisleniya lipidov i antioksidantnoy sistemy u podrostkov, prozhivayushchikh v krupnom promyshlennom tsentre Angarsk]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra*, (5), 42-47.

7. Колосов Ю.А., Колесников С.И., Анищенко А.П. Избыточная масса тела и ожирение у детей, подростков и взрослых: причины развития и факторы риска // Патогенез. – 2016. – Т. 14, № 4. – С. 9–14.

Kolosov YuA, Kolesnikov SI, Anishchenko AP. (2016). Overweight and obesity in children, adolescents and adults: causes of development and risk factors [Izbytochnaya massa tela i ozhirenie u detey, podrostkov i vzroslykh: prichiny razvitiya i faktory riska]. *Patogenez*, 14 (4), 9-14.

8. Кулешова К., Давыдов В.В. Особенности проявления оксидативного стресса и состояние антиоксидантной системы у подростков разного возраста с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее // Биомедицинская химия. – 2014. – Т. 60, Вып. 2. – С. 264–274.

Kuleshova K, Davydov VV. (2014). Specific features of oxidative stress manifestation and the state of the antioxidant system in adolescents of different ages with obesity, complicated by insulin resistance and without it [Osobennosti proyavleniya oksidativnogo stressa i sostoyanie antioksidantnoy sistemy u podrostkov raznogo vozrasta s ozhireniem, oslozhnennym insulinorezistentnost'yu i bez nee]. *Biomeditsinskaya khimiya*, 60 (2), 264-274.

9. Осипова Е.В., Петрова В.А., Долгих М.И. Показатели компенсаторно-адаптационных механизмов детей в условиях информационного стресса // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2003. – № 3. – С. 69–72.

Osipova EV, Petrova VA, Dolgikh MI. (2003). Indicators of compensatory-adaptive mechanisms of children in conditions of information stress [Pokazateli kompensatorno-adaptatsionnykh mekhanizmov detey v usloviyakh informatsionnogo stressa]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra*, (3), 69-72.

10. Разина А.О., Ачкасов Е.Е., Руненко С.Д. Ожирение: современный взгляд на проблему // Ожирение и метаболизм. – 2016. – Т. 13, № 1. – С. 3–8.

Razina AO, Achkasov EE, Runenko SD. (2016). Obesity: a modern view of the problem [Ozhirenie: sovremennyy vzglyad na problemu]. *Ozhirenie i metabolizm*, 13 (1), 3-8.

11. Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., Долгих В.В. Использование комплексной оценки перекисного окисления липидов при изучении компенсаторно-адаптационных механизмов организма детей с тенденцией к повышению артериального давления // Бюл. СО РАМН. – 2004. – № 1. – С. 18–21.

Rychkova LV, Kolesnikova LI, Dolgikh VV. (2014). Use of complex assessment of lipid peroxidation in the study of compensatory and adaptive mechanisms of the body of children with a tendency to increase blood pressure [Ispol'zovanie kompleksnoy otsenki perekisnogo okisleniya lipidov pri izuchenii kompensatorno-adaptatsionnykh mekhanizmov organizma detey s tendentsiey k povysheniyu arterial'nogo davleniya]. *Byul. SO RAMN*, (1), 18-21.

12. Рычкова Л.В., Машанская А.В., Кравцова О.В. Вопросы профилактики, диагностики и лечения ожирения у детей и подростков (методические рекомендации). – Иркутск, 2016. – 40 с.

Rychkova LV, Mashanskaya AV, Kravtsova OV. (2016). Issues of prevention, diagnosis and treatment of obesity in children and adolescents [Voprosy profilaktiki, diagnostiki i lecheniya ozhireniya u detey i podrostkov (metodicheskie rekomendatsii)]. Irkutsk, 40 p.

13. Соболева Н.П. Биоимпедансный скрининг населения России в центрах здоровья: распространенность избыточной массы тела и ожирения // Российский медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 4–13.

Soboleva NP. (2014). Bioimpedance screening of the Russian population at health centers: prevalence of overweight and obesity [Bioimpedansnyy skрининг naseleniya Rossii v tsentrakh zdorov'ya: rasprostranennost' izbytochnoy massy tela i ozhireniya]. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*, (4), 4-13.

14. Тутельян В.А., Батурин А.К., Конь И.Я. Распространенность ожирения и избыточной массы тела среди детского населения РФ: мультицентровое исследование // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2014. – Т. 93, № 5. – С. 28–31.

Tutelyan VA, Baturin AK, Kon' IYa. (2014). Prevalence of obesity and overweight among the Russian children population: a multicenter study [Rasprostranennost' ozhireniya i izbytochnoy massy tela sredi detskogo naseleniya RF: mul'titsentrovoye issledovanie]. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*, 93 (5), 28-31.

15. Функциональная активность мозга и процессы перекисного окисления липидов у детей при формировании психосоматических расстройств / Под ред. С.И. Колесникова, Л.И. Колесниковой. – Новосибирск: Наука, 2008. – 200 с.

Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. (eds.) (2008). Functional activity of the brain and the processes of lipid peroxidation in children in the formation of psychosomatic disorders [Funktsional'naya aktivnost' mozga i protsessy perekisnogo okisleniya lipidov u detey pri formirovaniy psikhosomaticheskikh rasstroystv]. Novosibirsk, 200 p.

16. Guénard F, Houde A, Bouchard L. (2012). Association of LIPA gene polymorphisms with obesity-related metabolic complications among severely obese patients. *Obesity*, 20 (10), 2075-2082.

17. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Osipova EV, Dolgikh MI. (2014). Adaptive- compensatory


responses in the adolescents belonging to indigenous northern ethnic groups in Irkutsk oblast. *Hum Physiol*, 40 (2), 184-189.


18. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Semenova NV, Grebenkina LA, Suturina LV, Dolgikh MI, Gнусина SV. (2015) Lipid peroxidation and antioxidant protection in girls with type 1 diabetes mellitus during reproductive system development. *Medicina*, 51 (2), 107-111.

19. Wimalawansa SJ. (2014). Controlling obesity and its complications by elimination of causes and adopting healthy habits: «Cause-driven» approach. *Adv Med Sci*, 3 (1), 1-15.

20. Zhang Y, Wang S. (2012). Differences in development and the prevalence of obesity among children and adolescents in different socioeconomic status districts in Shandong, China. *Ann Hum Biol*, 39 (4), 290-296.


**Сведения об авторах**  
**Information about the authors**


**Даренская Марина Александровна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел./факс (3952) 20-76-36, (3952) 20-73-67; e-mail: marina\_darenskaya@inbox.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

**Darenskaya Marina Aleksandrovna** – Doctor of Biological Sciences, Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; тел./факс (3952) 20-76-36, (3952) 20-73-67; e-mail: marina\_darenskaya@inbox.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

**Гаврилова Оксана Александровна** – младший научный сотрудник, аспирант, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: oksana.gavrilova.91@mail.ru)


**Gavrilova Oksana Aleksandrovna** – Junior Research Officer, Postgraduate, Clinical Pathology at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: oksana.gavrilova.91@mail.ru)


**Гребенкина Людмила Анатольевна** – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

**Grebenkina Lyudmila Anatolyevna** – Doctor of Biological Sciences, Leading Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

**Кравцова Ольга Владимировна** – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, врач-эндокринолог, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

**Kravtsova Olga Vladimirovna** – Candidate of Medical Sciences, Research Officer at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Endocrinologist, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

**Натяганова Лариса Викторовна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»  <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

**Natyaganova Larisa Viktorovna** – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems  <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>